Tomographie optique diffuse et de fluorescence préclinique : instrumentation sans contact, modélisation et reconstruction 3D résolue en temps.

Farouk Nouizi

▶ **To cite this version:**

Farouk Nouizi. Tomographie optique diffuse et de fluorescence préclinique : instrumentation sans contact, modélisation et reconstruction 3D résolue en temps.. Imagerie médicale. Université Louis Pasteur - Strasbourg I, 2011. Français. NNT : . tel-00658285

HAL Id: tel-00658285

https://theses.hal.science/tel-00658285

Submitted on 10 Jan 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

N° d'ordre : 1090

École Doctorale Mathématiques, Sciences de l'Information et de l'Ingénieur

UdS – INSA – ENGEES

THÈSE

présentée pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Strasbourg
Discipline : Image, sciences et technologies de l'information

par

Farouk Nouizi

Tomographie optique diffuse et de fluorescence préclinique : instrumentation sans contact, modélisation et reconstruction 3D résolue en temps.

Soutenue publiquement le 12 Septembre 2011

Membres du jury

Directeur de thèse :	M. Patrick Poulet, MCU-PH, Université de Strasbourg.
Rapporteur externe :	M. Rémi Carminati, Professeur, ESPCI Paris.
Rapporteur externe :	M. Jean Michel Tualle, MCU, Université Paris 13.
Examinateur :	M. Christian Heinrich, Professeur, Université de Strasbourg.

Membres invités

Co-Directeur de thèse :	Mme. Murielle Torregrossa, MCU, Université de Strasbourg.
	Mme. Anne Koenig, Ingénieur, CEA Grenoble.

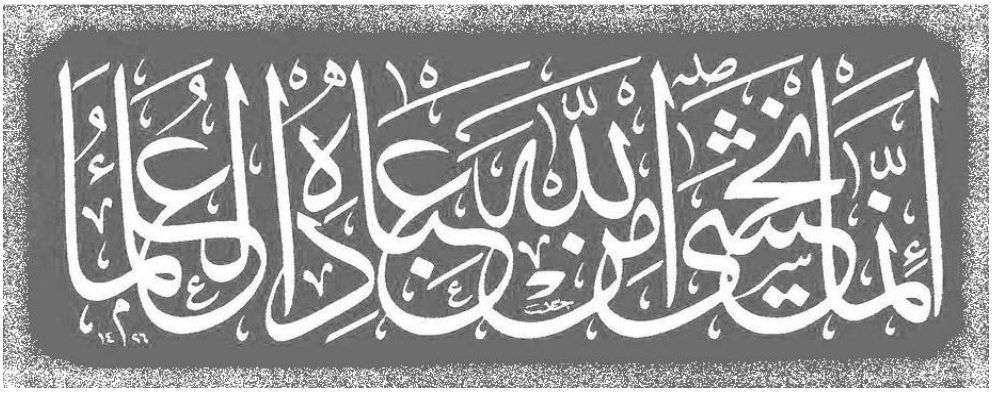
Laboratoire d'Imagerie et de Neurosciences Cognitives UMR 7237

A mes parents et grands parents.

A Chahine Bouabdelli.

A tous les membres de ma famille qui m'ont soutenu et qui ont cru en moi.

Aux âmes des presonnes qui nous ont quittées et entre les mains desquelles j'aurai souhaité voir ma thèse : mon arrière grand-père Dada-Tayeb, mon grand père Mohammed, mon tendre oncle Omar, mon cousin Anes et mon petit frère Fawzi Laguoun.



Remerciements

Je remercie le bon Dieu tout puissant qui m'a donné la force et la volonté d'achever cette thèse et je lui rends grâce.

Je tiens à remercier les membres du jury, Christian Heinrich, Rémi Carminati, Jean Michel Tualle, Anne Koenig, Murielle Torregrossa et Patrick Poulet d'avoir accepté de juger la qualité de mes travaux de thèse.

Je tiens à remercier Christian Heinrich d'avoir présidé mon jury de thèse et pour son apport issu de nos échanges scientifiques, mais également Rémi Carminati et Jean Michel Tualle d'avoir accepté d'évaluer mon travail et d'en avoir été les rapporteurs.

J'exprime ma plus grande gratitude à mon directeur de thèse, Patrick Poulet, sans qui jamais cette thèse n'aurai vu le jour. Je lui suis particulièrement reconnaissant pour sa disponibilité et sa grande patience. Je tiens à souligner sa capacité à m'encadrer tout en laissant libre cours à mes initiatives. Alors que je nageais dans le monde de la recherche il m'a aidé à réaliser mes premiers tours de pédales dans le monde de l'optique me permettant de finir au sprint et de remporter ce triathlon qu'est la thèse.

Je remercie ma codirectrice de thèse, Murielle Torregrossa, qui m'a soutenu et qui m'a beaucoup aidé dans la réalisation des programmes de résolution des problèmes inverses.

Mes remerciements vont aussi à Renée Chabrier, la meilleure et la plus gentille expérimentatrice avec qui il m'a été donné la chance de travailler. Je la remercie pour sa disponibilité, sa grande patience durant les expérimentations sur le tomographe et sa grande maitrise pour la confection des objets tests.

J'adresse mes remerciements spéciaux à mon ami et collègue de bureau, Franklin Tellier qui m'a soutenu, aidé et accompagné dans les bonnes (Marcus : « I have something for you guys ») comme les pires périodes. Je ne le remercierai jamais assez.

Des personnes particulières m'ont encouragé à finir ce travail, par des gestes d'amitié. Je suis particulièrement reconnaissant des soutiens précieux de Virginie Pelaez Muñoz, Amine Rahmani, Cécile Boivin, Thibault Deloze, Sabrina Noël et Benoît Caldairou.

Je remercie du fond du cœur Félix Renard pour son soutien, son aide, sa disponibilité, sa gentillesse et pour tous les moments qu'on a passé au LINC (Yum-Yum at 2 am) en particulier et à Strasbourg de manière générale.

Cette thèse a été un parcours riche en rencontres humaines. Je tiens à remercier tous mes amis : Rahim, Youssef, Mehdi, Moayad, Mohanned, Nino, Momo, Fayçal, Gabita-chaparita, Sofaki, Maraki, Nadia², Mona, Maria, Daniela, Xara, Hoda, Lena, Nathalia, Elena, Eleni, Katerina, Rocio, Ana, Justina, Karlien, Isabelle, Kathrin, Afroditi, Alcesti, Karina, Katherina, Korina, Alexandra, Orsolya, Laure, Judith, Aminatou, Emmanuelle, Delphine, Prudence, Evita, Vicky, Tassoula, Mirella, Nathalie, Isa, Marcus, Michael, Barney, Hervé², Edmond, Gilberto, Rasata, Antoine, Wissem, Samir, Hassan, Theodoris, Andréas, Alexay, Giorgios, Giannis, Gerardo, Cassiano, Patrick, PH, Maher, Mosquito, Samuel, Tanvir, Flendo, Jeremy.

Mes remerciements vont à Bernard Bayle et Loic Cuvillon, de l'Ecole Nationale Supérieure de Physique de Strabsourg, qui m'ont beaucoup aidé et ont facilité mon intégration dans le monde de l'enseignement.

Je remercie Nathalie Heider et François-Xavier Blé d'avoir toujours accepté de peaufiner l'anglais de mes articles.

Je remercie également le personnel du LINC-IPB : Blandine, Frédérique, Julien et Jérôme pour leur gentillesse et leur disponibilité ainsi que Marie, Christine, Céline, Félix et Emanuel de la résidence du Collège Doctoral Européen.

Mes vifs remerciements vont également aux familles : Ben Chohra, Lamri, Rahmani et Adamopoulou.

Merci à tous mes enseignants et professeurs, de Khadidja et Farida mes premières institutrices du CP, à Patrick mon directeur de thèse, qui ont fait de moi ce que je suis devenu aujourd'hui.

Finalement, je ne peux pas oublier ma famille qui m'a toujours soutenu et cru en moi durant tout mon cursus, et plus particulièrement mon frère Ilyes, mon oncle Charaf et mon grand père Ali pour leurs marques d'affection répétées.

Table des matières

Introduction....1
1 Bases physiques de l'optique biomédicale....5
1.1 Caractéristiques optiques des tissus....6
1.1.1 Indice de réfraction....6
1.1.2 Absorption....6
1.1.2.1 Expression macroscopique de l'absorption....6
1.1.2.2 Nature des chromophores tissulaires....8
1.1.3 Diffusion....10
1.1.3.1 Origine de la diffusion....10
1.1.3.2 Expression macroscopique de la diffusion....11
1.2 Propriétés optiques des tissus....14
1.3 Fluorescence....16
1.3.1 Transitions d'énergie....16
1.3.2 Propriétés des fluorochromes....16
1.3.2.1 Spectres d'excitation et d'émission....16
1.3.2.2 Rendement quantique et temps de vie de fluorescence....18
1.3.3 Aspects pratiques des techniques de fluorescence....19
1.3.3.1 Linéarité du signal....19
1.3.3.2 Intensité du signal....19
1.3.3.3 Photoblanchiment....19
1.3.3.4 Avantages des techniques de fluorescence....19
1.3.4 Vert d'indocyanine....20
1.4 Imagerie optique en médecine....21
1.4.1 Historique....21
1.4.2 Photons balistiques et multidiffusés....23
1.4.3 Méthodologies d'acquisitions....23
1.4.3.1 Dispositifs continus....24
1.4.3.2 Dispositifs modulés....25
1.4.3.3 Dispositifs résolus en temps....25
1.4.4 Emergence de la tomographie optique résolue en temps....26
1.4.4.1 Fenêtrage de la TPSF....26
1.4.4.2 Enregistrement de toute la TPSF....27
1.5 Références....28
2 Méthodes de tomographie résolue en temps.....39
2.1 Tomographie Optique Diffuse Résolue en Temps....39

2.1.1 Le problème direct ... 40
2.1.1.1 Construction d'un modèle numérique ... 40
2.1.1.2 Maillage ... 40
2.1.1.3 Placement des sources et détecteurs ... 40
2.1.1.4 Résolution de l'ED ... 41
2.1.2 Problème inverse ... 41
2.1.2.1 Résolution par déconvolution ... 41
2.1.2.2 Résolution par convolution ... 42
2.2 La modélisation sans contact ... 43
2.2.1 Illumination sans contact ... 43
2.2.2 Détection sans contact ... 44
2.2.3 Calcul des profils temporels ... 45
2.3 Tomographie Optique Diffuse de Fluorescence Résolue en Temps ... 46
2.3.1 Principes ... 46
2.3.2 Simplifications requises pour la reconstruction ... 47
2.4 Références ... 48
3 Système expérimental ... 53
3.1 Imagerie de surface ... 53
3.1.1 Principe de la conoscopie ... 54
3.1.2 Enregistrement des coordonnées de la surface ... 54
3.1.3 Calibration du dispositif de mesure de surface ... 55
3.1.4 Reconstruction de la surface ... 56
3.2 Tomographie optique ... 57
3.2.1 Description d'ensemble ... 57
3.2.2 Sources de lumière ... 58
3.2.2.1 Diodes laser ... 58
3.2.2.2 Pilotage des diodes laser ... 59
3.2.3 Fibres optiques ... 59
3.2.3.1 Fibres d'illumination et de détection ... 59
3.2.3.2 Fibres du multiplexeur vers les bundles ... 60
3.2.3.3 Faisceau de fibres vers PMT ... 61
3.2.4 Multiplexeur ... 61
3.2.5 Positionnement de l'animal ... 62
3.2.6 Photomultiplicateur à galette de microcanaux (MCP-PMT) ... 62
3.2.7 Préamplification ... 64
3.2.8 Comptage de photons uniques corrélés au temps (TCSPC) ... 64
3.2.8.1 Principe ... 64

3.2.8.2 Caractéristiques 65
3.2.8.3 Fonctionnement 66
3.3 Objets tests 67
3.3.1 Propriétés optiques des matériaux utilisés 67
3.3.2 Fabrication des objets tests 68
3.3.3 Objets tests cylindriques 68
3.3.3.1 Cylindres à inclusions avec symétrie axiale 68
3.3.3.2 Cylindres à deux inclusions avec μ_a, μ_s' différents 69
3.3.3.3 Cylindres avec une inclusion fluorescente 69
3.4 Références 69
4 Méthodes de reconstruction d'images 71
4.1 Equation du transfert radiatif et approximation de la diffusion 71
4.1.1 Equation du transfert radiatif 71
4.1.2 Approximation de la diffusion 72
4.1.2.1 Equation de diffusion 72
4.1.2.2 Conditions aux limites 73
4.2 Solutions de l'équation de diffusion 74
4.2.1 Solutions analytiques 74
4.2.2 Méthode de Monte Carlo 75
4.2.2.1 Principe 75
4.2.2.2 Mise en œuvre 75
4.2.3 Méthode des éléments finis 76
4.2.3.1 Principe 76
4.2.3.2 Programmation 77
4.3 Reconstruction d'images 79
4.3.1 Reconstruction selon des modèles 79
4.3.1.1 Théorie de la perturbation 79
4.3.1.2 Algorithmes de reconstruction linéaires 80
4.3.1.3 Algorithme de reconstruction non-linéaires 80
4.3.2 Types de données 81
4.3.2.1 Moments 81
4.3.2.2 Profils temporels 83
4.3.3 Calcul des matrices jacobiennes 85
4.3.3.1 Jacobiennes des moments temporels 86
4.3.3.2 Jacobienne des points de la TPSF 87
4.3.4 Informations à priori 88
4.3.4.1 Algorithme avec hard à priori 88

4.3.4.2 Algorithme avec soft à priori 89
4.3.5 Reconstruction d'images de fluorescence 89
4.3.5.1 Formulation du problème direct 90
4.3.5.2 Approche en lumière totale 90
4.3.5.3 Problème inverse en lumière totale 91
4.4 Références 92
5 Résultats : données simulées 99
5.1 Génération des données 99
5.1.1 Objets simulés cylindriques 99
5.1.1.1 Géométries étudiées 99
5.1.1.2 Propagation de la lumière 105
5.1.1.3 Profils temporels 109
5.1.2 Optimisation du maillage et du pas de temps 112
5.1.2.1 Pas de temps optimal 114
5.1.2.2 Maillage optimal 115
5.1.3 Fantôme de souris 116
5.1.3.1 Image de surface 116
5.1.3.2 Construction du modèle 117
5.1.3.3 Propagation des photons 118
5.1.3.4 Profils temporels 121
5.2 Reconstruction d'images 121
5.2.1 Fantômes cylindriques 122
5.2.1.1 Profils temporels simulés 122
5.2.1.2 Types de données utilisées 122
5.2.1.3 Sensibilité selon l'axe du tomographe 127
5.2.1.4 Reconstruction avec information a priori 128
5.2.2 Fantôme souris 131
5.2.2.1 Génération des profils temporels 131
5.2.2.2 Reconstruction du fantôme souris 131
5.2.3 Images de fluorescence 133
5.2.3.1 Génération des profils temporels 133
5.2.3.2 Reconstruction d'images en lumière totale 135
5.3 Références 139
6 Résultats : données expérimentales 141
6.1 Caractérisation du tomographe 141
6.1.1 Perturbations du signal 141
6.1.2 Réponse impulsionnelle 142

6.1.3 Signaux parasites 143
6.1.3.1 Réflexions sur les fibres 143
6.1.3.2 Diaphonie dans le photomultiplicateur 143
6.1.4 Bruits de mesure 144
6.1.4.1 Bruit d'obscurité du détecteur 144
6.1.4.2 Bruit de comptage de photons 144
6.1.4.3 Gigue électronique 144
6.2 Calibration des données 145
6.2.1 Prétraitement des TPSF 146
6.2.1.1 Elimination des bruits additifs 147
6.2.1.2 Détermination de l'origine des temps 148
6.2.1.3 Calibration des intensités 150
6.2.2 Mesures sur objets homogènes et hétérogènes 151
6.2.2.1 Acquisitions avec contact 151
6.2.2.2 Configuration sans contact 153
6.3 Reconstruction d'images 156
6.3.1 Les données expérimentales 156
6.3.2 Objet à une inclusion 156
6.3.3 Objet à deux inclusions 158
6.4 Références 160
Conclusion 161

Introduction

Malgré les avancées incessantes effectuées tant en matière de traitement que de détection et de prévention, le cancer reste la cause mortelle de plus de 147.500 personnes en France d'après une estimation de l'Institut National de Veille Sanitaire en 2011**.** La même étude dénombre 207.000 nouveaux cas diagnostiqués au cours de cette année en France métropolitaine. Ces chiffres font du cancer la cause mortalité et le problème de santé publique le plus important en France et dans le monde.

Plus d'une personne sur 100 est concernée par une maladie neuro-dégénérative après 65 ans. En 2005, on estime à 855 000 le nombre de personnes présentant une démence, soit 1,4% de la population française (Alzheimer, Parkinson, …). Les prévisions indiquent que ce chiffre sera de 1,3 millions en 2020 et de plus de 2 millions en 2040. Ces maladies étant pour l'heure dépourvues de tout traitement efficace, les neurosciences cognitives sont devenues des axes majeurs de recherche, en contact étroit avec les services hospitaliers de neurologie et de psychiatrie.

Dans ces deux domaines, comme dans l'ensemble des spécialités médicales, l'imagerie est devenue un outil indispensable pour le diagnostic, et le suivi thérapeutique d'une maladie. L'imagerie médicale fournit plus que de simples informations anatomiques, relatives à la localisation et aux dimensions d'une lésion. Des méthodes d'imagerie fonctionnelle, métabolique ou moléculaire *in-vivo* ont été développées et translatées à la clinique. Ces méthodes s'intéressent à la fonction des organes, au métabolisme cellulaire et à différents processus moléculaires. Elles s'appuient sur des rayonnements capables de pénétrer profondément dans les tissus et sur l'utilisation de marqueurs et de traceurs adaptés, éventuellement endogènes, utilisés comme agents de contraste visant un organe, un type de cellule, ou une molécule particulière qui sera ainsi mise en évidence par l'imagerie.

Le sujet de cette thèse s'inscrit dans la perspective du laboratoire d'accueil, de développer de nouvelles méthodes d'imagerie médicale au service de recherches en neurosciences, et plus récemment en oncologie. Ce travail de doctorat a été réalisé dans le Laboratoire d'Imagerie et de Neurosciences Cognitives (LINC) de l'Université de Strasbourg. Le LINC intègre plusieurs approches en neurosciences intégratives autour de l'imagerie cérébrale, de l'étude des fonctions cognitives et des pathologies du système nerveux modélisées chez le rongeur ou évaluées chez l'homme. Les thématiques de recherche de l'équipe « Imagerie in vivo » qui m'a accueilli ont évolué durant cette thèse. Les techniques d'imagerie développées s'orientent de plus en plus vers la cancérologie, pour le diagnostic tumoral et la détection d'extensions métastatiques ou ganglionnaires, lors d'examens cliniques ou en imagerie per-opératoire.

Les avancées importantes en génétique ont permis la mise au point de modèles de pathologies humaines transposés sur des petits animaux. Ces modèles animaux sont devenus des outils très précieux de la recherche biomédicale. Les méthodes d'imagerie fonctionnelle ou moléculaire permettent de recueillir *in-vivo* des informations biochimiques, pharmacologiques ou génétiques et de suivre leurs évolutions chez un même animal, notamment pour évaluer l'efficacité thérapeutique de nouveaux traitements. L'imagerie préclinique permet de limiter le nombre d'animaux requis pour une étude et de réduire les erreurs dues à la variabilité interindividuelle.

L'importance de cet outil de recherche et les enjeux sanitaires et humains rappelés ci dessus ont motivé le travail de cette thèse.

Les modèles animaux, devenus un outil essentiel dans la recherche médicale ont favorisé le développement de nouvelles méthodes d'imagerie. Aux côtés des méthodes d'imagerie conventionnelles telles que la radiologie, l'échographie ultrasonore, l'Imagerie par Résonance

Magnétique (IRM) et les techniques nucléaires, l'imagerie optique en général et la Tomographie Optique Diffuse (TOD) en particulier ont connu un développement important ces vingt dernières années. Les nouveaux facteurs de contraste offerts par l'imagerie optique constituent une opportunité scientifique majeure pour la recherche biomédicale dans la lutte contre les maladies évoquées plus haut.

La Tomographie Optique Diffuse (TOD) utilise la lumière proche infrarouge pour explorer des organes, voire des êtres vivants entiers. La lumière proche infrarouge est essentiellement absorbée par l'hémoglobine. Cette technique fournit des informations fonctionnelles sur la perfusion et l'oxygénation tissulaire. Ces paramètres physiologiques sont déterminés de manière directe, rendant leur quantification possible. Les applications actuelles de la TOD concernent principalement la mammographie, l'imagerie cérébrale, et l'imagerie du petit animal.

Parallèlement aux développements de la TOD, les techniques de fluorescence ont connu une réelle explosion en imagerie cellulaire, et plus récemment en imagerie préclinique. L'utilisation de nouvelles sondes fluorescentes émettant dans le proche infrarouge et de détecteurs ultra-sensibles permet en effet d'étudier des tissus profonds. L'imagerie tridimensionnelle de la fluorescence, basée sur les principes de la TOD, est appelée tomographie moléculaire de fluorescence ou Tomographie Optique Diffuse de Fluorescence (TODF). Cette technique permet de déterminer les cartes spatio-temporelles de la concentration, du temps de vie et de l'activation de sondes fluorescentes *in-vivo.* Elle constitue une nouvelle méthode d'imagerie métabolique et moléculaire très importante pour le diagnostic et le suivi thérapeutique, en particulier en cancérologie.

La tomographie optique, TOD ou TODF, présente l'intérêt supplémentaire de pouvoir être réalisée avec des instruments à faible coût utilisant des radiations non ionisantes.

La pénétration de la lumière dans les tissus biologiques est déterminée par leurs propriétés d'absorption et de diffusion. Ces mécanismes sont plus faibles dans le proche infrarouge que dans le spectre visible, on parle ainsi d'une fenêtre thérapeutique située entre 600 et 1000 nm. Dans ce domaine spectral, les photons peuvent traverser plusieurs centimètres de tissus. Cependant, la diffusion de lumière reste élevée et les photons détectés ont suivi des trajectoires complexes entre leurs points d'entrée et de sortie dans l'organisme étudié. Les techniques de reconstruction utilisant la rétroprojection des photons ayant traversé les tissus en ligne droite, développées en particulier pour la tomographie de rayons X, ne sont plus applicables. Les techniques de TOD et TODF doivent prendre en compte les multiples diffusions subies par les photons détectés pour la reconstruction des images des propriétés optiques d'absorption, de diffusion et de fluorescence, des tissus profonds à partir des mesures effectuées en surface.

L'utilisation de méthodes optiques résolues en temps fournit plus d'information et permet de résoudre plus précisément le difficile problème de reconstruction, par comparaison avec les méthodes continues ou modulées en fréquence. En pratique, ces techniques résolues en temps utilisent des sources d'excitation pulsée dans le domaine des picosecondes et enregistrent les profils temporels des photons détectés à la surface de l'animal.

Le travail de cette thèse s'inscrit comme une suite des recherches doctorales de Virginie Zint, Murielle Torregrossa et Bruno Montcel effectuées au sein du laboratoire. Un tomographe optique permettant d'effectuer des mesures de TOD et de TODF résolues en temps a été progressivement assemblé dans le laboratoire. Il utilise des diodes laser picoseconde pilotées en mode séquentiel. Le balayage de la surface de l'objet est réalisé grâce à des fibres optiques et un système mécanique original. La partie détection est composée d'un tube photomultiplicateur à galettes de microcanaux multi-anodes et de cartes de comptage de photons résolus en temps. Cet instrument a été conçu pour des études précliniques sur des petits rongeurs, rats ou souris.

La plupart des systèmes d'imagerie optique préclinique conventionnels se limitent à l'imagerie de la surface de l'animal. Des dispositifs plus évolués fournissent une image 3D. Ils nécessitent soit un dispositif mécanique pour la mise en contact des fibres sur l'animal, soit l'immersion de l'animal dans un liquide de couplage. Ces méthodes sont très peu pratiques, en particulier pour des modèles de

pathologie cérébrale, et une configuration sans contact applicable sur animal non immergé apparait plus appropriée.

Les algorithmes classiques de reconstruction d'image en TOD résolue en temps utilisent les moments des profils temporels. Plusieurs limitations à ces méthodes ont été mentionnées, notamment la dégradation de la résolution spatiale et la mauvaise séparation des images d'absorption et de diffusion ou diaphonie, dues à l'utilisation d'un nombre limité de données.

L'objectif de ce travail de thèse est multiple.

Le premier consiste en un développement de l'appareil afin de l'adapter à l'imagerie préclinique sans contact des fibres et de l'animal, ni usage d'un milieu de couplage. Cette approche nécessite la connaissance de la surface de l'animal. Un dispositif d'imagerie de la surface des animaux examines a été intégré au tomographe optique. Cette approche a également nécessité une modélisation de la propagation de la lumière dans l'espace entre les extrémités des fibres et la surface de l'animal. Cette modélisation est nécessaire à la résolution du problème direct, qui consiste à déterminer les profils temporels des photons détectés après avoir traversé un milieu de propriétés connues.

Le deuxième objectif de ce travail est le traitement tridimensionnel de la propagation de la lumière dans l'animal. Le laboratoire ne disposait en effet que de logiciels de reconstruction 2D ne prenant pas en compte la trajectoire réelle des photons détectés.

Le troisième objectif de cette thèse est de faire évoluer les algorithmes de reconstruction dans le but de réaliser des images de TOD 3D sur petit animal dans la configuration de mesure sans contact, en utilisant plus d'information que les seuls moments des profils temporels.

Le dernier objectif de cette thèse est d'étendre les méthodes précédentes à la reconstruction d'images de fluorescence TODF 3D.

Les éléments nécessaires à la compréhension de ce travail ainsi que les résultats obtenus sont présentés dans ce manuscrit qui s'articule en six chapitres.

Le premier chapitre est divisé en deux parties. La première est consacrée à la description des caractéristiques optiques des tissus biologiques, nécessaires à la modélisation de la propagation de la lumière. Nous décrivons ensuite le phénomène d'émission de fluorescence et présentons les avantages offerts par son utilisation. La deuxième partie dresse un état de l'art de l'imagerie optique en médecine en décrivant les différentes méthodes utilisées. La fin de cette partie met l'accent sur l'émergence des méthodes résolues en temps utilisées dans la suite de cette thèse.

Le deuxième chapitre constitue une introduction aux aspects pratique mis en œuvre dans cette thèse. Il porte en particulier sur la description des problèmes directs et inverses en TOD/TODF. L'adaptation des méthodes de modélisation à la géométrie de détection sans contact et à l'émission de fluorescence clôt ce chapitre.

La description du tomographe optique résolu en temps constitue le troisième chapitre. Il débute par la présentation de l'équipement utilisé pour réaliser l'imagerie de la surface de l'animal. L'ensemble de l'équipement TOD / TODF permettant d'obtenir les mesures tomographiques est ensuite détaillé. Ce chapitre se termine par une description des objets tests réalisés pour la validation de l'instrumentation et des méthodes de reconstruction développées dans cette thèse.

Le quatrième chapitre est consacré au formalisme mathématique de la résolution des problèmes direct et inverse décrits dans le chapitre 2. En première partie, nous décrivons la résolution du problème direct en utilisant un modèle mathématique de la propagation de la lumière dans les milieux diffusants. Ce modèle consiste en l'approximation de l'équation de transport radiatif par l'équation de diffusion. Celle-ci est résolue par la méthode des éléments finis tridimensionnelle. Les cartes 4D spatio-temporelles des densités de photons ainsi obtenues seront utilisées dans l'évaluation des algorithmes de reconstruction. Les outils mathématiques permettant d'inverser le problème pour la reconstruction des images TOD sont décrits dans une deuxième partie. Le problème inverse est ramené à un problème d'optimisation. Les images reconstruites représentent la distribution des propriétés optiques permettant de minimiser une expression d'erreur entre les données simulées et les

résultats de mesure. Les différents types de données utilisées dans l'inversion du problème sont discutés. Nous proposons une nouvelle méthode basée sur la sélection de points spécifiques des profils temporels, sensibles à l'absorption ou à la diffusion et permettant de diminuer la diaphonie entre les deux types d'image. Nous présentons aussi les outils mathématiques permettant de tirer profit de l'information structurelle à priori fournie par une méthode d'imagerie anatomique. Ce chapitre s'achève par la présentation d'un formalisme permettant de simplifier la reconstruction d'images de fluorescence, appelé approche en lumière totale.

Les résultats obtenus par simulation sont décrits dans le chapitre 5. La première partie est consacrée aux améliorations apportées pour la résolution du problème direct dans les configurations avec et sans contact. Elles portent sur le positionnement des sources et des détecteurs, la génération des maillages adaptés aux géométries étudiées, les pas de temps de simulation optimaux et la génération des profils temporels en configuration sans contact. La validation des méthodes de reconstruction 3D sur des données simulées constitue la seconde partie. Elle se compose d'une comparaison des images obtenues à partir de trois types de données, de l'intérêt des informations anatomiques à priori. Des images d'un fantôme de souris et de la concentration d'une sonde fluorescence y sont présentées.

Le dernier chapitre porte sur les résultats expérimentaux obtenus. Il est divisé en deux parties. La première porte sur la caractérisation de l'appareil. Celle-ci est nécessaire pour la compréhension des phénomènes déterminant la qualité des mesures. Une méthode de prétraitement et de calibration de ces mesures est proposée. La modélisation de l'approche sans contact est validée par comparaison des données expérimentales et des données simulées. La deuxième partie présente les premiers résultats de reconstruction 3D en utilisant des données expérimentales. Ces résultats sont obtenus en utilisant les moments. Cette méthode permet en effet de faciliter les opérations de déconvolution pour tenir compte de la réponse impulsionnelle du système. Des images de deux objets différents ont été reconstruites. Leur comparaison permet de montrer les limites de l'utilisation de ce type de données et de justifier la nécessité d'utiliser la méthode proposée, basée sur la sélection de points spécifiques des profils temporels.

Le manuscrit se conclut par une discussion du travail réalisé et des résultats obtenus. Pour finir, nous discuterons des perspectives permettant de faire totalement aboutir ce travail et de l'ouvrir à des applications en imagerie préclinique.

1 Bases physiques de l'optique biomédicale

Aujourd'hui, l'imagerie médicale n'est plus seulement considérée comme un élément de diagnostic et de prévention, mais elle est devenue un instrument d'évaluation de la physiologie et de la biochimie in vivo des organes ainsi qu'un outil indispensable pour le choix et le suivi thérapeutique des pathologies. Les techniques d'imagerie médicale in vivo peuvent être classées en deux grandes catégories : l'imagerie anatomique et l'imagerie fonctionnelle. L'imagerie anatomique ou radiologique utilise différentes techniques, principalement l'imagerie et la tomographie de rayons X, l'imagerie de résonance magnétique (IRM) et l'échographie ultrasonore. Les techniques les plus courantes d'imagerie fonctionnelle sont l'imagerie des rayons γ, avec la tomographie par émission de positons (TEP) ou la tomoscintigraphie par émission monophotonique (TEMP), mais aussi l'IRM.

L'imagerie médicale *in-vivo* utilise donc principalement les ondes électromagnétiques (EM). Les techniques utilisées en clinique exploitent tout le spectre électromagnétique, présenté en figure 1.1, des rayons γ dans les services de médecine nucléaire, jusqu'aux radiofréquences, dans le cas de l'IRM en passant par les rayons X dans les services de radiologie. Les domaines du visible et du proche-infrarouge sont encore très peu utilisés en imagerie clinique, mais connaissent un intérêt grandissant depuis une vingtaine d'années. Plusieurs techniques d'imagerie optique ont déjà investi le domaine de la clinique, en particulier la tomographie optique cohérente (TOC) en ophtalmologie ou la spectroscopie et la topographie proche infrarouge (NIRS) en neurologie.

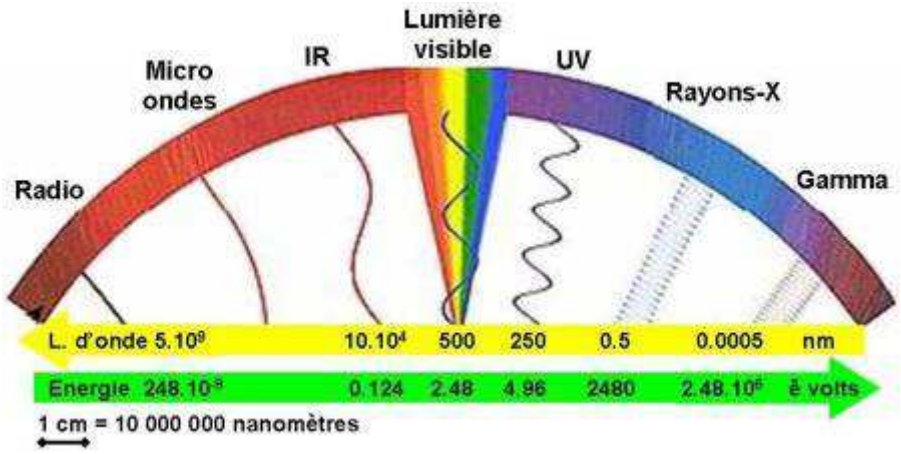


Figure 1.1 : Spectre des ondes électromagnétiques [1].

D'autres techniques sont encore essentiellement utilisées en imagerie préclinique du petit animal, mais les travaux en recherche translationnelle les rapprochent rapidement de la clinique. Au premier rang de ces techniques figurent la tomographie optique diffuse (TOD) et la tomographie moléculaire de fluorescence (TMF ou TODF) qui constituent l'objet de cette thèse. Les raisons de cet intérêt croissant pour ces nouvelles techniques dans le proche infrarouge sont multiples. Elles résident pour une part dans les progrès des technologies photoniques et informatiques, permettant de répondre à des questions auparavant sans solution. Une deuxième raison est liée à la richesse des informations spectroscopiques fournies, qu'il s'agisse des propriétés intrinsèques des tissus ou des caractéristiques de nouvelles sondes fluorescentes fonctionnalisées et absorbant dans le proche infrarouge. Enfin, nous rappellerons que ces radiations proches infrarouges pénètrent profondément dans les tissus, permettant d'explorer des organes sur plusieurs centimètres de profondeurs.

Ainsi, en TOD, chaque tissu biologique sera caractérisé par les spectres de ses propriétés optiques. Ceux-ci fournissent des informations sur sa nature et son état physiopathologique. En effet, un tissu lésé ne possède pas les mêmes propriétés optiques que ce même tissu sain. Plusieurs causes peuvent

être à l'origine de ces modifications des propriétés optiques : une variation de la composition, de la perfusion ou de l'oxygénation tissulaire, un changement de conformation cellulaire, ou la pénétration d'agents de contraste absorbants ou fluorescents.

Dans ce chapitre, nous présenterons tout d'abord les différentes propriétés optiques des tissus biologiques et nous les associerons à leur composition. Ensuite, nous évoquerons la propagation de la lumière à travers ces tissus. Ce point nous permettra de justifier sa modélisation par l'équation de diffusion. L'exposé des méthodes expérimentales permettant d'acquérir les données requises pour réaliser une imagerie optique in vivo et les techniques numériques utilisées pour la résolution de l'équation de diffusion constituera la dernière partie de ce chapitre.

1.1 Caractéristiques optiques des tissus

Pourquoi continuons-nous à voir de la lumière rouge même les yeux fermés ? La réponse à cette question permet de comprendre les bases de la tomographie optique diffuse.

Ce phénomène est dû au fait que les tissus biologiques absorbent plus ou moins la lumière selon sa longueur d'onde. La lumière rouge, et plus encore proche infrarouge (PIR), est moins fortement absorbée que la lumière verte ou bleue et pénètre profondément dans les tissus biologiques, à une profondeur de quelques centimètres [2]. De plus, les photons de la lumière rouge ou PIR sont moins diffusés à cause de la diversité des structures tissulaires, que les autres photons de la lumière visible. Ainsi une épaisseur de quelques millimètres de tissu, comme la paupière, absorbe totalement les composantes de faible longueur d'onde du spectre visible (bleu, vert), mais laisse passer une proportion importante de lumière rouge.

Une description plus rigoureuse de la propagation de la lumière dans les tissus, et des modes d'interaction lumière-tissus, est présentée dans la suite.

Maxwell a décrit la propagation de la lumière à travers un milieu quelconque à partir des quatre équations, qui portent aujourd'hui son nom, de l'électromagnétisme et des conditions de continuité des champs électromagnétiques aux différentes interfaces. Du fait de la forte hétérogénéité des tissus biologiques, l'application de ce formalisme ondulatoire est très complexe. Une approche descriptive, basée sur un bilan énergétique, lui est préférée. L'équation du transfert radiatif, ou ses simplifications telles que l'approximation de diffusion qui en résulte, seront exposées au chapitre IV. Ces modèles de propagation de la lumière dans les tissus nécessitent l'introduction des caractéristiques du milieu: l'indice de réfraction et les coefficients d'absorption et de diffusion.

1.1.1 Indice de réfraction

La réflexion de la lumière à l'interface entre deux milieux est due à la différence d'indice de réfraction entre ces milieux. L'*indice de réfraction*, n, est défini comme le rapport de la vitesse de la lumière dans le vide à sa vitesse dans le milieu traversé [3]. Dans les milieux biologiques, cet indice de réfraction varie très peu d'un tissu à un autre. Il dépend essentiellement de la teneur en eau de ces tissus. L'indice de réfraction moyen dans les tissus biologiques est d'environ 1,40. Cet indice varie entre 1,33 indice de réfraction de l'eau et 1,50 pour un tissu déshydraté [4,5].

1.1.2 Absorption

1.1.2.1 Expression macroscopique de l'absorption

L'absorption des rayonnements par les tissus biologiques dépend de sa composition moléculaire. A l'échelle atomique, l'absorption de lumière visible ou PIR est dictée par la physique quantique et associée à la correspondance entre l'énergie des photons qui la composent et les différences d'énergie des électrons sur leurs orbitales moléculaires. Ainsi, une molécule absorbe un photon de fréquence ν quand l'énergie de ce photon, $h\nu$, h étant la constante de Planck de valeur $6{,}62.10^{-34}$ J.s, correspond à l'énergie d'une transition électronique, et vibrationnelle, de cette molécule. L'énergie incidente $h\nu$ est

absorbée par la molécule. Cette énergie peut ensuite être partiellement réémise sous forme d'un photon de fluorescence, ou provoquer, via un transfert d'énergie sur des états excités métastables, la production de radicaux libres et induire une réaction photochimique et/ou l'émission d'un photon de phosphorescence. Le plus souvent, cette énergie est totalement dissipée sous forme de chaleur dans les tissus.

Une orbitale moléculaire, ou une liaison chimique, capable d'absorber une radiation visible constitue un chromophore, et est responsable de la coloration des tissus qui contiennent de telles molécules. A l'échelle macroscopique, la présence de différents chromophores dans un tissu est responsable de phénomènes d'absorption complexes, se traduisant par de multiples bandes d'absorption. Chacun de ces chromophores peut être modélisé par une sphère de taille proportionnelle à sa capacité d'absorption. Pour un absorbeur donné (i), et selon cette modélisation, on définit la *section efficace d'absorption* σ_{ai} (mm²) qui représente la capacité d'absorption du chromophore *i*. Elle est fonction de sa taille géométrique A_i (mm²) et de son *efficacité d'absorption* Q_{ai}, selon la relation :

$$\sigma_{ai} = A_i Q_{ai} \tag{1.1}$$

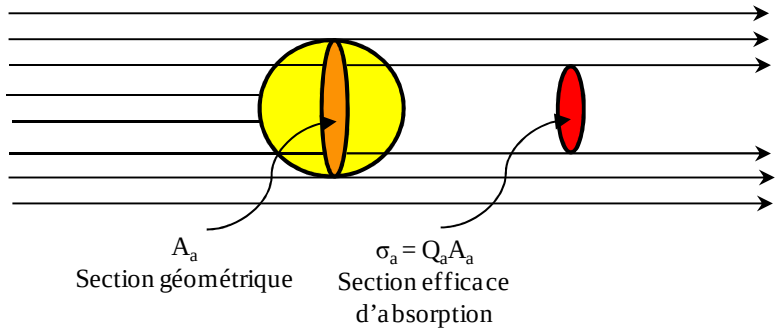


Figure 1.2 : Illustration de la section efficace d'absorption [6].

Le coefficient d'absorption du milieu contenant ρ_i (mm^{-3}) chromophores i par unités de volume, noté μ_{ai} (mm^{-1}) est défini par :

$$\mu_{ai} = \rho_i \sigma_{ai} \tag{1.2}$$

Pour un milieu contenant plusieurs absorbeurs sans interaction, le coefficient d'absorption μ_a est la somme des coefficients de ses chromophores. Ce coefficient est défini par :

$$\mu_a = \sum_i \rho_i \sigma_{ai} \tag{1.2b}$$

Lorsqu'une onde plane se propage dans un milieu absorbant, homogène et non diffusant, la diminution relative de l'intensité I sur une tranche d'épaisseur dx obéit à la loi [7] :

$$\frac{dI}{I} = -\mu_a dx \tag{1.3}$$

L'équation (1.3) montre que la quantité de lumière, exprimée par son intensité ou sa densité de photons, absorbée dans la tranche [x, x+dx] est proportionnelle au produit $\mu_a dx$.

L'intégration sur une tranche d'épaisseur x conduit à la loi d'atténuation de Beer-Lambert [7]:

$$I(x) = I_0 \exp(-\mu_a x) \tag{1.4}$$

où I_0 est l'intensité de la lumière incidente (à x = 0), voir Figure 1.3.

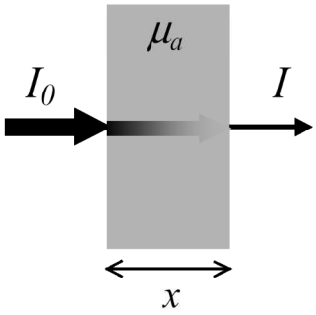


Figure 1.3 : Influence du coefficient d'absorption.

Le *Libre Parcours Moyen d'Absorption (LPMA)* L_a représente la distance moyenne qu'un photon effectue avant son absorption et est défini comme l'inverse du coefficient d'absorption :

$$L_a = \frac{1}{\mu_a} \tag{1.5}$$

L'absorption d'un milieu dépend donc de sa composition, de par la concentration de ses différents chromophores, et de la section efficace de ceux-ci. La concentration C_i est exprimée en mole par litre, et non en molécules par mm^3, et la loi d'atténuation de Beer Lambert écrite avec une fonction exponentielle de base 10, selon la forme usuelle :

$$I(x) = I_0 10^{-\varepsilon_i C_i x} \tag{1.4b}$$

La notion de section efficace est substituée par celle de coefficient d'extinction molaire ε_i :

$$\mu_{ai} = \varepsilon_i C_i \ln(10) = \rho_i \sigma_{ai} \tag{1.6}$$

La *transmission* T d'un milieu d'épaisseur L est définie comme le rapport entre l'intensité de la lumière transmise et l'intensité initiale :

$$T(x) = \frac{I(L)}{I_0} \tag{1.7}$$

La *densité optique* (DO) d'un milieu d'épaisseur L donnée est calculée par :

$$DO = \log_{10}\left(\frac{1}{T}\right) = -\log_{10}\left(\frac{I(L)}{I_0}\right) \tag{1.8}$$

Ainsi, la DO d'un milieu d'épaisseur L est reliée à son coefficient d'absorption et aux coefficients d'extinction molaire des ses composants par :

$$DO = \mu_a L \log_{10}(e) = L \sum_i \varepsilon_i C_i \tag{1.9}$$

1.1.2.2 Nature des chromophores tissulaires

La bande spectrale allant de 600nm à 1000nm, qui inclut le rouge et le proche infrarouge, a été nommée « fenêtre thérapeutique » par John A. Parrish [8]. Dans cette fenêtre, les principaux absorbeurs endogènes des tissus sont la mélanine, l'eau, les graisses et l'hémoglobine du sang, présente sous deux formes principales : l'oxyhémogolobine (HbO_2) et la désoxyhémoglobine (Hb). La mélanine n'est présente que dans l'épiderme. Pour les autres tissus, de 600 à 850 nm, l'absorption est principalement due à l'hémoglobine. Au-delà de 850 nm, l'absorption de l'eau et des graisses ne peut plus être négligée. C'est ainsi que la principale application médicale des méthodes optiques dans le proche infrarouge, la spectroscopie proche infrarouge (SPIR), permet de déterminer la vascularisation

et l'oxygénation tissulaire par la détermination des concentrations de Hb et HbO_2à partir de mesures d'absorption à plusieurs longueurs d'onde.

1.1.2.2.1 Hémoglobine

C'est une protéine dont la principale fonction est le transport du dioxygène dans l'organisme humain et chez les autres vertébrés. L'hémoglobine se trouve à l'intérieur des globules rouges du sang ce qui leur confère leur couleur rouge. Elle est présente dans le corps sous deux formes majoritaires, l'oxyhémoglobine et la déoxyhémoglobine. L'hémoglobine permet au sang de transporter plus de dioxygène vers les tissus et les organes, muscles, cerveau …, qu'il ne pourrait le faire par simple dissolution de ce gaz. Les spectres d'absorption des deux formes de l'hémoglobine sont présentés figure 1.4 [9].

La concentration d'hémoglobine est d'environ 350 $g.L^{-1}$ dans les globules rouges. Pour un taux d'hématocrite moyen de 0,45, la concentration d'hémoglobine dans le sang est de 160 $g.L^{-1}$ ou de $5{,}6.10^{-3}$ $mol.L^{-1}$ (la masse molaire de l'hémoglobine étant de 65000 g).

1.1.2.2.2 Mélanine

La mélanine est un pigment responsable de la coloration de plusieurs tissus biologiques. Chez l'homme, la couleur de la peau, des cheveux et des yeux dépendent principalement du type de la mélanine et de sa concentration.

Le rôle principal de la mélanine est la protection pigmentaire contre les radiations UV, domaine spectral où son absorption est la plus élevée. Mais son absorption dans le PIR n'est pas nulle et sa présence dans les tissus superficiels peut influencer les mesures en SPIR.

1.1.2.2.3 Eau et graisses

L'eau est le composant principal des tissus biologiques. Elle peut représenter jusqu'à 80% de la masse de certains organes, comme le cerveau [10]. Son absorption devient prépondérante aux longueurs d'onde supérieures à 950 nm et ne peut être négligée dans la partie supérieure de la fenêtre thérapeutique. Il en est de même des lipides qui présentent une absorption importante entre 850 et 950 nm. Souvent négligée dans les appareils de SPIR, l'absorption optique de ces deux composants majeurs des tissus peut être à l'origine d'artéfacts lors de mesures de paramètres vasculaires ou être mise à profit pour obtenir des informations tissulaires pertinentes ou constituer des facteurs de contraste en TOD [11].

Une comparaison de ces spectres d'absorption des absorbeurs principaux du corps est montrée dans la figure 1.4.

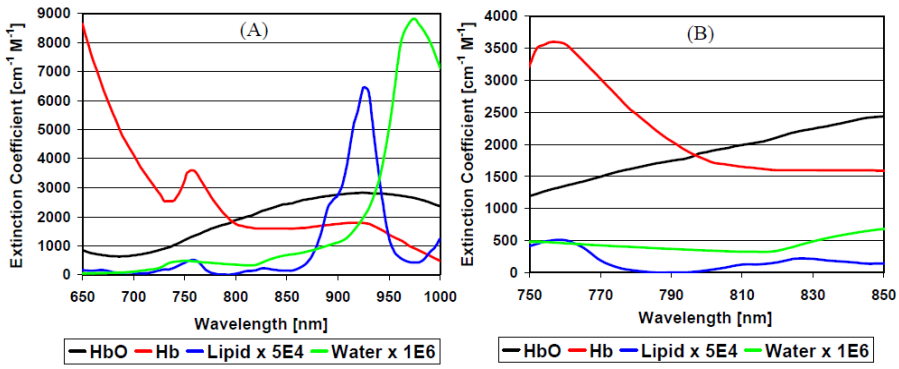


Figure 1.4 : Spectres d'absorption de l'oxy- et désoxy-hémoglobine, des lipides et de l'eau dans la fenêtre thérapeutique. Les spectres des lipides sont multipliés par 5.10^4 et celui de l'eau par 1.10^6 afin de représenter l'ensemble à la même échelle [9].

1.1.3 Diffusion

1.1.3.1 Origine de la diffusion

La diffusion optique résulte d'une interaction de la lumière avec la matière dans laquelle la direction du rayonnement incident est modifiée par des hétérogénéités présentes dans le milieu et constituant des ruptures d'indice de réfraction. La diffusion résulte de plusieurs mécanismes complémentaires : réflexion et réfraction sur ces interfaces, diffraction des faisceaux… La diffusion de lumière joue un rôle important dans la distribution spatiale des photons et de l'énergie dans les tissus. Lorsque la lumière est peu absorbée, comme c'est le cas dans la fenêtre thérapeutique du PIR, la pénétration en profondeur du faisceau est fortement limitée par ce phénomène de diffusion.

Le modèle classique de propagation des ondes électromagnétiques dans les milieux diélectriques est le modèle le plus simple pour appréhender le phénomène de la diffusion lumineuse. Lors de la propagation d'une onde électromagnétique dans un milieu diffusant, le champ électrique associé à cette onde perturbe l'équilibre des nuages électroniques et des moments dipolaires sont induits sous l'action des forces de Coulomb.

Ces moments oscillent à la même fréquence que l'onde d'excitation et créent une polarisation du milieu. Chaque dipôle devient alors une source de champ électromagnétique à la fréquence d'oscillation. Les atomes sont excités les uns après les autres, et propagent l'onde à l'intérieur du milieu. Ce mécanisme modifie le front d'onde dans le milieu et fait varier la vitesse de phase de l'onde électromagnétique par rapport à sa vitesse dans le vide. Il est explicité par l'indice de réfraction du milieu n.

Il est aussi à l'origine d'une dispersion des directions de propagation de l'onde, de part et d'autre de la direction incidente de la lumière. Dans les tissus vivants, la proximité des particules diffusantes engendre des interférences entre les ondes réfléchies et réfractées, la propagation se fait alors dans toutes les directions. C'est ce qu'on appelle la diffusion lumineuse.

La forte diffusion à l'intérieur des tissus biologiques est donc due à la concentration élevée des structures diffusantes et aux différences d'indice de réfraction entre ces structures et le milieu dans lequel elles sont dispersées. Les valeurs des indices de réfraction de quelques matériaux sont présentées dans le tableau 1.1.

Composant	**Indice de réfraction**
Eau	1,33
Air	1,00
Cytoplasme	1,38
Mitochondrie	1,40
Lipides	1,48

Tableau 1.1 : Indices de réfraction de quelques composants des tissus biologiques

Les tissus biologiques sont composés principalement d'eau et de lipides. La grande différence entre les indices de réfraction de ces deux composants principaux est une des causes de la forte diffusion dans les tissus. Ainsi la diffusion peut être associée à la proportion en lipides des tissus. Par exemple, les tissus cérébraux contiennent une grande proportion de lipides, jusqu'à 17% dans la matière blanche et 8% dans la matière grise [12].

L'organisation tissulaire joue également un rôle important dans la diffusion, c'est notamment le cas pour les fibres musculaires, les fibres de collagène dans la peau, ou encore les gaines de myéline dans la matière cérébrale.

Enfin, les différents composants de la cellule : noyau, cytoplasme, mitochondries, ribosomes, vésicules …, leurs membranes et leur constituants internes, sont autant de sources de diffusion tissulaire. La diversité des particules diffusantes à l'intérieur d'un tissu complique la spécification de la nature de diffusion.

Cette dernière sera caractérisée par la distribution de l'intensité lumineuse diffusée en fonction de l'angle d'observation par rapport à l'onde incidente. Cette répartition est appelée fonction de phase. Les différentes tailles des particules responsables de la diffusion dans les milieux matériels conduisent à la définition de deux régimes de diffusion en fonction de la longueur d'onde.

- Lorsque la taille des particules est nettement inférieure à la longueur d'onde, on parle de diffusion de Rayleigh. En 1871, Rayleigh fut en effet le premier à formuler la théorie de la diffusion isotrope [13] produite par ces particules.
- Lorsque la taille des particules est voisine de la longueur d'onde, on parle de régime de Mie. En 1908, Mie a généralisé la théorie de la diffusion aux particules dont la taille est de l'ordre de la longueur d'onde [14]. A mesure que la taille des particules augmente, la diffusion devient anisotrope. Elle est préférentiellement dirigée vers l'avant et dépend moins fortement de la longueur d'onde.

En modélisant les irrégularités du milieu par des sphères, nous pouvons utiliser la théorie de Mie. Il est alors possible de calculer la fonction de phase de la lumière diffusée, en fonction de la taille des particules, de leur concentration, et de la rupture d'indice de réfraction. Afin d'approcher au mieux la réalité, d'autres modèles existent, ils sont très couteux en ressources informatiques [4,15,16] mais ne peuvent de toute manière pas décrire de manière satisfaisante la complexité des tissus biologiques et en particulier des divers composants des cellules.

1.1.3.2 Expression macroscopique de la diffusion

De la même façon que pour l'absorption, chaque particule peut être assimilée à une sphère de dimension proportionnelle à son pouvoir de diffusion. Dans ces conditions, on définit la *section efficace de diffusion* σ_{si} (mm²), qui est liée à sa section géométrique A_j (mm²) par un facteur de proportionnalité appelé *l'efficacité de diffusion* Q_{si}:

$$\sigma_{si} = A_i Q_{si} \tag{1.10}$$

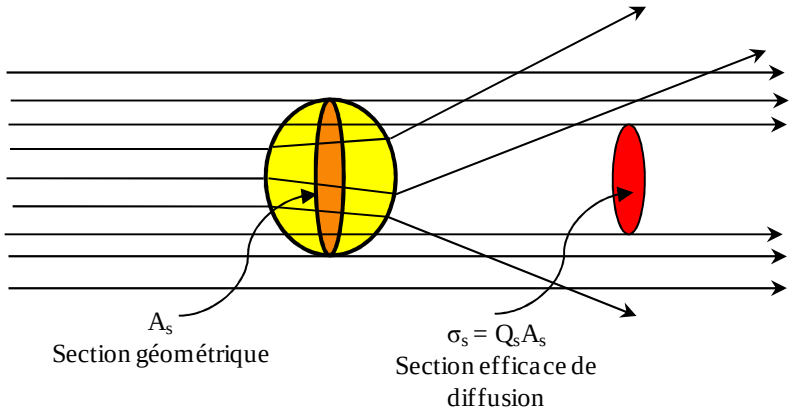


Figure 1.5 : Illustration de la section efficace de diffusion. Traduit de la référence [6].

En supposant que les particules diffusantes sont distribuées de manière homogène, avec une densité ρ_i (mm^{-3}), le coefficient de diffusion μ_s (mm^{-1}) peut s'écrire:

$$\mu_{si} = \rho_i \sigma_{si} \tag{1.11}$$

Pour un milieu contenant plusieurs diffuseurs indépendants, le coefficient de diffusion μ_s est la somme des coefficients de ces diffuseurs et s'écrit :

$$\mu_s = \sum_i \rho_i \sigma_{si} \tag{1.11b}$$

Dans un milieu non absorbant, l'intensité de lumière non diffusée I évolue, en fonction de la profondeur x, selon l'équation suivante, similaire au cas de l'absorption :

$$\frac{dI}{I} = -\mu_s dx \tag{1.12}$$

L'intégration sur une tranche d'épaisseur x, d'un milieu absorbant et diffusant, conduit à l'atténuation du faisceau non diffusé, donc sans redirection:

$$I(x) = I_0 \exp(-(\mu_a + \mu_s)x) \tag{1.12b}$$

où I_0 est l'intensité de la lumière incidente (à x = 0), voir Figure 1.6. On définit ainsi le *coefficient d'atténuation total* $\mu_t = \mu_a + \mu_s$.

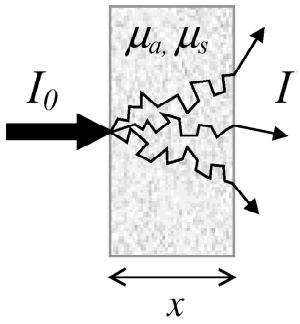


Figure 1.6 : Atténuation d'un faisceau dans un milieu absorbant et diffusant.

Le Libre Parcours Moyen de Diffusion (LPMD), l_s, est défini, comme précédemment pour l'absorption. Il représente le parcours moyen d'un photon entre deux évènements consécutifs de diffusion :

$$L_s = \frac{1}{\mu_s} \tag{1.13}$$

Ce coefficient de diffusion μ_s ne rend pas totalement compte de la diffusion, et en particulier de la distribution de la lumière diffusée selon l'angle de diffusion. On introduit pour cela la *fonction de phase normalisée* $f(\vec{s},\vec{s}')$ qui est la probabilité qu'un photon incident suivant la direction $\vec{s}$, reparte dans la direction $\vec{s}'$ après un évènement de diffusion. Au vu de la complexité de la composition des tissus biologiques, on suppose généralement que la fonction de phase ne dépend que de l'angle entre $\vec{s}$ et $\vec{s}'$. On peut ainsi exprimer la fonction de phase en fonction du cosinus de l'angle θ de diffusion. (Figure 1.7)

On peut également, de manière simplifiée, caractériser la distribution angulaire de la diffusion par le *facteur d'anisotropie g.* Ce nombre est une mesure de l'angle moyen de diffusion <θ>, défini comme le cosinus moyen de l'angle de rediffusion :

$$g = \cos < \theta >= \int_{-1}^{1} f(\cos\theta)\cos\theta d(\cos\theta) \tag{1.14}$$

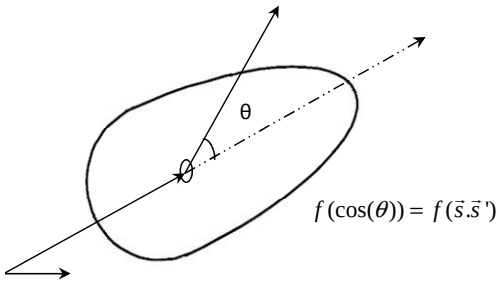


Figure 1.7 : Fonction de phase normalisée.

Le facteur d'anisotropie est égal à 1 quand la diffusion se fait uniquement vers l'avant. Il est nul pour une diffusion isotrope : $<\theta> = 90°$.
Dans les tissus biologiques, la diffusion se fait préférentiellement vers l'avant avec par exemple un facteur d'anisotropie de l'ordre de 0,92 dans le cerveau [17]. Plusieurs modèles de fonctions de phase existent. Un des modèles largement utilisés est la fonction d'Henyey-Greenstein, qui est particulièrement adaptée à la description de la diffusion en milieu biologique [18]. Cette fonction ne dépend que du facteur d'anisotropie et du cosinus de l'angle θ :

$$f(\theta) = \frac{1}{4\pi} \frac{1-g^2}{(1+g^2-2g\cos\theta)^{3/2}} \tag{1.15}$$

Ainsi la diffusion est caractérisée par le coefficient de diffusion et le facteur d'anisotropie. Il est encore possible de simplifier sa description par une combinaison de ces deux paramètres, en définissant le coefficient de diffusion réduit μ_s' :

$$\mu_s' = \mu_s(1-g) \tag{1.16}$$

L'inverse du coefficient de diffusion réduit ($1/\mu_s'$) est *le libre parcours moyen de transport L'$_s$*.

Ce simple paramètre est suffisant pour caractériser un milieu fortement diffusant comme un tissu biologique. En effet, on peut considérer qu'un photon a perdu la mémoire de sa direction initiale après avoir parcouru une distance égale à un libre parcours moyen de transport, exactement comme après une simple diffusion isotrope après un libre parcours moyen de diffusion. La figure 1.8 illustre l'équivalence entre la propagation sur un libre parcours moyen de diffusion L_s dans un milieu où la diffusion est isotrope et la propagation dans un milieu de facteur d'anisotropie *g = 0,9* et une propagation isotrope de libre parcours moyen de transport *L'$_s$ = 10L$_s$*.

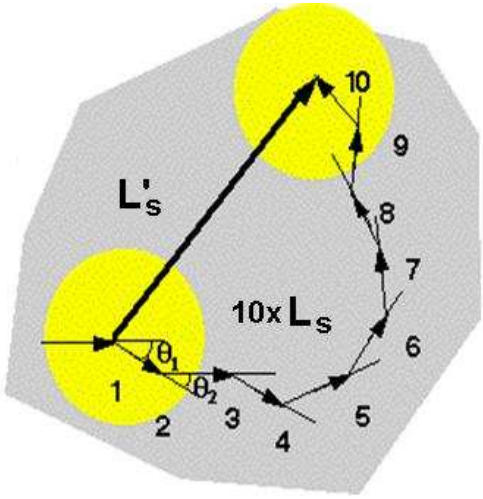


Figure 1.8 : Illustration du libre parcours moyen de diffusion (L_s) et du libre parcours moyen de transport (L's). D'après [6].

Par analogie avec le coefficient d'atténuation μ_t, le *coefficient d'atténuation de transport* est défini par :

$$\mu_{tr} = \mu_a + \mu_s(1-g) = \mu_a + \mu_s' \tag{1.17}$$

Enfin, l'*albédo* a, est défini par :

$$a = \frac{\mu_s}{\mu_t} \tag{1.18}$$

La valeur de l'albédo varie entre 0 pour un milieu purement absorbant et 1 pour un milieu purement diffusant. L'albédo représente la fraction de lumière diffusée par un milieu tandis que (1-a) représente la fraction qui a été absorbée par ce milieu.

1.2 Propriétés optiques des tissus

La principale utilisation en diagnostic médical de la SPIR repose sur les différences des spectres d'absorption des deux formes de l'hémoglobine. La mesure du coefficient d'absorption optique à plusieurs longueurs d'onde permet d'obtenir des informations sur la concentration et le taux d'oxygénation de l'hémoglobine dans les tissus. Cette information est particulièrement utile dans les études fonctionnelles du cerveau et du muscle ou en cancérologie, grâce aux informations sur le métabolisme tumoral [19].

Si les principales applications reposent sur les variations de l'absorption optique, quelques études sont basées sur le coefficient de diffusion. Par exemple, ce paramètre peut être utilisé pour déterminer la nature d'une tumeur. En effet, une tumeur bénigne possède une structure moins désorganisée qu'une tumeur maligne [11]. De même, la transmission d'information dans les neurones s'accompagne d'un gonflement qui est à l'origine d'une variation du coefficient de diffusion.

Toute utilisation diagnostique repose sur une connaissance des valeurs des paramètres mesurés dans les tissus sains, afin de comparer une mesure à une valeur de référence considérée comme normale. La quantification et la précision des mesures des propriétés optiques, d'absorption et de diffusion, est donc un facteur important dans le développement des techniques optiques.

Les propriétés optiques des tissus s'avèrent cependant très variables, selon ses conditions physiologiques ou pathologiques. Par exemple, les globules rouges absorbent et diffusent la lumière selon leur contenu et leur géométrie. Les propriétés optiques du sang dépendent ainsi du taux d'hématocrite, de l'oxygénation liée à la pression partielle d'oxygène et à de multiples paramètres physicochimiques, de l'orientation, de la forme et de la taille des globules rouges, mais également des propriétés optiques du plasma.

De plus, les coefficients optiques sont difficiles à mesurer, en particulier *in-vivo*. Les données de la littérature reflètent ces difficultés. Les valeurs des coefficients d'absorption et de diffusion publiées sont extrêmement dispersées [20]. Le tableau 1.2 présente une sélection de propriétés optiques relevées dans la littérature. Elles représentent des valeurs moyennes des propriétés optiques des tissus.

Tissu	Coefficient d'absorption μ_a (mm^{-1})	Coefficient de diffusion réduit μ_s' (mm^{-1})
Sang : artère (98%,2mmol/L) (Hillman 2002)	0.398 (800 nm)	1 (800 nm)
Sang : veine (75%,2mmol/L) (Hillman 2002)	0.396 (800 nm)	1 (800 nm)
Sang partiellement oxygéné (Cheong *et al*, 1990)	1.55 (760 nm)	0.79 (760 nm)
Matière grise adulte (Cheong *et al*, 1990)	0.27 ± 0.02 (632.8 nm)	2.06 ± 0.2 (632.8 nm)
Matière blanche adulte (Cheong *et al*, 1990)	0.22 ± 0.02 (632.8 nm)	9.1 ± 0.5 (632.8 nm)
Os (crane) (Firbank *et al*, 1993)	0.025 (800 nm)	1.8 (800 nm)
Peau: derme (Simpson *et al*, 1998)	0.013 (800 nm)	2 (800 nm)
Peau: épiderme (Simpson *et al*, 1998)	0.008 (800 nm)	1.2 (800 nm)
Muscle (Simpson *et al*, 1998)	0.03 (800 nm)	0.7 (800 nm)
Sein (glandulaire) (Cheong *et al*, 1990)	0.05 ± 0.01 (700 nm)	1.4 ± 0.3 (700 nm)
Sein (adipose) (Cheong *et al*, 1990)	0.07 ± 0.01 (700 nm)	0.9 ± 0.1 (700 nm)

Tableau 1.2 : Quelques propriétés optiques mesurées *ex-vivo*.

Un récapitulatif de tous les paramètres introduits dans cette première partie et la plage de valeurs qu'ils peuvent avoir sont présentés dans le tableau 1.3 ci-dessous.

Coefficient optique	Symbole	Unité	Plage de valeurs
Coefficient de diffusion	μ_s	mm^{-1}	de 10 à 100
Coefficient de diffusion réduit	μ_s'	mm^{-1}	de 0,3 à 10
Coefficient d'absorption	μ_a	mm^{-1}	de 0,001 à 0,1
Coefficient d'atténuation	μ_t	mm^{-1}	de 10 à 100
Coefficient d'anisotropie	g		de 0,68 à 0,99
Albédo	a		≈ 1
Indice de réfraction	n		de 1,33 à 1,48

Tableau 1.3 : Récapitulatif des propriétés optiques.

1.3 Fluorescence

1.3.1 Transitions d'énergie

La fluorescence est le résultat d'un processus qui se produit lorsque certaines molécules appelées fluorophores, fluorochromes ou colorants fluorescents, absorbent la lumière.

L'absorption d'un photon, visible ou PIR, par une molécule induit une transition d'un électron sur une orbitale moléculaire de niveau d'énergie supérieur. On dit simplement que la molécule passe de son état fondamental, généralement singulet et noté S_0 à un état excité S_1' (Fig. 1.9). La molécule se désexcite très rapidement (10^{-12} s), par voie non radiative, jusqu'à l'état vibrationnel le plus bas de l'état excité S_1. Le retour de S_1 à l'état fondamental S_0 peut se faire soit par conversion interne, dans laquelle l'énergie est convertie en chaleur, soit par voie radiative et émission d'un photon de fluorescence.

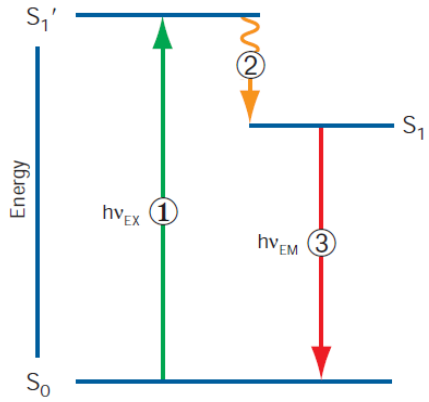


Figure 1.9 : Diagramme de Jablonski illustrant les processus impliqués dans l'émission de fluorescence : 1) excitation, 2) relaxation vibrationnelle et 3) émission de fluorescence [21].

L'état excité du fluorophore est caractérisé par un temps de vie (τ), de l'ordre de quelques nanosecondes. L'énergie du photon ($h\nu_{EM}$) émis par fluorescence correspond à la différence entre les niveaux d'énergies des deux états S_1-S_0. Cette différence d'énergie détermine la longueur d'onde de la lumière émise (λ_{EM}) :

$$\lambda_{EM} = \frac{hc}{\Delta E} \tag{1.19}$$

où ΔE est la différence d'énergie entre les deux états et c la vitesse de la lumière dans le milieu considéré ($c_0 = 3\ 10^8$ m/s dans le vide).

1.3.2 Propriétés des fluorochromes

1.3.2.1 Spectres d'excitation et d'émission

Une molécule fluorescente a deux spectres caractéristiques : un *spectre d'excitation* et un *spectre d'émission*.

1.3.2.1.1 Spectre d'excitation

Il représente les variations de l'intensité de fluorescence en fonction de la longueur d'onde d'excitation. L'émission d'un photon de fluorescence nécessitant l'absorption d'un photon, ce spectre est généralement identique au spectre d'absorption de la molécule (Fig. 1.10a). Il est généralement fourni par les fabricants du fluorochrome, ou acquis à l'aide d'un spectrofluorimètre.

L'énergie des photons au maximum du spectre d'excitation est égale à la différence d'énergie entre l'état fondamental S_0 et un niveau de vibration donné du premier état excité (S_1) de la molécule (Fig.

1.10a). Le spectre d'excitation peut présenter un deuxième pic à une longueur d'onde plus courte qui correspond à la transition de la molécule dans un état excité d'énergie supérieure (S_2).

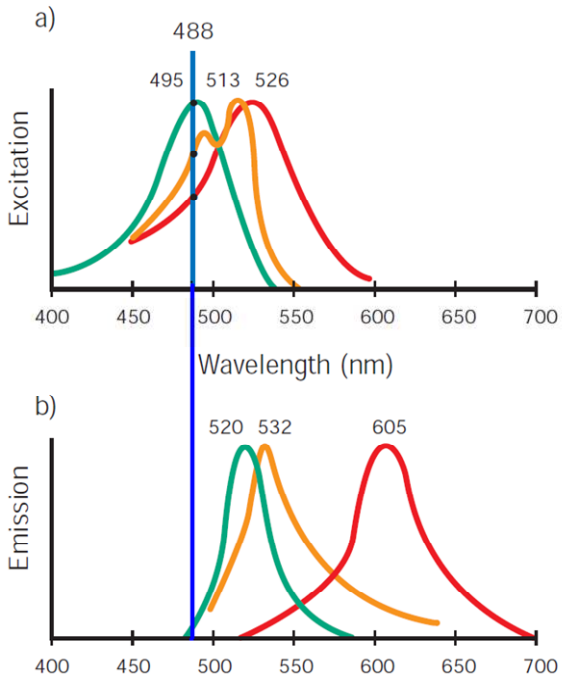


Figure 1.10 : Spectres normalisés, a) excitation et b) émission de différents fluorochromes : fluorescéine (vert), ADN-TOTO (orange), et ADN-bromure d'éthidium (rouge) [22].

1.3.2.1.2 Spectre d'émission

La probabilité relative qu'un photon soit émis à une longueur d'onde donnée est représentée dans le spectre d'émission du fluorochrome (Fig. 1.10b). En pratique, le spectre d'émission est enregistré, en excitant le fluorochrome avec une lumière d'intensité constante à une longueur d'onde fixe dans le spectre d'excitation, en faisant varier la longueur d'onde de détection des photons de fluorescence.

Le spectre d'émission est presque une image « en miroir » du spectre d'excitation. Il est décalé vers les grandes longueurs d'onde [23], comme le montrent les spectres des trois fluorochromes de la Figure 1.10b.

Le diagramme de Jablonski, faisant apparaitre les niveaux d'énergie vibrationnelle, de la Figure 1.11a, permet de comprendre cette correspondance des spectres et de décalage en longueur d'onde. Les transitions d'absorption peuplent les niveaux vibrationnels de S_1, avec une probabilité de transition maximale pour le niveau correspondant à la même longueur de liaison. La différence d'énergie au maximum d'absorption peut ainsi s'écrire :

$$\Delta E_{abs} = \Delta E_{00} + \Delta E_{vib} \tag{1.20}$$

Avec ΔE_{00} la différence d'énergie purement électronique entre S_1 et S_0 et ΔE_{vib} l'énergie de vibration dans S_1.

Au contraire, l'émission de fluorescence a lieu entre le niveau le plus bas de S_1, donc sans énergie de vibration, vers un niveau vibrationnel de S_0. La différence d'énergie correspondant au maximum d'émission s'écrit donc :

$$\Delta E_{abs} = \Delta E_{00} - \Delta E_{vib} \tag{1.20}$$

Ces deux équations rendent compte du décalage en longueur d'onde et de la correspondance en miroir des spectres d'excitation et d'émission (Fig. 1.11b).

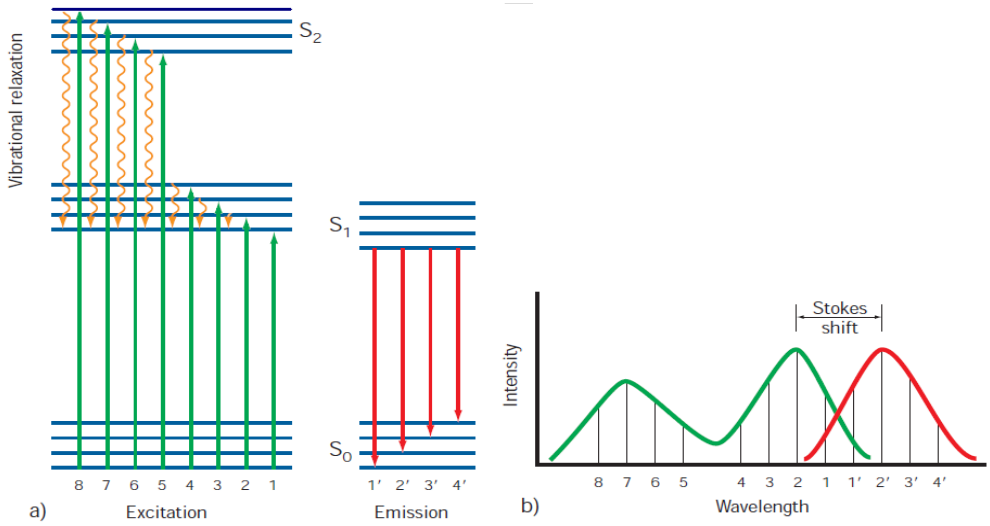


Figure 1.11 : a) Diagramme des niveaux d'énergie avec les niveaux vibrationnels, b) modèle de spectres d'excitation (vert) et d'émission (rouge) correspondant [22].

La différence de longueur d'onde entre le pic d'émission et le pic d'excitation est connue comme *le décalage de Stokes*. La longueur d'onde du maximum d'émission est indépendante de la longueur d'onde d'excitation malgré le fait que le premier état d'excitation en dépend. Etant donné que les pics d'excitation et d'émission sont spectralement séparables, il est possible de filtrer les photons d'excitation, en utilisant des filtres passe-haut (en longueur d'onde) appropriés. De cette manière, les détecteurs utilisés en spectroscopie ou en imagerie de fluorescence peuvent être protégés de la lumière d'excitation. Un tel filtrage réduit le bruit de fond et améliore la dynamique des techniques de fluorescence. Celles-ci travaillent en « fond noir », ce qui signifie qu'en l'absence de fluorophores dans les tissus explorés, le signal du détecteur sera son signal d'obscurité, et que de très faibles quantités de molécules fluorescentes pourront être détectées.

1.3.2.2 Rendement quantique et temps de vie de fluorescence

Les transitions de fluorescence de l'état excité S_1 vers l'état fondamental S_0 sont en compétition avec les mécanismes de relaxation par conversion interne, c'est-à-dire par dissipation d'énergie en chaleur. En négligeant toutes les autres voies de désexcitation, par conversion à l'état triplet en particulier, il est possible de caractériser l'efficacité de fluorescence par un nombre : le *rendement quantique de fluorescence* η. Si on note k_f le taux de relaxation par fluorescence (en s^{-1}) et k_{ci} le taux de conversion interne, le rendement quantique de fluorescence s'écrit :

$$\eta = \frac{k_f}{k_f + k_{ci}} \tag{1.21}$$

Exprimé en %, le rendement quantique de fluorescence représente le nombre de photons de fluorescence émis pour 100 photons d'excitation absorbés. Par exemple, la fluorescéine à un $\eta = 0{,}9$; la cyanine Cy5 a un $\eta = 0{,}3$.

La durée de vie moyenne de la molécule dans l'état excité S_1 (τ) peut également être exprimée en fonction de ces deux taux de relaxation :

$$\tau = \frac{1}{k_f + k_{ci}} = \frac{\eta}{k_f} \tag{1.22}$$

Ces deux caractéristiques très importantes d'un fluorophore déterminent sa facilité d'observation. On considère qu'une molécule est fluorescente lorsque son rendement quantique de fluorescence η est de plusieurs %. Selon les équations (1.21) et (1.22), plus η est élevé, ce qui signifie que k_f est du même ordre que k_{ci}, plus τ est faible. Il est donc équivalent de mesurer l'un ou l'autre de ces deux paramètres. Le rendement quantique se mesure généralement avec des méthodes continues, par comparaison avec

des fluorophores de référence. Le temps de vie de fluorescence est mesuré avec des méthodes résolues en temps, en enregistrant le déclin de fluorescence après une excitation pulsée. Ces deux paramètres sont très dépendants de l'environnement de la molécule fluorescente, notamment de l'oxygénation, de la température et de la viscosité du milieu, mais aussi de ses liaisons chimiques. Ils permettent donc de suivre les variations de cet environnement et permettent d'utiliser des « sondes » fluorescentes pour suivre *in vivo* des réactions biochimiques ou métaboliques, contribuant aux succès des techniques de fluorescence dans les sciences de la vie et de la santé.

1.3.3 Aspects pratiques des techniques de fluorescence

*1.3.3.1 **Linéarité du signal***

L'intensité de la lumière émise par fluorescence est une fonction linéaire de la concentration de fluorochrome, bien entendu lorsque la longueur d'onde et l'intensité de la lumière d'excitation sont constantes. Bien qu'une non-linéarité puisse être observée à de hautes concentrations du fluorochrome, par auto-inhibition de la fluorescence ou par auto-absorption, la linéarité est généralement observée sur un très large intervalle de concentrations.

*1.3.3.2 **Intensité du signal***

En plus de la concentration en fluorophore, l'intensité du signal de fluorescence est proportionnelle à deux caractéristiques de cette molécule :

1) son coefficient d'extinction molaire, ε, qui traduit sa capacité à absorber la lumière,
2) son rendement quantique de fluorescence, η, qui rend compte des la conversion de l'énergie absorbée en fluorescence.

Le nombre de photons de fluorescence émis N_f est relié au nombre de photons absorbés N_a par :

$$N_f = \eta N_a \tag{1.23}$$

N_f peut être exprimé en fonction du nombre de photons incidents N_0, par la loi de Beer Lambert (1.4b) :

$$N_f = \eta N_0 \left(1 - 10^{-\varepsilon CL}\right) \tag{1.23}$$

Dans le cas d'une solution diluée peu absorbante ($10^{-\varepsilon CL} \approx 1 - \ln(10).\varepsilon CL$), il est possible d'exprimer l'intensité de fluorescence détectée en fonction de l'intensité lumineuse incidente par la relation :

$$I_f = k\eta\varepsilon C I_0 \tag{1.24}$$

k étant un coefficient qui dépend de la géométrie de détection, par L et par l'efficacité de collecte des photons de fluorescence, mais aussi du déplacement de Stokes. Selon la relation (1.24), le signal de fluorescence mesuré dans les milieux dilués est proportionnel à la concentration en fluorophore, au coefficient d'extinction molaire et au rendement quantique de fluorescence. La difficulté de la quantification des mesures de fluorescence se situe dans la détermination du coefficient k, elle requiert généralement l'utilisation d'une référence pour la calibration de l'instrument.

*1.3.3.3 **Photoblanchiment***

Nous avons déjà signalé que le rendement quantique et les spectres d'excitation et d'émission d'un fluorochrome peuvent être affectés par un certain nombre de facteurs environnementaux. Ils peuvent également être modifiés par l'excitation lumineuse elle même. Cet effet, connu sous le nom de *photoblanchiment*, résulte de réactions photochimiques ou de changements de conformation du fluorochrome à l'état excité, qui modifient ses orbitales moléculaires, réduisant ainsi son absorption optique (d'où le terme blanchiment) et l'émission de fluorescence.

*1.3.3.4 **Avantages des techniques de fluorescence***

Combinées à une instrumentation appropriée d'imagerie, le marquage fluorescent est une méthode déjà largement utilisée en microscopie optique, mais aussi en biologie moléculaire ou en analyse

immunologique [22,24]. La fluorescence offre un certain nombre d'avantages importants par rapport à d'autres méthodes d'analyse ou d'imagerie. Les plus importants sont décrits ci-dessous :

1.3.3.4.1 Sensibilité et spécificité

Les sondes fluorescentes permettent d'augmenter la sensibilité de détection de nombreuses molécules biologiques. De nombreuses applications utilisant la fluorescence approchent de la sensibilité offertes par les radio-isotopes.

Un avantage unique de la fluorescence est sa possibilité d'être inhibée ou non. Cette propriété a conduit à la notion de balise moléculaire. Une balise moléculaire est constituée de quatre composants : une tige, une boucle en forme d'épingle à cheveux, un fluorophore et un inhibiteur. Lorsque la balise en forme d'épingle à cheveux n'est pas liée à une cible, le fluorophore et l'inhibiteur sont proches l'un de l'autre et la fluorescence est nulle. En la présence d'une cible, telle qu'une séquence de nucléotide complémentaire, la tige s'ouvre pour s'hybrider à la cible. Cela sépare le fluorophore de l'inhibiteur et provoque l'émission de fluorescence. De telles balises moléculaires peuvent être utilisées *in vivo*, en exploitant le mécanisme de transfert d'énergie par résonance de fluorescence (FRET) une balise de donneur et une balise de receveur et sont largement utilisées en microscopie de fluorescence confocale [25].

L'excitation à des longueurs d'onde multiples permet la détection de plusieurs molécules fluorescentes, et par conséquent de la co-localisation de multiples cibles résolues spectralement.

1.3.3.4.2 Innocuité et faible coût

La plupart des fluorochromes sont faciles à manipuler, et dans la majorité des cas, la simple utilisation de gants accorde une protection adéquate. En outre, les problèmes d'élimination sont minimes car les fluorochromes peuvent être décomposés par incinération.

Une grande variété de molécules fluorescentes est disponible dans le commerce. La longue durée de conservation et les faibles coûts de transport et d'élimination des fluorochromes rendent les techniques de fluorescence moins couteuses et plus sûres que les techniques nucléaires.

1.3.4 Vert d'indocyanine

Le vert d'indocyanine ou ICG (Indocyanine Green) est le fluorophore utilisé dans les travaux de fluorescence présentés dans cette thèse. Sa formule chimique est $C_{43}H_{47}N_2O_6S_2Na$ (Fig 1.12). Sa structure moléculaire lui confère des propriétés amphiphiles c'est à dire à la fois hydrophile et hydrophobe. Sa solubilité dans l'eau est due à l'existence de deux groupements sulfates. Son caractère amphiphile explique sa forte affinité pour les protéines plasmatiques et son mode d'élimination hépatobiliaire.

Le vert d'indocyanine a des propriétés d'absorption remarquables dans le proche infrarouge, avec un maximum d'émission de fluorescence à environ 800 nm. Ces caractéristiques spectrales et son rendement de fluorescence élevé de 2,7 % en solution saline [26] font de l'ICG un des fluorophores les plus utilisés dans les méthodes de fluorescence *in vivo*. Il dispose d'une autorisation de mise sur le marché et est utilisé en clinique, sous diverses dénominations (Cardiogreen, Infracyanin …) pour l'angiographie oculaire [27], la mesure du débit cardiaque ou de la clairance hépatique [28]. De nombreuses autres applications de l'ICG, actuellement au stade de la recherche préclinique, devraient déboucher dans les prochaines années, selon les délivrances d'autorisations d'utilisation clinique, en particulier en cancérologie pour la détection de tumeurs primaires, de métastases ou de ganglions sentinelles [29,30].

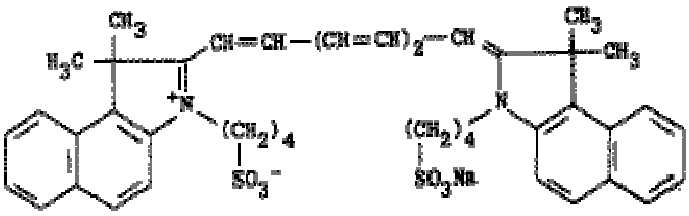


Figure 1.12 : Molécule de vert d'indocyanine [6].

Plusieurs précautions sont à prendre en compte lors de l'utilisation de l'ICG pour des mesures *in vivo*. L'ICG, comme de très nombreux colorants planaires, a tendance à former des dimères ou des structures en feuillets. Ceci se traduit par des modifications spectrales importantes, en particulier lorsqu'il est en solution aqueuse (Fig. 1.13a). La forme monomère présente un maximum d'absorption vers 785 nm. Les formes dimères ou agrégées ont un maximum vers 695 nm. L'ICG a tendance à se dégrader quand il est exposé à la lumière, bien que celle-ci semble atténuée lorsque l'ICG est lié à l'albumine. Cette photodégradation est aussi dépendante de la concentration [31]. Lorsque l'ICG est ajouté au plasma sanguin, il se lie rapidement aux protéines dans le sérum, ce qui modifie son spectre d'absorption, avec un déplacement du maximum d'absorption au-delà de 800 nm (Fig. 1.13b).

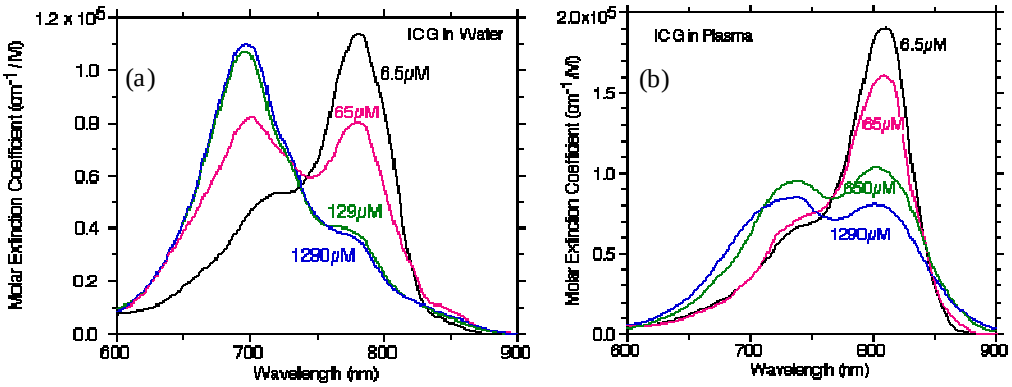


Figure 1.13 : Spectres d'absorption de l'ICG à différentes concentrations, a) dans l'eau, b) dans le plasma [31].

1.4 Imagerie optique en médecine

1.4.1 Historique

La lumière a longtemps été utilisée comme un outil de diagnostique médical. Bright, en 1831, a remarqué que le crâne d'un patient souffrant d'hydrocéphalie semblait semi-transparent si une source lumineuse était située derrière sa tête. Curling, en 1843, a décrit en détail l'utilisation de la trans-illumination pour la détection du cancer du scrotum. L'examen consistait à observer les ombres créées par les tumeurs lorsqu'une lampe est placée derrière les testicules. Plus tard, en 1929, Cutler fut le premier à obtenir des résultats d'imagerie optique du sein par trans-illumination [32]. Il observa qu'une tumeur solide apparaissait opaque mais il n'était pas en mesure de distinguer les tumeurs malignes des bénignes à cause du flou résultant de la forte diffusion de la lumière dans les tissus biologiques. En 1972, Gros, de l'Université Louis Pasteur à Strasbourg, est parvenu à améliorer la méthode de Cutler et à distinguer entre tumeurs malignes et bénignes [33]. En utilisant une source lumineuse à haute intensité, il avait une quantité de lumière transmise suffisamment élevée pour être enregistrée par un appareil photographique sur un film couleur. Cette méthode, aussi appelée «diaphanographie» a été jugée utile pour la détection de kystes remplis de liquides mais pas suffisante

pour avoir un contraste exploitable dans certaines parties de la poitrine [34]. Les premiers essais en imagerie mammaire ont été effectués par éclairage du sein par une source de lumière PIR continue en intensité. Les images obtenues ont été jugées de qualité insuffisante pour le diagnostic médical à cause de leur faible résolution spatiale [35].

Cette faible résolution spatiale est due au fait que la formation de l'image ne prenait pas en compte la multidiffusion des photons à l'intérieur des tissus biologiques alors qu'il s'agit du phénomène prédominant, comme démontré dans les paragraphes précédents.

Le potentiel d'utilisation de l'imagerie optique comme nouvel outil diagnostic a cependant suscité un intérêt, qui devait s'avérer suffisant pour déboucher sur des projets de recherche complémentaires, allant des bases physiques à l'expérimentation clinique en passant par l'innovation technologique et l'expérimentation préclinique. De très nombreux travaux en imagerie optique du vivant ont été publiés durant les deux dernières décennies. Plusieurs ouvrages de compilation permettent d'en extraire les informations essentielles [36,37]. Des revues des nouvelles techniques de tomographie optique ont également été publiées par Hebden *et al*, Arridge *et al*, Gibson *et al* et Dehghani *et al* [38-42].

L'imagerie optique est en passe de devenir une nouvelle technique d'imagerie clinique dans plusieurs domaines d'application. Nous citerons notamment la mammographie optique [11,43-61], l'étude de l'activation cérébrale [62-69]. Récemment, elle est devenue un outil indispensable dans les études précliniques notamment l'imagerie du petit animal qui sera l'objet de cette thèse [70-81].

Bien que limitée aux premiers centimètres autour du ou des points d'injection de la lumière, la technique offre de nombreux avantages par rapport aux méthodes d'imagerie classiques [41,42]. Parmi ces avantages, nous citerons l'utilisation de radiations non ionisantes, le faible coût potentiel de l'instrumentation optique et l'origine des contrastes qui permettent de considérer l'imagerie optique comme une nouvelle technique d'imagerie fonctionnelle et moléculaire.

En imagerie fonctionnelle, la TOD à différentes longueurs d'onde spécifiques peut être utilisée pour déterminer les concentrations de molécules endogènes, en particulier les diverses formes d'hémoglobine, ou d'agents de contraste. Elle peut ainsi fournir des images, ou en temps réel des informations, sur l'état fonctionnel des tissus ou des organes explorés (volume et débit sanguin, oxygénation et consommation d'oxygène, glycémie …).

L'imagerie de fluorescence, et sa variante 3D qu'est la TMF, est une méthode d'imagerie moléculaire, dans le sens où elle permet de visualiser *in vivo* le fonctionnement cellulaire et les processus moléculaires intra ou intercellulaires. Elle repose sur l'utilisation de sondes fluorescentes ou de balises moléculaires, visant un organe, un type de cellule, ou une molécule particulière, combinée à une technique tomographique de localisation 3D.

Cependant, l'imagerie optique a pris un retard important par rapport aux modalités d'imagerie conventionnelles. Les travaux en TOD ont été initiés dans les années 1980, comme pour l'IRM. Les applications cliniques de l'IRM sont aujourd'hui sans commune mesure avec celles de la TOD. Deux raisons principales peuvent expliquer ce décalage : le manque de développement de technologie dédiée et les difficultés de reconstruction des images.

Les principaux constructeurs de l'imagerie médicale (Siemens, GE, Philips) ont construit des prototypes pour la mammographie optique, mais n'ont pas investi des efforts de recherche/développement comparables à ceux réalisés dans les autres modalités d'imagerie. Cependant, l'arrivée de nouvelles sources lumineuses (lasers ultra-rapides) et de capteurs plus performants (CCD sensibles dans le PIR, photodiodes à avalanche) a conduit en la réalisation de nombreux prototypes d'imagerie TOD ou FMT, cliniques ou précliniques, par des laboratoires de recherche ou par des industriels de dimension plus modeste.

Concernant la reconstruction des images à partir des données expérimentales, de très nombreux travaux ont permis des avancées majeures. D'une part, l'augmentation de la puissance de calcul et des capacités de mémoire des ordinateurs ont permis une modélisation très précise de la propagation de la lumière dans les tissus diffusants. D'autre part, des méthodes d'inversion spécifique aux données optiques permettent une reconstruction plus précise des images optiques.

Cependant, la résolution spatiale (4 à 7 mm selon [82]), des images optiques reste faible et l'étude des tissus profonds (distance supérieure à 5 cm) présente encore un défi majeur.

1.4.2 Photons balistiques et multidiffusés

Les premiers systèmes d'imagerie optique proposés et rapportés dans le paragraphe précédent considéraient que les photons détectés étaient des photons balistiques ou serpentiles (peu diffusés) (Fig. 1.14). Ainsi, l'absorption du faisceau n'était due qu'aux tissus situés selon la trajectoire rectiligne entre la source et le détecteur et les méthodes de reconstruction d'image optique étaient celles de la tomographie de rayons X.

Devant le peu de succès de ces premiers systèmes, dû au grand nombre de photons diffusés fournissant au détecteur des informations sur un volume exploré beaucoup plus vaste que le rayon source-détecteur, la seconde approche a consisté à ne détecter que les premiers photons, donc les balistiques, par l'utilisation de détecteurs munis d'une porte temporelle ultracourte [83,84].

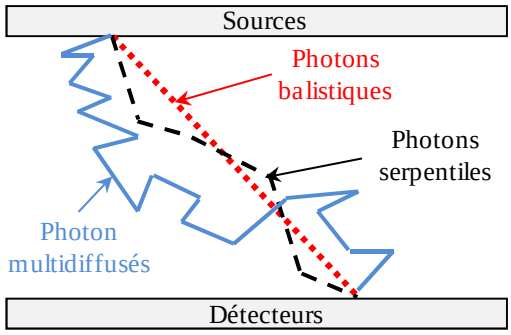


Figure 1.14 : Schéma des différents types de photons traversant un tissu biologique.

Malheureusement la forte diffusion présente dans les tissus biologiques élimine totalement ces photons balistiques après un trajet très court, de l'ordre de quelques millimètres. Elle limite la possibilité d'utilisation de ce type de technique à des échantillons de faible épaisseur ou peu diffusants [85]. Aujourd'hui, il paraît évident que l'étude d'un tissu de plusieurs millimètres nécessite la prise en compte de tous les photons détectés qui sont des photons multi-diffusés.

Afin d'augmenter les informations mesurées pour améliorer le processus de reconstruction d'image, les photons détectés peuvent être séparés selon leurs temps de vol ou temps de propagation dans le tissu [86]. Deux méthodes peuvent être envisagées :

- la première est basée sur des techniques de modulation de l'intensité lumineuse à haute fréquence,
- la seconde est basée sur l'utilisation d'impulsions lumineuses ultra brèves et la détection des photons résolue en fonction de leurs temps de vol.

Cette dernière méthode est appelée méthode résolue en temps. Elle constitue la méthode retenue pour nos travaux et fera donc l'objet d'une analyse détaillée dans la suite de ce manuscrit.

1.4.3 Méthodologies d'acquisitions

L'atténuation de la lumière PIR dans les tissus est due aux phénomènes d'absorption et de diffusion, comme décrit précédemment. L'atténuation de la lumière dépend des coefficients d'absorption et de diffusion, de la fonction de phase ou du coefficient d'anisotropie, de la géométrie du sujet d'étude, de la disposition des paires source - détecteur ainsi que de leur couplage avec la surface du sujet. Une reconstruction d'image, et à fortiori sa quantification, ne sera possible que si nous disposons d'une information suffisante. Une revue sur la quantification en imagerie optique a été effectuée par Delpy [87].

La conception de nouveaux dispositifs pour l'imagerie par tomographie optique doit prendre en compte tous les paramètres intervenant dans la modification de l'atténuation des tissus à imager

rappelés ci dessus. Selon le type d'excitation et de signal mesuré, ces dispositifs expérimentaux sont généralement classés en trois catégories, rappelées dans le tableau 1.4 et illustrées en Fig. 1.15.

Catégorie	**Lumière source** $\Phi_s(\vec{r}',t')$	**Lumière détectée** $\Phi_m(\vec{r},t;\vec{r}',t')$
Domaine Temporel DT	Impulsion : $\delta(\vec{r}')\delta(t')$	Résolue en temps : $\Phi_m(\vec{r},t;\vec{r}',t')$
Domaine Fréquentiel DF	Modulée en amplitude : $\delta(\vec{r}')\left[D_s + A_s\cos(\omega t' + \varphi_s)\right]$	Modulée en amplitude : $D_m(\vec{r};\vec{r}') + \left[A_m(\vec{r};\vec{r}')\cos(\omega t + \varphi_m(\vec{r};\vec{r}'))\right]$
Continu en Intensité (Continuous Wave) CW	Intensité continue : $D_s\delta(\vec{r}')$	Intensité continue : $D_m(\vec{r};\vec{r}')$
Paramètres	Φ : flux lumineux, D et A : amplitude, ω : pulsation, φ : phase, $\vec{r}'$ position d'émission, t' temps d'émission, $\vec{r}$ position de détection, t temps de détection, Les indices s et m représentent la source et la mesure, respectivement.	

Tableau 1.4 : Modes de mesure en tomographie optique.

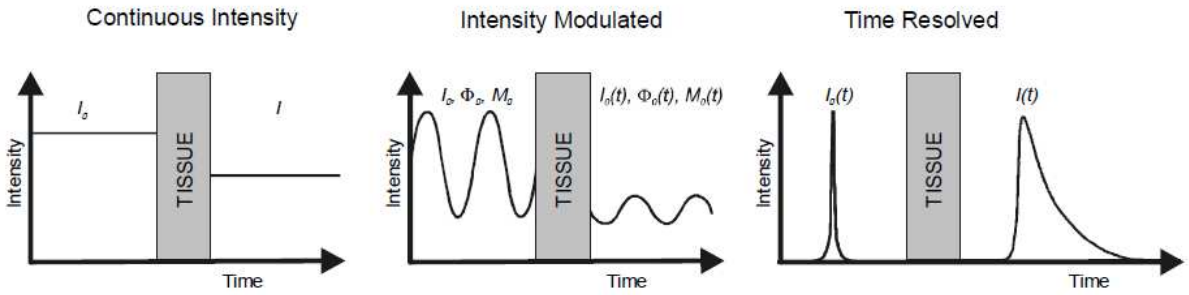


Figure 1.15 : Schéma illustrant les méthodes de tomographie optique diffuse [88].

Dans les trois méthodes décrites ci-dessus, le signal mesuré a la même nature que le signal d'entrée (système linéaire et temporellement invariant). Parmi ces trois méthodes, le domaine temporel, DT, est le plus riche en informations, profil temporel de détection, mais présente le coût d'instrumentation le plus élevé. Le domaine fréquentiel, DF, recueille moins d'informations, amplitude et phase, que le DT (pour une seule fréquence de modulation, avec une bande passante limitée, typiquement inférieure au GHz). Cependant, l'instrumentation du DF est plus stable et moins chère que celle du DT. Le mode continu en intensité, CW, ne contient aucune information sur le temps de vol des photons. La seule mesure d'une variation d'intensité ne peut en aucun cas séparer l'absorption de la diffusion dans un objet hétérogène. Elle reste la moins chère des trois catégories et peut facilement utiliser un détecteur multipixels pour réduire le temps d'acquisition.

Le DT et le DF sont mathématiquement reliés via la transformation de Fourrier. En effet, en effectuant des mesures sur une large bande spectrale, les signaux du DF peuvent être convertis au DT par une simple transformation de Fourrier inverse. Le CW quant à lui est simplement un cas spécial du DF (fréquence nulle).

Nous considérerons en détail ces trois modes dans les paragraphes suivants.

*1.4.3.1 **Dispositifs continus***

Ces dispositifs constituent encore aujourd'hui la majorité des appareils de spectroscopie proche infra-rouge, SPIR. Leur principe de fonctionnement est simple et repose sur la mesure de l'intensité de

la lumière diffusée à l'aide d'un détecteur optique. L'échantillon analysé est éclairé par une source de lumière blanche filtrée ou par plusieurs sources monochromatiques, LED ou diodes laser [89]. En plus de la variation d'atténuation produite par une modification de l'absorption optique, des informations supplémentaires sont nécessaires afin d'obtenir des données quantitatives. Trois méthodes peuvent être distinguées :

Source et détecteur uniques : le calcul des variations « quantitatives » de concentrations des chromophores est effectué par résolution de la loi de Beer-Lambert, pour une longueur moyenne du chemin optique égale au produit de la distance source-détecteur par un coefficient appelé « Differential Pathlength Factor » (DPF) [90-93]. Les calculs des changements de concentrations de N chromophores requièrent d'effectuer au minimum N mesures à différentes longueurs d'onde [94,95]. Une méthode d'ajustement des dérivées secondes (/λ) des données avec les dérivées secondes des spectres des constituants recherchés permet de déterminer le PDF et ouvre la voie à une détermination quantitative absolue des concentrations d'hémoglobine [96,97]. Cette méthode requiert une source continue en longueur d'onde et n'est pas utilisée dans les appareils commerciaux de SPIR. Différents algorithmes de traitement des données ont été publiés et comparés [98].

Source unique, détecteurs multiples : cette technique permet de limiter les effets des variations physiologiques des couches superficielles (peau) en considérant un même couplage des différents détecteurs et d'attribuer les différences de réponses aux zones profondes (cortex, muscle) étudiées. Cette méthode, utilisant en particulier une source et deux détecteurs est largement utilisée dans les appareils commerciaux de spectroscopie SPIR [99-103].

Sources et détecteurs multiples: pour améliorer la résolution spatiale, en particulier latérale, plusieurs systèmes de recherche, mais aussi commerciaux, utilisent de nombreux couples source – détecteur. L'interpolation des données conduit à la génération de cartes de topographie optique. Ces méthodes sont principalement utilisées pour des études sur le fonctionnement cérébral et requièrent un temps de pose des fibres optiques (optodes) sur la boîte crânienne et ne fournissent pas d'information en profondeur [103,104].

1.4.3.2 Dispositifs modulés

La source utilisée dans ces équipements est modulée en intensité à une fréquence de plusieurs centaines de MHz. Les mesures du signal lumineux diffusé contiennent deux informations : l'amplitude de modulation et la phase du signal détecté [105-107]. Plusieurs modes de mesure sont utilisés :

Distance source-détecteur fixe : la phase étant proportionnelle à la longueur moyenne du chemin optique, elle conduit en une mesure du DPF et permet la quantification des concentrations des chromophores. Un modèle simple de propagation de la lumière, basée sur l'équation de diffusion, est généralement utilisé [90,108]. Il a été démontré que les mesures de l'intensité, de la phase et de la modulation sont plus difficiles que les mesures de leurs variations [109].

Couples source – détecteur multiples : cette méthode combine les avantages de la quantification (FD) et de la topographie. Elle est utilisée dans au moins un appareil commercial et différents groupes de recherche [110-112].

Une autre méthode consiste à éclairer le tissu par une série d'impulsions pseudo aléatoire, soit une modulation sur un large spectre de fréquences et à analyser le signal recueilli soit dans l'espace des fréquences, soit dans l'espace temporel par analyse de Fourier ou par corrélation avec le signal de modulation [113]. Bien que séduisante, cette méthode n'a pas été exploitée depuis.

1.4.3.3 Dispositifs résolus en temps

En pratique, ils utilisent une source d'excitation pulsée et enregistrent la réponse temporelle, appelée TPSF pour Temporal Point Spread Function, d'un tissu à cette impulsion de lumière ultra-courte [114-128]. Ces méthodes nécessitent généralement la mesure de la réponse impulsionnelle du système utilisé, qui ne correspond pas à une distribution de Dirac.

Ces techniques résolues en temps présentent l'avantage majeur de discriminer les photons empruntant des chemins optiques de longueurs différentes dans le milieu analysé. En se basant sur un modèle physique adéquat de propagation des photons dans le milieu diffusant, les inhomogénéités spatiales en absorption et en diffusion du milieu peuvent être résolues avec une meilleure précision que par les méthodes CW et DF. Un autre avantage d'importance pratique est qu'une quantité d'information est enregistrée pour un couple source - détecteur donné, et que des méthodes topographiques résolues en temps nécessitent un plus petit nombre de couples source - détecteur. De plus la mesure de l'intensité peut être éliminée, et des caractéristiques purement temporelles, telles que le temps d'arrivée moyen des photons, peuvent être utilisées [129]. Cette approche permet de s'affranchir des calibrations et d'améliorer la stabilité des algorithmes de reconstruction d'image [130].

1.4.4 Emergence de la tomographie optique résolue en temps

L'utilisation d'impulsions laser ultra-courtes pour le diagnostic biomédical a d'abord été proposée en 1971 par Duguay et Mattick qui ont réalisé l'image d'un objet recouvert d'un morceau de papier en utilisant un laser picoseconde [131]. La publication de Jöbsis [132] jetant les bases de la SPIR moderne, a été suivie de plusieurs investigations utilisant des techniques résolues en temps [133].

Mais le réel envol de ces techniques dans l'imagerie des milieux diffusants remonte à la fin des années 1980. En 1988, une comparaison directe entre les techniques résolues en temps et les techniques CW de l'oxygénation d'hémoglobine dans les tissus, a été effectuée pour la première fois par Chance *et al* [134]. Un an après, Delpy *et al* ont mené des études plus poussées sur les réponses résolues en temps des tissus et des organes [135].

Comme nous l'avons signalé précédemment, les premières méthodes d'imagerie résolue en temps plus simples exploitaient les photons balistiques. Dans ce cas, la diffusion peut être négligée, et les équations de Beer Lambert sont applicables [129]. Jarry *et al* ont été les premiers à utiliser ces photons balistiques afin de réaliser une imagerie par projection. L'imagerie des structures internes des organes n'a pas été obtenue par un filtrage temporel des photons, mais par une collimation du détecteur [136]. Reprenant ces travaux, Hebden *et al* ont montré que la résolution spatiale des images pouvait être améliorée en s'affranchissant des photons multi-diffusés par sélection des photons balistiques, à l'aide d'une caméra à balayage de fente [137-139]. Durant les années 90, de nombreux travaux sont venus renforcer le potentiel des techniques résolues en temps comme listé dans les revues de Hebden et *al*, Chance et *al* et Arridge et *al* [38,116-128,140,141] .Une méthode prédisant une résolution comparable à celle obtenue par tomographie de rayons X (1.5mm) a été proposée par Gandjbakhche *et al* [142].

Mais le décalage du développement des applications médicales entre les méthodes CW en SPIR et les méthodes TD s'explique en partie par le besoin de modélisation de la propagation des photons dans les milieux diffusants, nécessaire à l'exploitation des données résolues en temps [143-147]. Les formulations théoriques de cette propagation sont basées sur la théorie temporelle du transport radiatif. Les premiers traitements systématiques de transfert d'énergie radiative en fonction du temps, en milieu trouble, ont été réalisés par Sobolev [148] et Wing [149]. Ce sont les travaux de Arridge et de ses collaborateurs à University College of London (UCL), tout comme Delpy et Hebden, qui ont permis l'essor des techniques résolues en temps, de la spectroscopie SPIR, à la TOD, puis la FMT [150].

Les méthodes d'imagerie résolues en temps peuvent être classées en deux catégories, selon la méthode de séparation des photons en fonction de leur temps de vol :

1.4.4.1 Fenêtrage de la TPSF

L'utilisation d'impulsions ultra-rapides pour l'excitation (femto ou picoseconde) [151], est requise dans les méthodes résolues en temps. A la détection, la sélection des photons balistiques par un fenêtrage, telle que suggérée par Hebden [139], a rapidement montré ses limites d'application. En effet, au-delà de quelques millimètres de tissu, le nombre de photons balistiques détectés devient très faible, et les mesures balistiques limitées par un rapport signal à bruit insuffisant. Pour surmonter ce problème, Hebden *et al* ont introduit une méthode connue sous le nom *d'interpolation temporelle.* Le profil des premiers photons diffusés, dits serpentiles, y est ajusté par un modèle analytique [152,153].

Cette étude a montré que l'utilisation d'une fenêtre de 200 ps peut sensiblement améliorer la résolution spatiale des images, comparée aux méthodes de transillumination classiques. Un changement de la largeur de la fenêtre temporelle a ensuite été proposé [154], et progressivement différentes méthodes utilisant un fenêtrage temporel ont été proposées. Ces méthodes connaissent un succès grandissant depuis quelques années ; essentiellement lié à l'apparition sur le marché d'intensificateur d'images à porte temporelle picoseconde (200 ps) avec un décalage possible par rapport à l'impulsion lumineuse. Nous citerons des applications de ces méthodes en SPIR [155, 156], en TOD [157, 158] et en TODF [159].

1.4.4.2 Enregistrement de toute la TPSF

Les méthodes TD les plus utilisées actuellement sont basées sur l'enregistrement de toute la TPSF et son ajustement à un modèle de propagation, typiquement l'équation de diffusion. De cette manière, tous les photons diffusés sont pris en compte, et le rapport signal à bruit est ainsi amélioré.

Pour mesurer le profil d'intensité lumineuse en sortie du sujet examiné, plusieurs types de détection sont disponibles. Les plus utilisés ont tout d'abord été les caméras à balayage de fente [160-163]. Ils sont aujourd'hui essentiellement composés d'un détecteur associé à une carte de comptage de photons corrélés dans le temps (TCSPC pour Time-Correlated Single Photon Counting) [164-169]. Les détecteurs utilisés sont soit des tubes photomultiplicateurs à galettes de microcanaux (MCP-PMT), soit des photodiodes à avalanche [170]. Ils possèdent une excellente linéarité mais ont une résolution temporelle de quelques dizaines de picosecondes. La constitution et le fonctionnement de ce type de capteur seront détaillés dans le chapitre 3 relatif à l'instrumentation utilisée dans ce travail.

Plusieurs modes de traitement des profils temporels mesurés, pour en déduire les paramètres recherchés, sont possibles, selon le type d'application envisagée, SPIR ou TOD notamment :

1. *Optimisation avec un modèle de transport :* la détermination des paramètres recherchés : coefficients d'absorption et de diffusion réduite, concentration de fluorochrome … se fait par ajustement de la TPSF mesurée avec un modèle de transport des photons dans les tissus. Une revue très complète a été faite par Arridge [142]. Cette méthode peut être appliquée pour l'imagerie, TOD ou MFT, ou pour la SPIR. L'optimisation peut utiliser la totalité des profils temporels, certains points choisis judicieusement, ou des caractéristiques de ces profils tels que ses premiers moments [171,172]. Le modèle de transport peut être résolu par méthodes des éléments finis, ou une solution analytique proposée dans diverses géométries simples [173]. Ces méthodes seront décrites en détail dans le chapitre 4, consacré aux méthodes de reconstruction d'images TOD.
   Une simplification extrême de ces méthodes a été proposée par Chance *et al*. Ces auteurs ont observé la linéarité de la décroissance de la TPSF, selon une échelle logarithmique. Une relation simple est utilisée entre la limite de la pente mesurée et le coefficient d'absorption μ_a [134]. Cette approche s'appuie sur la résolution analytique de l'équation de diffusion dans le cas d'un milieu homogène semi-infini [108].
2. *Méthode de Beer-Lambert microscopique :* cette méthode consiste à calculer le rapport entre les profils temporels mesurés à différentes temps, dits macroscopiques. Les rapports portent des informations sur les profils d'atténuation en fonction du temps de vol, dit microscopique, qui peut être associé à la distance parcourue par les photons. Ainsi, le calcul des variations de concentration d'un chromophore est possible, en fonction des temps micro- et macroscopiques. Les mesures à plusieurs longueurs d'onde débouchent sur les mesures des variations de concentration, dans le temps de l'expérience, et selon un profil de profondeur. Cette méthode est connue sous le nom de méthode de Beer-Lambert microscopique. Elle est notamment utilisée en SPIR des activations cérébrales [174 - 176].

Si ces méthodes d'enregistrement de la totalité ou d'une partie de la TPSF sont souvent utilisées séparément, il est tout à fait possible d'utiliser l'information issue des photons balistiques pour améliorer la résolution spatiale des images obtenues utilisant la totalité de la TPSF [114,177,178].

1.5 Références

[1] http://www.csim.cnrs.fr/Introduction.html

[2] Ntziachristos V., Ripoll J., Wang L., Weissleder R., *"Looking and listening to light: the revolution of photonic imaging"*, Nat. Biotechnol., **23**, 313-320, (2005).

[3] Kwan A., Dudley J. M., Lantz E.,*"Who really discovered Snell's law?"*, Physics World, **15** , 64-84, (2002).

[4] Piket-May M., Taflove A.,*"Electrodynamics of Visible-Light Interactions with the Vertebrate Retinal Rod"*, Opt. Lett., **18**, 568-570, (1993).

[5] Bolin F. P., Preuss L. E., Taylor C., Ference R. J.,*"Refractive index of some mammalian tissues using a fiber optic cladding method"*, Appl. Opt., **28**, 2297-2303, (1989).

[6] Jacques S. L., Prahl S. A., *"Optical properties spectra"*, Oregon Medical Laser Center, disponible sur internet http://omlc.ogi.edu/.

[7] Tagirov R. B., Tagirov L. P.,*"Lambert formula-Bouguer absorption law?"*, Russian Physics Journal, **40**, 664-669, (1997).

[8] Parrish J. A., *"New Concepts in Therapeutic Photomedicine; Photochemistry, Optical Targeting and the Therapeutic window"*, J. Investig. Med., **77**, 45-50, (1981).

[9] Thomas John Brukilacchio T. J., *"A diffuse optical tomography system combined with X-ray mammography for improved breast cancer detection"*, Université Tufts, (2003).

[10] Woodard H. Q., White D. R., *"The composition of body tissues"*, Br. J. Radiol, **59**, 1209-1218, (1986).

[11] Taroni P., Torricelli A., Spinelli L., Pifferi A., Arpaia F., Danesini G., Cubeddu R., *"Time-resolved optical mammography between 637 and 985 nm: clinical study on the detection and identification of breast lesions"*, Phys. Med. Biol., **50**, 2469-2488, (2005).

[12] Van Veen R. L. P., Sterenborg H. J. C. M., Pifferi A., Torricelli A., Cubeddu R., *"Determination of VIS- NIR absorption coefficients of mammalian fat, with time- and spatially resolved diffuse reflectance and transmission spectroscopy*", dans OSA Biomedical Optics Topical Meetings on CD-ROM (The Optical Society of America, Washington, DC), **SF4**, (2004).

[13] Strutt J. W. (Lord Rayleigh), *"On the light from the sky, its polarisation and colour. I"*, Philos. Mag., **41**, 107-120, (1871).

[14] Mie G.,"Considerations *on the optics of turbid media, especially colloidal metal sols"* Ann.Physik, **25**, 377-442, (1908).

[15] Kerker M., Cooke D., Chew H., McNulty P.,"Light scattering by structured spheres", J. Opt. Soc. Am. A., 68, 592-601, (1978).

[16] Purcell E., Pennypacker C., *"Scattering and absorption of light by nonspherical dielectric grains"*, Astrophys. J., **186,** 705-714, (1973).

[17] Bevilacqua F., Piguet D., Marquet P., Gross J. D., Tromberg B. J., Depeursinge C.,*"In Vivo Local Determination of Tissue Optical Properties: Applications to Human Brain"*, Appl. Opt., **38,** 4939-4950, (1999).

[18] Henyey L. G., Greenstein J. L., *"Diffuse radiation in the galaxy"*, Astrophys. J., **93**, 70-83, (1941).

[19] Dupouy C., Jouanin J. C., Tinet E., Avrillier S., Revel F., Ollivier J. P., Guezennec C. Y., *"Etude de l'oxygénation musculaire par spectroscopie infrarouge de l'hémoglobine : Application à l'étude de la zone transitionnelle aérobie-anaérobie"*, Opt. Diag, (2002).

[20] Tuchin V., *"Tissue optics: light scattering methods and instruments for medical diagnosis"*, 2ème edition, chap 1, SPIE, (2007).

[21] General Electric, *"Fluorescence Imaging principles and methods"*, handbook, 63-0035-28, Rev.B, (2002-10).

[22] Haugland R. P., *"Introduction to Fluorescence Techniques"*, in Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR, 1-4, (1996).

[23] Cantor C. R., Schimmel P. R., *"Biophysical Chemistry "*, Part 2, Freeman W. H., 433-465, (1980).

[24] Lakowicz J. R., *"Principles of Fluorescence Spectroscopy"*, 2nd ed., Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, (1999).

[25] Weissleder R., *"Scaling down imaging: molecular mapping of cancer in mice"*, Nature Reviews, **2**, 1-8, (2002).

[26] Russin T. J., Altınoglu E. I., Adair J. H., Eklund P. C., *"Measuring the fluorescent quantum efficiency of indocyanine green encapsulated in nanocomposite particulates"* , J. Phys.: Condens. Matter, **22**, 334217, (2010).

[27] Herbort C. P., Bodaghi B., LeHoang P., *"Angiographie au vert d'indocyanine au cours des maladies oculaires inflammatoires: principes, interprétation schématique, sémiologie et intérêt clinique "*, J. Fr. Ophtalmol., **24**, 423-447, (2001).

[28] Barbare J. C., *" Quantification de la fonction hépatique : pourquoi et comment ? "*, Hépato-Gastro., **5**, 423-431, (1998).

[29] Ishizawa T., Harada N., Muraoka A., Aoki T., Beck Y., Hasegawa K., Ijichi M., Kusaka K., Shibasaki M., Bandai Y., Kokudo N., *"Scientific Basis and Clinical Application of ICG Fluorescence Imaging: Hepatobiliary Cancer"*, The Open Surgical Oncology Journal, **2**, 31-36, (2010).

[30] Hutteman M., Mieog J. S. D., Van der Vorst J. R., Liefers G. J., Putter H., Lowik, J.V. Frangioni C. W. G. M., Van de Velde C. J. H., Vahrmeijer A. L., *"Randomized, double-blind comparison of indocyanine green with or without albumin premixing for near-infrared fluorescence imaging of sentinel lymph nodes in breast cancer patients"*, Breast Cancer Res Treat, **127,** 163-170, (2011).

[31] Landsman M. L. J., Kwant G., Mook G. A., Zijlstra W. G., *"Light- absorbing properties, stability, and spectral stabilization of indocyanine green"*, *J. Appl. Physiol.*, **40**, 575-583, (1976).

[32] Cutler M., *"Transillumination as an Aid in the Diagnosis of Breast Lesions"*, Surg. Gynecol. Obster., **48**, 721-729, (1929).

[33] Profio A. E., Navarro G. A., Sartorious O. W., *"Scientific basis of breast diaphanography"*, Med. Phys., **16**, 60-65, (1989).

[34] Colin H. J., *"Methods of breast imaging"*, Phys. Med. Biol., **27**, 463-499, (1982).

[35] Monsees B., Destouet J. M., Gresell D., *"Light Scan evaluation of non palpable breast lesions"*, Radiology, **163**, 467-70, (1987).

[36] Dillon J., Atherton S. J., *"Time resolved spectroscopic studies on the intact human lens"*, Photochem. Photobiol, **51**, 465-468, (1990).

[37] Andersson-Engels S., Baert L., Berg R., D'Hallewin M. A., Johansson J., Stenram U., Svanberg K., Svanberg S., *"Fluorescence characteristics of atherosclerotic plaque and malignant tumors"*, Proc. SPIE, **1426**, 31-43, (1991).

[38] Hebden J. C., Arridge S. R., Delpy D. T., *"Optical imaging in medicine: I. Experimental techniques"*, Phys. Med. Biol., **42**, 825-840, (1997).

[39] Arridge S. R., Hebden J. C., *"Optical imaging in medicine: II. Modelling and reconstruction"*, Phys. Med. Biol., **42,** 841-853, (1997).

[40] Gibson A. P., Hebden J. C., Arridge S. R., *"Recent advances in diffuse optical imaging"*, Phys. Med. Biol., 50, R1-R43, (2005).

[41] Gibson A., Dehghani H., "Diffuse optical imaging*"*, Phil. Trans. R. Soc. A., **367**, 3055-3072, (2009).

[42] Dehghani H., Srinivasan S., Pogue B. W., Gibson A., *"Numerical modelling and image reconstruction in diffuse optical tomography"*, Phil. Trans. R. Soc., **367**, 1900 3073-3093, (2009).

[43] Leff D. R., Warren O., Enfield L. C., Gibson A. P., Athanasiou T., Pattern D. K., Hebden J. C., Yang G. Z., Darzi A., *"Diffuse optical imaging of the healthy and diseased breast: a systematic review"*, Breast Cancer Res. Treat., **108**, 9-22, (2007).

[44] Boverman G., Fang Q., Carp S. A., Miller E. L., Brooks D. H., Selb J., Moore R. H., Kopans D. B., Boas D. A., *"Spatio-temporal imaging of the hemoglobin in the compressed breast with diffuse optical tomography"*, Phys. Med. Biol., **52**, 3619-3641, (2007).

[45] Hebden J. C., Rinneberg H., *"Optical mammography: imaging and characterization of breast lesions by pulsed near-infrared laser light (OPTIMAMM)"*, Phys. Med. Biol., **50**, 2428, (2005).

[46] Grosenick D., Moesta K. T., Wabnitz H., Mucke J., Möller M., Stößel J., Wassermann B., Macdonald R., Schlag P., Rinneberg H., *"Time domain optical mammography on 150 patients: hemoglobin concentration and blood oxygen saturation of breast tumours"*, In OSA Biomedical Topical Meeting, Miami, paper ThB2. Washington, DC: Optical Society of America, (2004).

[47] Carp S. A., Selb J., Fang Q., Moore R., Kopans D., Rafferty E., Boas, D. A., *"Dynamic functional and mechanical response of breast tissue to compression"*, Opt. Exp., **16**, 16064-16078, (2008).

[48] Fang Q., Carp S. A., Selb J., Boverman G., Zhang Q., Kopans D.B., Moore R.H., Miller, E.L., Brooks, D.H., Boas, D.A., *"Combined optical imaging and mammography of the healthy breast: optical contrast derived from breast structure and compression"*, IEEE Trans. Med. Imaging, **28**, 30-42, (2009).

[49] Dehghani H., Pogue B. W., Poplack S. P., Paulsen, K. D., *"Multiwavelength threedimensional near-infrared tomography of the breast: initial simulation, phantom and clinical results"*, Appl. Opt., **42**, 135-145, (2003).

[50] Srinivasan S., Pogue B. W., Jiang S., Dehghani H., Kogel C., Soho S., Gibson JJ., Tosteson T. D., Poplack S. P., Paulsen K. D., *"In vivo hemoglobin and water concentrations, oxygen saturation, and scattering estimates from near-infrared breast tomography using spectral reconstruction"*, Acta Radiol., **13**, 195-202, (2006).

[51] Enfield L. C., Gibson A. P., Everdell N.L., Delpy D. T., Schweiger M., Arridge S. R., Richardson C., Keshtgar M., Douek M., Hebden J.C., *"Three-dimensional time-resolved optical mammography of the uncompressed breast"*, Appl. Opt., **46**, 3628-3638, (2007).

[52] Ntziachristos V., Yodh A. G., Schnall M., Chance B., *"Concurrent MRI and diffuse optical tomography of breast after indocyanine green enhancement"*, Proc. Natl Acad. Sci. USA, **97**, 2767-2772, (2000).

[53] Zhang Q., Brukilacchio T. J., Li A., Stott J.J., Chaves T., Hillman E., Wu T., Chorlton M., Rafferty E., Moore R. H., Kopans D. B., Boas D. A., *"Co-registered tomographic X-ray and optical breast imaging: initial results"*, J. Biomed. Opt., **10**, 024033, (2005).

[54] Carpenter C. M., Pogue B. W., Jiang S., Dehghani H., Wang X., Paulsen K. D., Wells W. A., Forero J., Kogel C., Weaver J. B., Poplack S. P., Kaufman P. A., *"Image-guided optical spectroscopy provides molecular-specific information in vivo: MRI-guided spectroscopy of breast cancer hemoglobin, water, and scatterer size"*, Opt. Lett., **32**, 933-935, (2007).

[55] Choe R., Corlu A., Lee K., Durduran T., Konecky S. D., Grosicka-Koptyra M., Arridge SR., Czerniecki B. J., Fraker D. L., DeMichele A., Chance B., Rosen M. A., Yodh A. G., *"Diffuse optical*

tomography of breast cancer during neoadjuvant chemotherapy: a case study with comparison to MRI", Med. Phys., **32**, 1128-1139, (2005).

[56] Tromberg B. J., Cerussi A., Shah N., Compton M., Durkin A., Hsiang D., Butler J. Mehta R., *"Diffuse optics in breast cancer: detecting tumours in pre-menopausal women and monitoring neoadjuvant chemotherapy"*, Breast Cancer Res., **7**, 279-285, (2005).

[57] Tromberg B. J., Pogue B. W., Paulsen K. D., Yodh A. G., Boas D. A., Cerussi A. E., *"Assessing the future of diffuse optical imaging technologies for breast cancer management"*, Med. Phys., **35**, 2443-2451, (2008).

[58] Grosenick D., Moesta K. T., Möller M., Mucke J., Wabnitz H., Gebauer B., Stroszczynski C., Wassermann B., Schlag P. M., Rinneberg H., *"Time-domain scanning optical mammography: I. Recording and assessment of mammograms of 154 patients"*, Phys. Med. Biol., **50**, 2429-2449, (2005).

[59] Grosenick D., Wabnitz H., Moesta K. T., Mucke J., Schlag P. M., Rinneberg H., *"Time-domain scanning optical mammography: II. Optical properties and tissue parameters of 87 carcinomas"*, Phys. Med. Biol., **50**, 2451-2468, (2005).

[60] Soliman H., Gunasekara A., Rycroft M., Zubovits J., Dent R., Spayne J., Yaffe M. J., Czarnota G. J., *"Functional Imaging Using Diffuse Optical Spectroscopy of Neoadjuvant Chemotherapy Response in Women with Locally Advanced Breast Cancer"*, Clinical Cancer Research, **16**, 2605-2614, (2010).

[61] Tromberg B. J., Cerussi A. E., *"Imaging Breast Cancer Chemotherapy Response with Light"*, Clinical Cancer Research, **16**, 2486-2488, (2010).

[62] Corlu A., Choe R., Durduran T., Rosen M. A., Schweiger M., Arridge S. R., Schnall M. D., Yodh A. G., *"Three-dimensional in vivo fluorescence diffuse optical tomography of breast cancer in humans"*, Opt. Express, **15**, 6696-6716, (2007).

[63] Blasi A., Fox S., Everdell N., Volein A., Tucker L., Csibra G., Gibson A. P., Hebden J. C., Johnson M. H., Elwell C. E., *"Investigation of depth dependent changes in cerebral haemodynamics during face perception in infants"*, Phys. Med. Biol., **52**, 6849-6864, (2007).

[64] Everdell N., Gibson A. P., Tullis I. D. C., Vaithianathan T., Hebden J. C. Delpy D. T., *"A frequency multiplexed near-infrared topography system for imaging functional activity in the brain"*, Rev. Sci. Instrum., **76**, 093705, (2005).

[65] Siegel A. M., Culver J. P., Mandeville J. B., Boas, D. A., *"Temporal comparison of functional brain imaging with diffuse optical tomography and fMRI during rat forepaw stimulation"*, Phys. Med. Biol., **48**, 1391-1403, (2003).

[66] Strangman G., Culver J. P., Thompson J. H., Boas D. A., *"A quantitative comparison of simultaneous BOLD fMRI and NIRS recordings during functional brain activation"*, Neuroimage, **17**, 719-731, (2002).

[67] Huppert T. J., Hoge R. D., Diamond S., Franceschini M. A., Boas D. A., *"A temporal comparison of BOLD, ASL and NIRS hemodynamic responses to motor stimuli in adult humans"*, Neuroimage, **29**, 368-382, (2006).

[68] Gibson A. P., Austin T., Everdell N., Schweiger M., Arridge S. R., Meek J. H., Wyatt J. S., Delpy D. T., Hebden J. C., *"Three-dimensional whole-head optical tomography of passive motor evoked responses in the neonate"*, Neuroimage, **30**, 521-528, (2006).

[69] Austin T., Gibson A. P., Branco G., Yusof R. M., Arridge S. R., Meek J. H., Wyatt J. S., Delpy D. T., Hebden J. C., *"Three-dimensional optical imaging of blood volume and oxygenation in the neonatal brain"*, Neuroimage, **31**, 1426-1433, (2006).

[70] Weisslader R., Ntziachristos V., *"Shedding light onto live molecular targets"*, Nat. Med., **9**,123-128, (2003).

[71] Hillman E. M. C., *"Optical brain imaging in-vivo: techniques and applications from animal to man"*, J. Biomed. Opt., **12**, 051402, (2007).

[72] Culver J. P., Durduran T., Furuya D., Cheung C., Greenberg J. H., Yodh A. G., *"Diffuse optical tomography of cerebral blood flow, oxygenation and metabolism in rat during focal ischaemia"*, J. Cereb., Blood Flow Metab., **23**, 911-924, (2003).

[73] Nishimura G., Awasthi K., Locharoenrat K., Okawa S., Yamada Y., "*Time-domain fluorescence diffuse optical tomography for living animals by total-light algorithm*", Proc. SPIE 7896, 78962Q, (2011).

[74] Cherry S. R., *"In vivo molecular and genomic imaging: new challenges for imaging physics"*, Phys. Med. Biol., **49**, R13–R48, (2004).

[75] Weisslader R., Pittet M. J., *"Imaging in the era of molecular oncology"*, Nature, **452**, 580-589, (2008).

[76] Masciotti J., Abdoulaev G., Hur J., Papa J., Bae J., Huang J., Yamashiro D., Kandel J., Hielscher A. H., *"Combined optical tomographic and magnetic resonance imaging of tumor bearing mice"* Proc. SPIE, **5693**, 74-81, (2005).

[77] Chaudhari A. J., Darvas F., Bading J. R., Moats R. A., Conti P. S., Smith D. J., Cherry S. R., Leahy R. M., *"Hyperspectral and multispectral bioluminescence optical tomography for small animal imaging"*, Phys. Med. Biol., **50**, 5421-5441, (2005).

[78] Klose A. D., Ntziachristos V., Hielscher A. H., *"Experimental validation of a fluorescence tomography algorithm based on the equation of radiative transfer"*, In OSA Biomedical Topical Meeting, Miami, paper SA6. Washington, DC: Optical Society of America, (2004).

[79] Schulz R. B., Ripoll J., Ntziachristos V., *"Experimental fluorescence tomography of tissues with noncontact measurements"*, IEEE Trans. Med. Imaging, **23**, 492-500, (2004).

[80] Hielscher A. H., *"Optical tomographic imaging of small animals"*. Current Opinion in Biotechnology, **16**, 79-88, (2005).

[81] Wang X., Pang Y., Ku G., Xie X., Stoica G., Wang, L. V., *"Noninvasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional in vivo imaging of the brain"*, Nat. Biotechnol, **21**, 803-806, (2003).

[82] Yalavarthy P. K., Pogue B. W., Dehghani H., Carpenter C. M., Jiang S., Paulsen K. D., *"Structural information within regularization matrices improves near infrared diffuse optical tomography"*, Opt. Express, **15**, 8043-8058, (2007).

[83] Yoo K. M., Liu F., Alfano R. R., *"Imaging through a scattering wall using absorption"*, Opt. Lett., **16**, 1068 -1070, (1991).

[84] Benaron D. A., Stevenson D. K., *"Optical time of flight and absorbance imaging of biologic media"*, Science, **259**, 1463-1466, (1993).

[85] Wang L., Ho P. P., Liu C., Zhang G., Alfano R. R., *"Ballistic 2D imaging through scattering walls using an ultrafast Kerr- gate"*, Science , **253** , 769-771, (1991).

[86] Gopal V., Mujumdar S., Ramachandranand H., Sood A. K., *"Imaging in turbid media using quasi-ballistic photons"*, Optics Communications, **170**, 331-345, (1999).

[87] Delpy D. T., Cope M.,*"Quantification in tissue near infrared spectroscopy"*, Phil. Trans. R. Soc. Lond. B., **352**, 649-659, (1997).

[88] Florian E. W., *"Schmidt Development of a Time-Resolved Optical Tomography System for Neonatal Brain Imaging"*, Université de Londres, (1999).

[89] Jöbsis F. F., "Noninvasive, Infrared Monitoring of *Cerebral and Myocardal Oxygen Sufficiency and Circulatory Parameters"*, Science, **198**, 1265-1267, (1977).

[90] Arridge S. R., Cope M., Delpy D. T., *"The theoretical basis for the determination of optical pathlengths in tissue: temporal and frequency analysis"*, Phys. Med. Biol., **37**, 1531-1560, (1992).

[91] Cope M., "*The development of a near infraredspectroscopy system and its application for non invasive monitoring of cerebral blood and tissu oxygenation in the newborn infant"*, Université de Londres, (1991).

[92] Cope M., Delpy D. T., *"System for long-term measurement of cerebral blood and tissue oxygenation on newborn infants by near infra-red transillumination"*, Med. Biol. Eng. Comput., **26**, 289-94, (1988).

[93] Giannini I., Ferrari M., Carpi A., Fasella P.,"*Rat brain monitoring by near-infrared spectroscopy: an assessment of possible clinical significance"*, Physiol. Chem. Phys., **14**, 295-305, (1982).

[94] De Blasi R. A., Cope M., Elwell C., Safoue F., Ferrari M., *"Noninvasive measurement of human forearm oxygen consumption by near infrared spectroscopy"*, Eur. J. Appl. Physiol., **67**, 20-25, (1993).

[95] De Blasi R. A., Ferrari M., Natali A., Conti G., Mega A., Gasparetto A., **"***Noninvasive measurement of forearm blood flow and oxygen consumption by near-infrared spectroscopy"*, J. Appl. Physiol., **76**, 1388-1393, (1994).

[96] Cooper C. E., Elwell C. E., Meek J. H., Matcher S. J., Wyatt J. S., Cope M., Delpy D. T., *"The noninvasive measurement of absolute cerebral deoxyhemoglobin concentration and mean optical path length in the neonatal brain by second derivative near infrared spectroscopy"*, Pediatr. Res., **39**, 32-38, (1996).

[97] Cope M., Delpy D. T., Wray S., Wyatt J. S., Reynolds E. O.,*"A CCD spectrophotometer to quantitate the concentration of chromophores in living tissue utilising the absorption peak of water at 975 nm"*, Adv. Exp. Med. Biol., **248**, 33-40, (1989).

[98] Matcher S. J., Elwell C. E., Cooper C. E., Cope M., Delpy D. T.,*"Performance comparison of several published tissue near-infrared spectroscopy algorithms"*, Anal. Biochem., **227**, 54-68, (1995).

[99] Groenhuis R. A. J., Ten Bosh J. J., Ferwerda H. A., *"Scattering and absorption of turbid materials determined from reflection measurements. 2: Measuring method and calibration"*, Appl. Opt., **22,** 2463-2467, (1983).

[100] Farrell T. J., Patterson M. S., Wilson B., *"A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties in vivo"*, Med. Phys., **19**, 879-888, (1992).

[101] Matcher S. J., Kirkpatrick P., Nahid K., Cope M., Delpy D. T., *"Absolute quantification methods in tissue near-infrared spectroscopy"*, Proc. SPIE, **2389**, 486-495, (1995).

[102] Yamada T., Umeyama S., Matsuda K., *"Multidistance probe arrangement to eliminate artifacts in functional near-infrared spectroscopy"*, J. Biomed. Opt., **14**, 064034, (2009).

[103] Wolf M., Ferrari M., Quaresima V., *"Progress of near-infrared spectroscopy and topography for brain and muscle clinical applications"*, J. Biomed. Opt., **12**, 62104, (2007).

[104] Koizumi H., Yamamoto T., Maki A., Yamashita Y., Sato H., Kawaguchi H, Ichikawa N., *"Optical topography: practical problems and new applications"*, Appl. Opt., **42**, 3054-3062, (2003).

[105] Duncan A., Whitlock T. L., Cope M., Delpy D. T., *"Multiwavelength, wideband,* intensity-*modulated optical spectrometer for near-infrared spectroscospy and imaging"*, Proc. SPIE, **1888**, 248-257, (1993).

[106] Chance B., Cope M., Gratton E., Ramanujam N., Tromberg B., "Phase *measurement of light* absorption *and scatter* in *human tissue"*, Rev. Sci. Instrum., **69**, 3457-3481, (1998).

[107] Lakowicz J. R., Bernd K., *"Frequency-domain measurements of photon migration in tissues"*, Chem. Phys. Lett., **166**, 246-252, (1990).

[108] Patterson M. S., Chance B., Wilson B. C., *"Time resolved reflectance and transmittance for non-invasive measurement of tissue optical properties"*, Appl. Opt., **28**, 2331-2336, (1989).

[109] Kohl M., Watson R., Cope M., *"Determination of absorption coefficients in highly scattering media from changes in attenuation and phase"*, Opt. Lett., **18**, 1519-1521, (1996).

[110] Fantini S., Franceschini M. A., Maier J. S., Walker S. A., Barbieri B. B., Gratton E., *"Frequency-domain multichannel optical detector for noninvasive tissue spectroscopy and oximetry"*, Optical engineering, **34**, 32-42, (1995).

[111] Grant P. E., Roche-Labarbe N., Surova A., Themelis G., Selb J., Warren E.K., Krishnamoorthy K. S., Boas D. A., Franceschini M. A., *"Increased cerebral blood volume and oxygen consumption in neonatal brain injury"*, J. Cereb. Blood Flow Metab., **29**, 1704-1713, (2009).

[112] Dehaes M., Grant P. E., Sliva D. D., Roche-Labarbe N., Pienaar R., Boas D. A., Franceschini M. A., Selb J., *"Assessment of the frequency-domain multi-distance method to evaluate the brain optical properties: Monte Carlo simulations from neonate to adult"*, Biomed. Opt. Express, **2**, 552-567, (2011).

[113] Chen N. G., Zhu Q., *"Time-resolved diffusive optical imaging using pseudo-random bit sequences"*, Opt. Exp., **11**, 3445-3454, (2003).

[114] Leblond F., Dehghani H., Kepshire D., Brian W. P., *"Early-photon fluorescence tomography: spatial resolution improvements and noise stability considerations"*, J. Opt. Soc. Am., **26**, 1444-1457, (2009).

[115] Montcel B., Chabrier R., Poulet P., *"Detection of cortical activation using time-resolved diffuse optical methods"*, Appl. Opt., 44, 1942-1947, (2005).

[116] Benaron D. A., Stevenson D. K., *"Optical time-of-flight and absorbance imaging of biologic media"*, Science, **259**, 1463-1466, (1993).

[117] Das B. B., Yoo K. M., Alfano R. R., *"Ultrafast time-gated imaging in thick tissues: a step toward optical mammography"*, Opt. Lett.,**18**, 1092-1094, (1993).

[118] Hee M. R., Izatt J. A., Swanson E. A., Fujimoto J. G.,*"Femtosecond transillumination tomography in thick tissues"*, Opt. Lett., **18**, 1107-1109, (1993).

[119] Das B. B., Dolne J. J., Barbour R. L., Graber H. L., Chang J., Zevallos M., Liu F., Alfano R. R.,*"Analysis of time-resolved data for tomographical image reconstruction of opaque phantoms and finite absorbers in diffusive media"*, Proc. SPIE, **2389**, 16-28, (1995).

[120] Chang J., Zhu W., Wang Y., Graber H. L., Barbour R. L.,*"Regularized progressive expansion algorithm for recovery of scattering media from time-resolved data"*, J. Opt. Soc. Am., **14**, 306-312, (1997).

[121] Grosenick D., Wabnitz H., Rinneberg H., *"Time-resolved imaging of solid phantoms for optical mammography"*, Appl. Opt., **36**, 221-231, (1997).

[122] Winn J. N., Perelman L. T., Chen K., Wu J., Dasari R. R., Feld M. S.,*" Distribution of the paths of early-arriving photons traversing a turbid medium"*, Appl. Opt., **34**, 8085-8091, (1998).

[123] Cai W., Gayen S. K., Xu M., Zevallos M., Alrubaiee M., Lax M., Alfano R. R.,*"Optical tomographic image reconstruction from ultrafast time-sliced transmission measurements"*, Appl. Opt., **38**, 4237-4246, (1999).

[124] Morin M., Mailloux A., Painchaud Y., Beaudry P., *"Time-resolved transmission through homogeneous scattering media: time-response effects"*, Appl. Opt., **38**, 3681-3685, (1999).

[125] Hielscher A. H., Klose A. D., Hanson K. M.,*"Gradient-based iterative image reconstruction scheme for time-resolved optical tomography"*, IEEE Trans. Med. Imag., **18**, 262-271, (1999).

[126] Schmidt F. E. W., Hebden J. C., Hillman E. M. C., Fry M. E., Schweiger M., Dehghani H., Delpy D. T., Arridge S. R., "Multiple-slice imaging of a tissue-equivalent phantom by use of time-resolved optical tomography", Appl. Opt., **39**, 3380-3387, (2000).

[127] Gao F., Poulet P., Yamada Y., *"Simultaneous mapping of absorption and scattering coefficients from a three-dimensional model of time-resolved optical tomography"*, Appl. Opt., **39**, 5898-5910, (2000).

[128] Hebden J. C., Veenstra H., Dehghani H., Hillman E. M. C., Schweiger M., Arridge S. R., Delpy D. T.,*"Three-dimensional time-resolved optical tomography of a conical breast phantom"*, Appl. Opt., **40**, 3278-3287, (2001).

[129] Cope M., Delpy D. T.,*"System for long term measurement of cerebral blood and tissue oxygenation on newborn infants by near infrared transillumination"*, Med. Biol. Eng. Comput., **26**, 289-94, (1988).

[130] D. Hall, G. Ma, F. Lesage, Y. Wang, *"Simple time-domain optical method for estimating the depth and concentration of a fluorescent inclusion in a turbid medium"*, Opt. Lett., **29**, 2258-2260, (2004).

[131] Duguay M. A., Mattick A. T., *"Ultrahigh speed photography of picosecond light pulses and echoes"*, Appl. Opt., **10**, 2162-2170, (1971).

[132] Jobsis F. F., *"Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters"*, Science, **198**, 1264-1267, (1977).

[133] Shimizu K, Ishimaru A., Reynolds L., *"Backscattering of a picosecond pulse from densely distributed scatterers"*, Appl. Opt., **18**, 3484-3488, (1979).

[134] Chance B., Leigh J. S., Miyake H., Smith D. S., Nioka S., Greenfeld R., Finander M., Kaufmann K., Levy W., Young M., Cohen P., Yoshioka H., Boretsky R., *"Comparison of time-resolved and -unresolved measurements of deoxyhemoglobin in brain"*, Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **85**, 4971-4975, (1988).

[135] Delpy D. T., Arridge S. R., Cope M., Edwards D., Reynolds E. O., Richardson C. E., Wray S., Wyatt J., van der Zee P., *"Quantitation of pathlength in optical spectroscopy"*, Adv. Exp. Med. Biol., **248**, 41-46, (1989).

[136] Jarry G., Ghesquiere S., Maarek J. M., Fraysse F., Debray S., Bui-Mong-Hung, Laurent D., *"Imaging mammalian tissues and organs using laser collimated transillumination"*, J.BioMed. Eng., **6**, 70-74, (1984).

[137] Hebden J. C., Kruger R. A., *"Transillumination imaging performance: spatial resolution simulation studies"*, Med. Phys., **17**, 41-47, (1990).

[138] Hebden J. C., *"Evaluating the spatial resolution performance of a time-resolved optical imaging system"*, Med. Phys., **19**, 1081-1087, (1992).

[139] Hebden J. C., Kruger R. A, Wong K. S., *"Time resolved imaging through a highly scattering medium"*, Appl. Opt., **30**, 788-794, (1991).

[140] Chance B., Cope M., Gratton E., Ramanujam N., Tromberg B., *"Phase measurement of light absorption and scatter in human tissue"*, Rev. Sci. Instrum., **69**, 3457-3481, (1998).

[141] Arridge S. R., *"Optical tomography in medical imaging"*, Inverse Problems, **15**, 41-93, (1999).

[142] Gandjbakhche A. H., Nossal R., Bonner R. F., *"Resolution limits for optical transillumination of abnormalities deeply embedded in tissues"*, Med. Phys., **21**, 185-191, (1994).

[143] Wilson B. C., Adam G., *"A Monte Carlo model for the absorption and flux distributions of light in tissue"*. Med Phys., **10**, 824-830, (1983).

[144] Tualle J.M., Tinet E., Avrillier S., *"A new and easy way to perform time-resolved measurements of the light scattered by a turbid medium"*, Opt. Com., **189**, 211-220, 2001.

[145] Yoo K. M., Alfano R. R., *"Time-resolved coherent and incoherent components of forward light scattering in random media"*, Opt. Lett., **15**, 320-322, (1990).

[146] Delpy D. T., Cope M., van der Zee P., Arridge S., Wray S., Wyatt J., *"Estimation of optical pathlength through tissue from direct time of flight measurement"*, Phys. Med. Biol., **33**, 1433-1442, (1988).

[147] Chance B., Nioka S., Kent J., McCully K., Fountain M., Greenfeld R., Holtom G., *"Time-resolved spectroscopy of hemoglobin and myoglobin in resting and ischemic muscle"*, Anal. Biochem., **174**, 698-707, (1988).

[148] Sobolev V. V., *"A Treatise on Radiative Transfer"*, Princeton, New Jersey, (1963).

[149] Wing G. M., *"An introduction to transport theory"*, Wiley J. Pub. Co., New York, London, (1962).

[150] Arridge S. R., Cope M., Delpy D. T., *"The theoretical basis for the determination of optical pathlengths in tissue: temporal and frequency analysis"*, Phys. Med. Biol., **37**, 1531-1560, (1992).

[151] Alfano R. R., Govindjee R., Becher B., Ebrey T. G., *"Picosecond kinetics of the fluorescence from the chromophore of the purple membrane protein of Halobacterium halobium"*, Biophys J., **16**, 541-545, (1976).

[152] Hebden J. C., Hall D. J., Delpy D. T., *"The spatial resolution performance of a time-resolved optical imaging system using temporal extrapolation"*, Med. Phys., **22**, 201-208, (1995).

[153] Hebden J. C., Hall D. J., Firbank M., Delpy D. T., *"Time-resolved optical imaging of a solid tissue-equivalent phantom"*, Appl. Opt., **34**, 8038-8047, (1995).

[154] Joblin A. J., *"Method of calculating the image resolution of a near-infrared time-of-flight tissue-imaging system"*, Appl. Opt., **35**, 752-757, (1996).

[155] Selb J., Stott J. J., Franceschini M. A., Sorensen A. G., Boas D. A., *"Improved sensitivity to cerebral hemodynamics during brain activation with a time-gated optical system: analytical model and experimental validation"*, J. Biomed. Optics, **10**, 11013, (2005).

[156] Selb J., Joseph D. K., Boas D. A., *"Time-gated optical system for depth-resolved functional brain imaging"*, J. Biomed. Optics, **11**, 44008, (2006).

[157] Venugopal V., Chen J., Intes X., *"Development of an optical imaging platform for functional imaging of small animals using widefield excitation"*, Biomed. Opt. Express, **1**, 143-156, (2010).

[158] Chen J., Venugopal V., Lesage F., Intes X., *"Time-resolved diffuse optical tomography with patterned-light illumination and detection"*, Opt. Lett., **35**, 2121-2123, (2010).

[159] May A., Bhaumik S., Gambhir S. S., Zhan C., Yazdanfar S., *"Whole-body, real-time preclinical imaging of quantum dot fluorescence with time-gated detection"*, J. Biomed. Optics, **14**, 060504, (2009).

[160] Delpy D. T., Cope M., Van der Zee P., Arridge S., Wray S., Wyatt J.,*"Estimation of optical pathlength through tissue from direct time of flight measurement"*, *Phys. Med. Biol.*, **33,** 1433-1442, (1988).

[161] Ho P. P., Baldeck P., Wong K. S., Yoo K. M., Don Lee, Alfano R. R.,*"Time dynamics of photon migration in semiopaque random media"*, Appl. Opt., **28**, 2304-2310, (1989).

[162] Gerhard M., Jochen K., Johann O., Erich P., Gerald S., Wolfgang Z., *"Time-gated transillumination of biological tissues and tissuelike phantoms"*, Appl. Opt., **33**, 6699-6710 (1994).

[163] Zint C.V., Uhring W., Torregrossa M., Cunin B., Poulet P., *"Streak camera: a multidetector for diffuse optical tomography"*, Appl. Opt., **42**, 3313-3320, (2003).

[164] Andersson-Engels S., Berg R., Svanberg S., Jarlman O., *"Time-resolved transillumination for medical diagnostics"*, Opt. Lett., **15**, 1179-1181, (1990).

[165] Benaron D. A., Stevenson D. K.,*"Optical time-of-flight and absorbance imaging of biologic media"*, Science, **259**, 1463-1466, (1993).

[166] Berg R., Jarlman O., Svanberg S.,*"Medical transillumination imaging using short-pulse diode lasers"*, Appl. Opt., **32**, 574-579, (1993).

[167] Ntziachristos V., Ma X., Yodh A. G., Chance B.,*"Multichannel photon counting instrument for spatially resolved near infrared spectroscopy"*, Rev. Sci. Instrum., **70**, 193-201, (1999).

[168] Oda M., Yamashita Y., Kan H., Miyajima H., Sawaki A., Nakano T., Suzuki S., Suzuki A., Shimizu K., Muramatsu S., Sugiura N., Ohta K., Tsuchiya Y.,*"Advanced devices for near-infrared time-resolved spectroscopy and optical computed tomography : High sensitive/fast PMT, high power PLP, miniaturized CFD/TAC module and high speed multi-channel signal acquisition unit"*, SPIE proceedings series, **2979**, 765-773, (1997).

[169] Poulet P., Zint C. V., Torregrossa M., Uhring W., Cunin B., *"Comparison of two time-resolved detectors for diffuse optical tomography: photomultiplier tube - time-correlated single photon counting and multi-channel streak camera"*, Proc. of Spie, **4955**, 154-163, (2003).

[170] Kirkby D. R., Delpy D. T.,*"Measurement of tissue temporal point spread function (TPSF) by use of a gain-modulated avalanche photodiode detector*", *Med. Biol.*, **41,** 939-949, (1996).

[171] Arridge S. R., Schweiger M., *"Direct calculation of the moments of the distribution of photon time of flight in tissue with a finite element method"*, Appl. Opt., **34**, 2683-2687, (1995).

[172] Arridge S. R., Schweiger M., *"Photon-measurement density functions Part II: Finite element method calculations"*, Appl. Opt., **34**, 8026-8037, (1995).

[173] Arridge S. R., *"Photon-measurement density functions Part I: Analytical forms"*, Appl. Opt., **34**, 7395-7409, (1995).

[174] Nomura Y., Hazeki O., Tamura M., *"Exponential attenuation of light along nonlinear path through the biological model"*, Adv. Exp. Med. Biol., **248**, 77-80, (1989).

[175] Oda M., Yamashita Y., Nishimura G., Tamura M., *"A simple and novel algorithm for time resolved multiwavelength oximetry"*, Phys. Med. Biol., **41,** 551-562, (1996).

[176] Montcel B., Chabrier R., Poulet P., *"Time-resolved absorption and hemoglobin concentration difference maps: a method to retrieve depth-related information on cerebral hemodynamics"*, Opt. Express, **14**, 12271-12287, (2006).

[177] Niedre M. J., De Kleine R. H., Aikawa E., Kirsch D. G., Weissleder R., Ntziachristos V., *"Early photon tomography allows fluorescence detection of lung carcinomas and disease progression in mice* in vivo", Proc. Natl. Acad. Sci. U S A., **105**, 19126-31, (2008).

[178] Farsiu S., Christofferson J., Eriksson B., Milanfar P., Friedlander B., Shakouri A., Nowak R., *"Statistical Detection and Imaging of Objects Hidden in Turbid Media Using Ballistic Photons"*, Appl. Opt., **46**, 5805-5822, (2007).

2 Méthodes de tomographie résolue en temps.

Les techniques actuelles de TOD prennent en compte les photons multi-diffusés, qui sont en pratique les seuls à parvenir au détecteur. L'information véhiculée par ces photons permet la reconstruction d'images ou de cartes des propriétés optiques, d'absorption et de diffusion, des tissus profonds à partir de mesures effectuées en surface.

Il est établi que les méthodes optiques résolues en temps sont celles qui permettent d'obtenir les images de meilleure qualité : résolution spatiale, sensibilité de détection et séparation des variations d'absorption et de diffusion. Benaron et Stevenson ont démontré, simplement, que les photons précoces rendent compte des propriétés optiques des tissus proches de l'axe optique, alors que les photons tardifs apportent des informations sur des tissus plus éloignés de cet axe [1]. La simple distinction entre ces deux types de photons permet de séparer les informations qu'ils « véhiculent ». Ainsi, les inhomogénéités spatiales d'absorption et de diffusion du milieu sont mieux résolues par les méthodes DT, comparativement aux méthodes CW ou DF. En plus de considération sur le rapport signal à bruit trop faible dans le cas de la simple détection des photons précoces, balistiques et serpentiles, cet apport d'informations complémentaires justifie clairement la détection et l'utilisation des photons multi-diffusés pour la reconstruction d'images tomographiques [2-5].

Dans ce chapitre, nous traiterons des aspects généraux relatifs à l'acquisition et au traitement des données résolues en temps, sans considérer l'aspect expérimental qui sera présenté dans le chapitre 3, ni la modélisation de la propagation de la lumière dans les tissus utilisée pour la reconstruction des images exposée au chapitre 4. La description ci après se limite aux aspects pratiques mis en œuvre dans cette thèse. En particulier, nous considérerons la description des problèmes directs et inverses et l'adaptation de la méthode des éléments finis à la géométrie de détection sans contact mise en œuvre.

2.1 Tomographie Optique Diffuse Résolue en Temps

Les algorithmes de reconstruction en Tomographie Optique Diffuse Résolue en Temps (TODRT) reposent généralement sur la résolution des deux problèmes classiques : le problème direct et le problème inverse (Fig. 2.1).

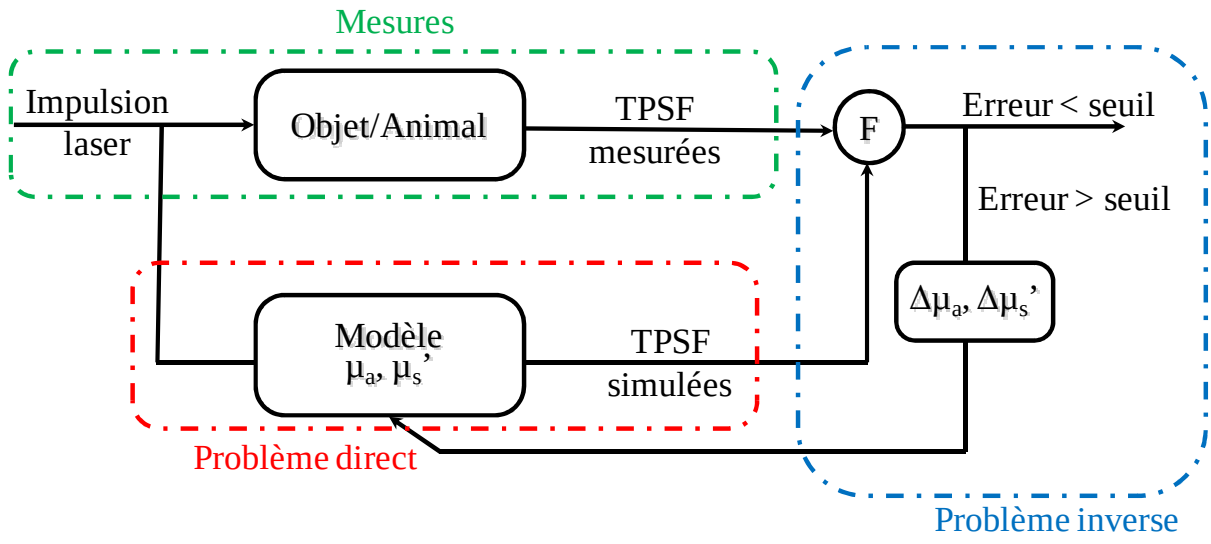


Figure 2.1 : Principe de la TODRT.

2.1.1 **Le problème direct**

La résolution du problème direct en TODRT est illustrée dans la Figure 2.1. Ce problème consiste dans le calcul de la densité de photons à l'intérieur d'objets de formes et de propriétés optiques connues, après son excitation par une source de lumière impulsionnelle ultra-courte. Cette résolution nécessite l'utilisation d'un modèle mathématique pour la modélisation de la propagation des photons à l'intérieur des objets imagés. Typiquement, cette propagation est modélisée par utilisant l'équation de transport radiatif [6], l'équation de diffusion (ED) [7] ou une combinaison des deux [8,9].

L'ED peut être résolue de manière analytique [10,11] pour des géométries simples. Notre approche expérimentale étant axée sur l'imagerie de rongeurs non immergés dans un milieu de couplage optique, ces solutions ne sont pas adaptées et n'ont pas été retenues. Parmi les méthodes de résolution numérique de l'ED, la méthode des éléments finis (MEF) s'est rapidement imposée, en particulier grâce aux travaux de Arridge et de son équipe. Depuis la formulation mathématique de l'utilisation de la MEF dans la résolution du problème direct en 1993 [2], cette équipe a progressivement apporté des améliorations significatives pour l'utilisation de MEF en TODRT : calculs en 3D, calculs directs des moments, utilisation de la transformée de Laplace, application sur des régions peu diffusantes ... [12-18]. Bien que discutée dans sa validité, la résolution de l'ED est une solution plus facile à mettre en œuvre que la résolution de l'ETR, qui présente également l'avantage de réduire le temps de calcul, comparativement à celui requis par des méthodes purement statistiques comme la méthode de Monte Carlo.

Son formalisme mathématique est présenté en détail au chapitre 4. Nous mentionnons ci-dessous l'organisation de la résolution du problème direct utilisant la MEF.

2.1.1.1 Construction d'un modèle numérique

Un modèle est par définition une façon plus simple de représenter un processus complexe. Un modèle numérique d'un objet test ou d'un animal doit être de même géométrie que l'objet étudié et doit imiter de façon fidèle ses caractéristiques physiques, ici ses coefficients optiques. Cette étape commence par l'enregistrement de la surface de l'objet ou de l'animal à imager. Elle est suivie par la construction de la totalité de son contour 3D. Ce contour fermé permet l'élaboration de la géométrie solide associée requise par la MEF.

*2.1.1.2 **Maillage***

Cette partie consiste en la division de la géométrie du modèle en volumes élémentaires. Ces volumes peuvent être de formes cubiques et on parle alors de voxels. Les volumes élémentaires et leurs sommets sont dorénavant appelés éléments et nœuds du maillage, respectivement. Dans le cadre de cette thèse, les éléments ont la forme de tétraèdres. Les tétraèdres se trouvant sur les bords de la géométrie ont une de leurs faces sur la surface de la géométrie. Ces triangles sont appelés éléments triangulaire de bord ou de surface.

Souvent, le maillage est linéaire et invariable durant tout le processus de reconstruction, comme dans le cas de notre thèse. Un algorithme utilisant un maillage dynamiquement adaptatif permettant de discrétiser la géométrie plus finement autour des régions d'intérêt (ROI – Region Of Interest), a été proposé par Soloviev et Krasnosselskaia [19]. Le principal avantage de cet algorithme réside dans la réduction du nombre d'inconnus à estimer dans les objets de volume important notamment leur fantôme de sein. Guven *et al* ont mené une étudié sur les erreurs de discrétisation et l'utilisation des maillages adaptatifs en tomographie optique d'absorption [20]. Les résultats obtenus sur données simulées ont démontré que ce type de maillage permet d'améliorer la qualité des images d'absorption [21]. Nous nous limiterons dans le cadre de cette thèse à l'utilisation de maillages non-uniformes, générés en fonction des ROI. Ces dernières sont déterminées en fonction de la géométrie imagée et de la position des sources et détecteurs du tomographe. Cette étape est détaillée en section 5.1.1.1.2.

*2.1.1.3 **Placement des sources et détecteurs***

Les sources et les détecteurs correspondent respectivement aux points théoriques d'entrée et de sortie de la lumière dans le modèle numérique. Ils sont déterminés en fonction de la géométrie de l'objet imagé et des positions réelles des fibres optiques dans le dispositif expérimental.

Pour l'utilisation de la MEF, le calcul des points sources et détecteurs consiste en la détermination des éléments du maillage auxquels ils appartiennent. L'approximation de l'ED impose que les sources théoriques soient situées à une profondeur égale à L_s', sous la surface éclairée.

Dans la plupart des cas, la source théorique est située à l'intérieur d'un élément du maillage et ne correspond pas à un de ses nœuds. Son influence sur les 4 nœuds de cet élément est calculée, avec une pondération selon la distance source théorique - noeud. Ces derniers seront utilisés comme sources dans la suite de la MEF.

De la même manière, il est fréquent qu'un point de détection théorique se situe à l'intérieur d'un élément triangulaire de bord. Dans ce cas, la densité de photons en ce point théorique est calculée par une simple moyenne pondérée des densités de photons calculées sur les 3 nœuds de l'élément auquel il appartient.

2.1.1.4 ***Résolution de l'ED***

Cette étape permet le calcul de la densité de photons en chacun des nœuds du maillage, et pour chaque pas de temps après l'injection d'une impulsion lumineuse dans le(s) nœud(s) utilisé(s) comme source(s) théorique(s). Cette étape réalise la simulation de la propagation de la lumière à travers l'objet par résolution numérique de l'ED, à l'aide de la MEF.

Le flux de photons arrivant sur les points de détection théoriques est ensuite calculé à partir des densités de photons calculées sur les nœuds de la surface de l'objet. Les résultats de ce calcul nous permettent d'obtenir les $TPSF_{simulée}$ pour l'ensemble des détecteurs considérés, et pour une source donnée. Ce calcul peut être répété pour l'ensemble des sources que l'on désire modéliser.

2.1.2 **Problème inverse**

Le problème inverse est situé sur la figure 2.1 et peut être résumé de la manière suivante. Si les $TPSF_{mesurée}$ et les $TPSF_{simulée}$ sont égales, les propriétés optiques attribuées au modèle utilisé pour la simulation correspondent à ceux de l'objet/animal étudié. Dans le cas contraire, qui est la situation réelle, un algorithme itératif d'inversion est utilisé pour minimiser une expression de l'erreur entre ces deux TPSF. A chaque itération une mise à jour ($\Delta\mu_a$ et $\Delta\mu_s'$) des propriétés optiques (μ_a et μ_s') est calculée puis injectée dans le modèle afin de simuler les nouvelles $TPSF_{simulée}$ qui seront à nouveau comparées aux $TPSF_{mesurée}$. Ce processus est répété jusqu'à atteinte d'un critère d'arrêt fixé préalablement.

Il est important de noter que les propriétés optiques calculées par ce type d'algorithme dépendent fortement du modèle de transport utilisé dans la résolution du problème direct et donc de la validité de l'approximation de diffusion.

En pratique, si les signaux « mesurés » ne sont pas issus d'un modèle numérique, comme décrit ci dessus, mais sont des signaux réels issus d'un dispositif de mesure physique, ces signaux mesurés dépendent de l'instrumentation. Les signaux mesurés $TPSF_{mesurée}$ peuvent être décrits comme le produit de convolution de la réponse impulsionnelle (RI) de l'appareil par le signal issu d'un instrument idéal ($TPSF_{idéale}$). Un tel instrument a une réponse impulsionnelle infiniment brève. Ce produit de convolution s'écrit selon :

$$TPSF_{mesurée} = TPSF_{idéale} * RI \tag{2.1}$$

Le problème inverse sur des données réelles devra donc tenir compte de cette convolution et de la RI de l'instrument utilisé. En considérant cette RI connue, deux méthodes de résolution du problème inverse sont possibles.

2.1.2.1 ***Résolution par déconvolution***

Comme cité au-dessus, les $TPSF_{mesurée}$ sont le produit de convolution des réponses idéales $TPSF_{idéale}$ par la RI de l'instrument de mesure. Les $TPSF_{idéale}$ peuvent donc être obtenues par déconvolution des $TPSF_{mesurée}$ par la RI du système :

$$TPSF_{idéale} = TPSF_{mesurée} \otimes^{-1} RI \tag{2.2}$$

où $\otimes^{-1}$ représente l'opérateur de déconvolution.

Une fois les $TPSF_{idéale}$ obtenues par déconvolution, elles peuvent être comparées aux $TPSF_{simulée}$, comme illustré dans la figure suivante :

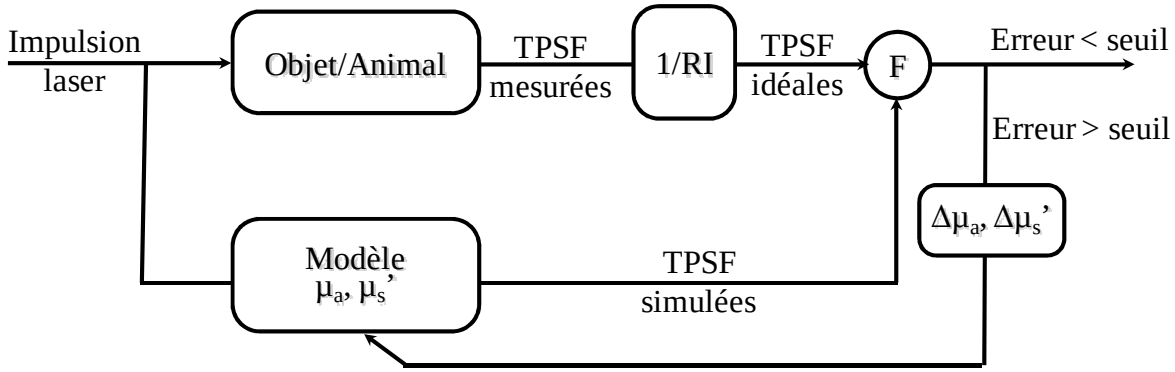


Figure 2.2 : Principe de la TODRT par déconvolution.

En tomographie optique par comptage de photons résolus en temps, les $TPSF_{mesurée}$ et les RI mesurées sont très affectées par le bruit de mesure. Ce bruit n'est pas gaussien, mais un bruit de Poisson (bruit de comptage). La déconvolution de ces signaux s'avère délicate. Bodi et Berube-Lauziere ont proposé une méthode qui permet de réaliser cette déconvolution sans prise en compte de la nature des signaux. Elle est basée sur un filtrage par la méthode des ondelettes de Haar-Fisz, qui transforme le bruit en un bruit gaussien, suivi d'une déconvolution par la méthode de Wiener [22].

*2.1.2.2 **Résolution par convolution***

Une seconde méthode permet de s'affranchir de cette étape de déconvolution. Elle consiste en la convolution des $TPSF_{simulée}$ par la RI avant de les comparer aux $TPSF_{mesurée}$. Cette méthode est illustrée dans la figure 2.3.

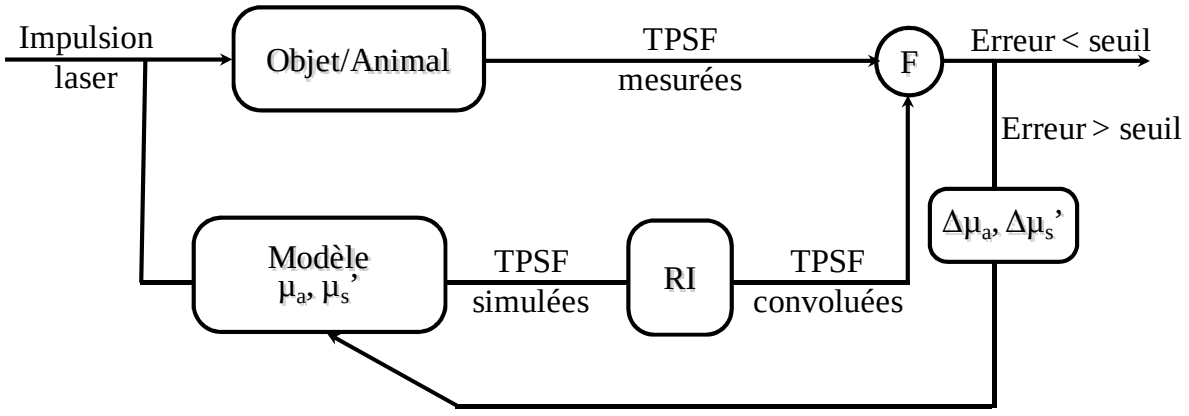


Figure 2.3 : Principe de la TODRT par convolution.

Cette méthode est plus simple à mettre en œuvre que celle par déconvolution. Lors de la minimisation de l'erreur et le calcul des nouvelles propriétés optiques, il est de toute manière indispensable de prendre en compte la RI de l'intrumentation.

2.2 La modélisation sans contact

Les systèmes tomographiques classiques dédiés à l'imagerie du petit animal utilisent un nombre limité de mesures, c'est-à-dire de positions source-détecteur. De plus, la plupart des solutions publiées emploient des fluides de couplage, remplissant l'espace entre la surface de l'animal et les extrémités des fibres optiques constituant les sources et les détecteurs, afin de simplifier les exigences méthodologiques et théoriques. Cette méthode présente comme avantage de simplifier la reconstruction, en utilisant des modèles analytiques plutôt que le MEF, mais elle présente également plusieurs inconvénients. L'animal est placé dans une situation peu « physiologique », en étant immobilisé sur le dos dans le cas de géométrie en tranche, ou vertical, pour des géométries en cylindre ou en tranche. Des applications en imagerie cérébrale deviennent particulièrement difficiles avec de tels milieux, tout comme l'utilisation d'anesthésie gazeuse. Il semble également que de telle solution, en augmentant la diffusion de lumière dans le liquide de couplage, compromettent la qualité des images produites [23-25]. Une approche similaire consiste à compresser l'animal entre deux plaques, elle n'est pas envisageable en imagerie du cerveau [26].

Ainsi, des systèmes qui fonctionnent sans la nécessité de mettre les sources et détecteurs en contact avec l'animal ont été développés et ont permis de produire des images de très bonne qualité [26,27]. En plus d'instrumentation à fibres optiques, ces méthodes sans contact permettent la mise en œuvre d'une approche tomographique en utilisant des caméras CCD [27-30].Cette configuration sans contact est commune à la plupart des autres modalités d'imagerie tomographique, notamment en tomographie de rayons X, qui utilise également une source d'énergie extérieure et des détecteurs distants de la surface du sujet imagé.

Pogue *et al* ont analysé et comparé différentes configurations, cylindriques et en tranche, utilisant des fibres optiques disposées autour de l'objet imagé et en contact de sa surface [31,32]. Ces travaux ont en particulier permis de démontrer que la configuration cylindrique, avec une détection en transmission, c'est-à-dire des fibres de détection situées de l'autre côté de l'animal, par rapport aux fibres d'excitation, conduit aux meilleurs résultats expérimentaux. Un nombre limité de couples source-détecteur, placés symétriquement autour de la surface de l'animal imagé s'avère suffisant pour reconstruire des images de qualité.

Un système de tomographie optique utilisant une configuration, à base de fibres optiques, similaire à celle proposé par Pogue *et al* [32] avait été assemblé dans le laboratoire [33]. Il a permis des études sur objets test cylindriques, en contact avec les fibres optiques.

Notre travail a consisté à faire évoluer cet équipement et les méthodes de reconstruction d'images, pour permettre d'effectuer des images de rongeurs avec des acquisitions sans-contact. Pour pouvoir exploiter ces mesures effectuées sans contact, nous avons mis en œuvre une modélisation complète de cette approche. Ces travaux ont permis d'améliorer les conditions d'acquisition *in vivo*, de traiter les données acquises sur des objets de géométrie quelconque, en attendant les travaux sur animaux. Un autre intérêt de cette approche est d'augmenter l'information acquise, en augmentant la surface couverte par les détecteurs [34].

Notre modélisation prend en compte la propagation des photons dans l'espace libre situé entre les extrémités des fibres optiques du système et la surface de l'animal analysé [34-36]. Cette modélisation est bien entendu nécessaire pour la résolution du problème direct détaillé précédemment. Elle comporte trois parties :

2.2.1 **Illumination sans contact**

Cette étape consiste en la détermination des points de l'entrée de la lumière dans le modèle numérique. En mode contact, l'approximation de diffusion impose que ces points correspondent aux nœuds du maillage se trouvant à une distance égale à un libre parcours moyen de diffusion (L_s') sous les points de contact entre les cœurs des fibres et la surface de l'objet ou l'animal imagé. En mode sans contact, les fibres sont éloignées de la surface de l'animal et la lumière irradie une surface de l'animal qui doit être calculée à partir du diamètre et de l'ouverture numérique de la fibre d'excitation, de la

surface de l'animal, et de la position relative de ces deux éléments. Ces informations doivent être entrées dans le modèle numérique. L'éclairage d'une surface importante de l'objet étudié est de plus en plus utilisé et présente plusieurs avantages, par comparaison avec une illumination focalisée [37-40]. Elle limite le temps d'acquisition, en réduisant le nombre de pas de balayage, évite l'existence de points chauds en réduisant la puissance surfacique et permettent de reconstruire des images de qualité supérieure [41].

Dans l'espace libre situé entre l'extrémité de la fibre d'excitation et la surface de l'animal, les photons se propagent en ligne droite, à l'intérieur d'un cône d'illumination. Ce cône a pour sommet l'extrémité du cœur de la fibre d'illumination, considéré comme de dimension négligeable, et possède un angle au sommet θ déterminé par son ouverture numérique (ON). Lorsque le milieu est de l'air, d'indice de réfraction 1, l'angle θ est défini par la relation : ON = sinθ.

L'équation du cône d'illumination correspondant à la fibre d'illumination ayant son extrémité au point de coordonnées x = y =0 et z = 20mm, orientée selon l'axe z, est donnée par :

$$x^2 + y^2 = (z - 20)^2 \tan^2(\theta) \qquad (2.3)$$

Pour des fibres optiques d'ouverture numérique faible (ON = 0,25), il est possible de considérer que l'approximation θ = ON dans l'équation (2.3).

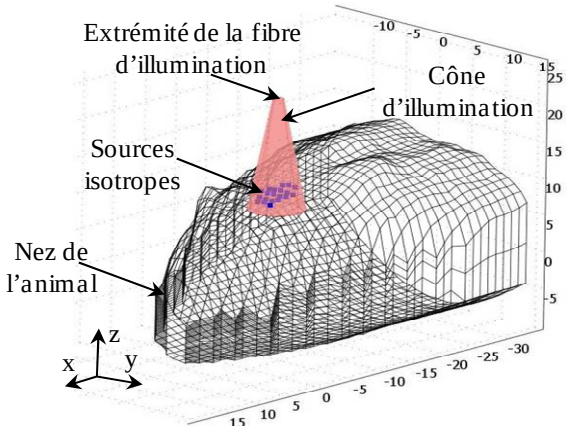


Figure 2.4 : Modélisation de l'illumination sans contact [35].

La figure 2.3 présente l'illumination sans contact d'un modèle numérique de la tête d'une souris. La surface éclairée correspond à l'intersection de la surface de l'animal et du cône d'illumination par une fibre optique donnée. Les nœuds du maillage utilisés comme sources de lumière isotrope, pour la résolution de l'équation de diffusion par MEF, correspondent aux nœuds se trouvant sur la surface définie par l'intersection entre la surface du cône d'illumination et une surface parallèle à la surface du modèle, située à L_s à l'intérieur du modèle.

2.2.2 **Détection sans contact**

Nous associons à une fibre optique de détection un cône de détection, de la même manière que le cône d'illumination. Ce cône de détection détermine la surface du modèle, et par conséquent les nœuds du maillage, à partir de laquelle les photons diffusés par l'animal sont détectés. Seuls ces nœuds interviennent dans le calcul du flux de photons sur la fibre concernée. La figure 2.5 illustre la modélisation de la détection sans contact.

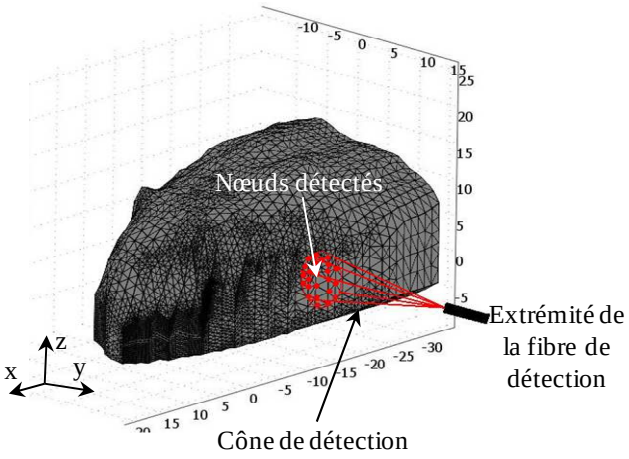


Figure 2.5 : Modélisation de la détection sans contact [35].

Cette approche de détection sans contact est utilisée par de nombreux dispositifs de TOD ou de TODF décrits dans la littérature. La plupart utilise une caméra CCD, permettant d'enregistrer la lumière émise par un nombre importants de nœuds à la surface de l'animal, sans recourir à un balayage de cette surface. La grande quantité d'information ainsi mesurée minimise le mauvais conditionnement du problème inverse en TOD/TODF [26,27,29,30,34,38-40].

Notre système, basé sur des fibres optiques à l'émission et à la réception, présente l'avantage d'utiliser la géométrie cylindrique, considérée comme optimale [31,42]. L'utilisation simultanée de plusieurs fibres optiques de détection éloignées de la surface constitue une approche intermédiaire entre la détection avec contact et la détection par un capteur multipixels, avec les avantages associés à une surface de détection étendue [34].

2.2.3 **Calcul des profils temporels**

Après la détermination des éléments du maillage qui constituent les sources de lumière d'excitation, la densité de photons en chaque nœud du modèle est calculée en fonction du temps par la résolution numérique de l'ED, par la MEF. Les flux de lumière émis par les éléments triangulaires de la surface sont ensuite calculés à partir des densités de photons sur ses nœuds, selon le formalisme suivant. Un élément *j* émet, à partir de son centre de gravité g_j, une quantité de lumière proportionnelle à $\varphi(g_i,t)$:

$$\varphi\left(g_j,t\right) = A_j \sum_{i=1}^{3} \frac{\left(D-d_i\right)u\left(i,t\right)}{D}, \tag{2.4}$$

où A_j est l'aire de l'élément j, d_i est la distance entre g_j et chacun des nœuds i de l'élément j. i = 1, 2 ou 3 dans le cas du maillage en tétraèdres utilisé et $D = \sum_{i=1}^{3} d_i$ .u(i,t) est la densité de photons au nœud i et à l'instant t.

Comme présenté sur la figure 2.5, chaque fibre de détection reçoit une partie de la lumière émise par les éléments triangulaires de bord contenus dans son cône de détection. Le profil temporel théorique de la quantité de lumière collectée par la fibre f_k est calculé en fonction des quantités de lumières $\varphi(g_i,t)$ émises par les éléments appartenant à son cône détection, selon l'équation :

$$\Phi\left(f_k,t\right) = \begin{cases} \sum_{1}^{N_k} \varphi\left(g_j, t - R/c_0\right)\cos\left(\alpha_j\right)S \,/\, R_j^2 & si \quad t \geq R/c_0 \\ 0 \quad sinon \end{cases} \tag{2.5}$$

Cette équation indique que la k^{ème} fibre (f_k), de section S, collecte une quantité de lumière $\varphi(g_i,t)$ provenant du j^{ème} élément de surface, dont le centre de gravité se situe à une distance R_j de son extrémité. α_j est l'angle entre le vecteur normal à la surface de l'élément *j* et le vecteur allant de g_j à

l'extrémité de la fibre f_k (Fig. 2.6). Le cosinus de cet angle est utilisé afin de modéliser la décroissance de la lumière émise par l'élément de surface et collecté par la fibre. Cette hypothèse correspond à une surface émettrice Lambertienne [36]. N_k est le nombre d'éléments triangulaires de bord contenus dans le cône de détection de la fibre f_k.

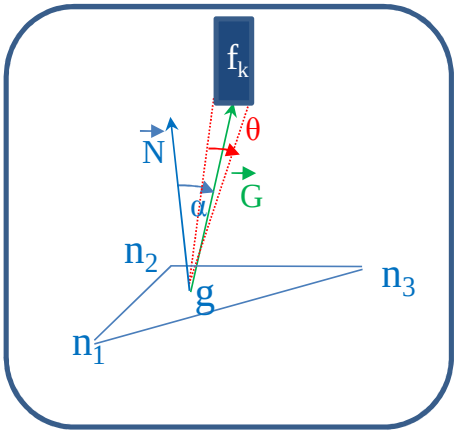


Figure 2.6 : Efficacité de collecte de la lumière émise par un élément de surface [35].

2.3 Tomographie Optique Diffuse de Fluorescence Résolue en Temps

De nombreuses études ont été menées sur l'imagerie de fluorescence, en particulier dans les domaines continu (CW) et fréquentiel (DF). Ces travaux ont permis de reconstruire des images à partir de données simulées ou mesurées, sur fantôme ou sur des animaux *in-vivo* [43-55]. En parallèle, des avancées majeures ont été réalisées dans le domaine temporel (DT) [56-64]. Ces études ont démontré plusieurs avantages des méthodes DT, en particulier pour la résolution spatiale et la localisation 3D des sources fluorescentes [65].

Les images de fluorescence par tomographie optique diffuse résolue en temps (TODFRT) peuvent être reconstruites, tout comme les images TODRT, en utilisant la totalité des données temporelles des profils mesurés [66-68], certains points caractéristiques de ces profils [41,69-71] ou les données calculées, notamment les premiers moments de ces profils [42,72,73].

2.3.1 **Principes**

Cette modalité d'imagerie doit permettre de fournir des informations sur la distribution d'un fluorophore, voire de plusieurs, à l'intérieur d'un tissu. Ces informations peuvent être sa concentration multipliée par son rendement quantique de fluorescence, et son temps de vie de fluorescence.

La TODFRT repose sur le même principe que la TODRT : acquisition des profils temporels de sortie des photons, ici de fluorescence, de l'objet ou de l'animal étudié et reconstruction des images des paramètres optiques qui gouvernent la propagation de la lumière dans cet objet. En TODRT, ces paramètres sont les coefficients d'absorption μ_a et de diffusion réduite μ_s' à la longueur d'onde d'excitation utilisée. En TODFRT, ces photons d'excitation, à la longueur d'onde λ_x, vont donner naissance, après absorption et émission radiative, à des photons de fluorescence potentiellement détectés. Ainsi, les paramètres optiques qui contrôlent la propagation des photons d'excitation et de fluorescence, ainsi que la génération des photons de fluorescence, sont au nombre de six. Ces six paramètres sont les coefficients d'absorption à la longueur d'onde d'excitation (μ_{ax}) et à la longueur d'onde moyenne de fluorescence (μ_{am}), les coefficients de diffusion réduite à ces deux longueurs d'onde (μ_{sx}', μ_{sm}'), le produit concentration rendement quantique ($C.\eta$), et le temps de vie de fluorescence (τ). Les indices *x* et *m* représentent respectivement les deux longueurs d'onde d'excitation λ_x et d'émission moyenne λ_m.

Pour résoudre un problème inverse dépendant d'autant de variables, il est nécessaire de recueillir autant d'informations que possible, et éventuellement de séparer les problèmes. Une approche expérimentale globale pourrait ainsi comporter trois acquisitions tomographiques successives :

- T1 : Une première acquisition (TODRT) à la longueur d'onde d'excitation λ_x
- T2 : Une deuxième acquisition (TODRT) à la longueur d'onde λ_m
- T3 : Une acquisition de tomographie de fluorescence avec excitation à λ_x et détection des photons de fluorescence autour de λ_m, grâce à un filtrage optique passe haut qui élimine les photons diffusés.

Les problèmes de reconstruction pourraient être séparés : reconstruction de μ_{ax} et μ_{sx}' après T1, reconstruction de μ_{am} et μ_{sm}' après T2, reconstruction de C.η et τ après T3. La reconstruction des cartes des paramètres de fluorescence, C.η et τ, devant utiliser les cartes des coefficients d'absorption et de diffusion, la procédure la plus fiable consisterait à reconstruire simultanément les 6 cartes à partir des profils temporels des expériences T1 à T3. Cette reconstruction TDOFRT pourrait être schématisée ainsi (Fig. 2.7) :

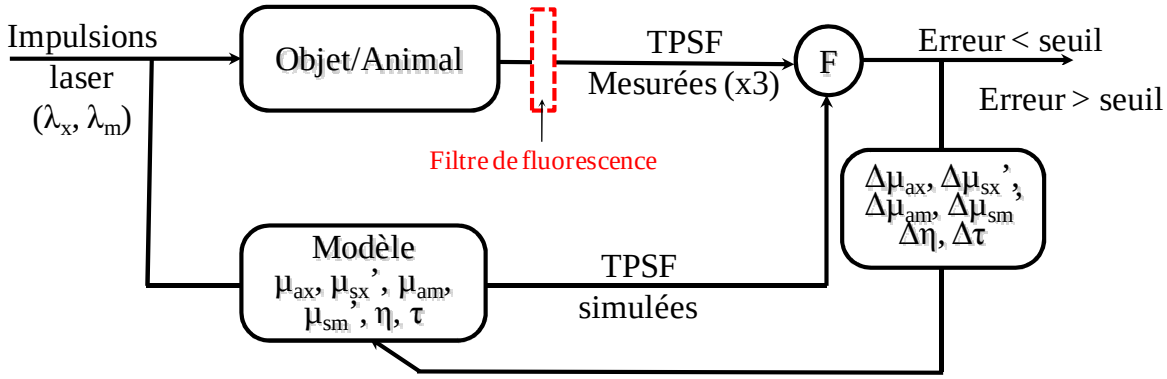


Figure 2.7 : Principe de la TODFRT.

2.3.2 Simplifications requises pour la reconstruction

La méthode proposée ci-dessus est particulièrement complexe. La modélisation de l'expérience T3 requiert en particulier de calculer les profils temporels des sources de photons de fluorescence à partir de la densité des photons d'excitation et des processus intra-moléculaires générant ces photons.

La plupart des chercheurs dans le domaine de la TODFRT proposent des solutions moins couteuses en temps de calcul, mais aussi plus stables. C'est ainsi que Hall *et al* ont utilisé une méthode uniquement basée sur les temps de vol des photons pour reconstruire des images de fluorescence de qualité [55]. Gao *et al* ont montré que les méthodes TODFRT permettent de reconstruire simultanément des images de concentration et de temps de vie de fluorescence [74]. La méthode utilisée souffre cependant d'une simplification difficilement justifiable *in vivo*. Ces auteurs ont en effet supposé que les propriétés optiques d'absorption et de diffusion sont égales aux longueurs d'onde d'excitation et d'émission.

Dans la suite de nos travaux, nous utiliserons une méthode simplifiée appelée « *total light* » proposée par Schultz *et al* [75] et développée par Marjono *et al* [76-78]. C'est une méthode rapide qui permet de s'affranchir des calculs de convolution nécessaires à la modélisation de la génération des photons de fluorescence. Cette étape est remplacée par la déconvolution des profils mesurés par une fonction exponentielle décroissante modélisant le déclin de fluorescence. Cette méthode a été validée sur des objets tests [76-78] puis *in-vivo* chez le petit animal [79]. Elle sera exposée en détail dans le chapitre 4.

2.4 Références

[1] Benaron D. A., Stevenson D. K.,*"Optical time-of-flight and absorbance imaging of biologic media"*, Science, **259**, 1463-1466, (1993).

[2] Arridge S. R., Schweiger M., Hiraoka M., Delpy D. T., *"A finite element approach for modeling photon transport in tissue"*, Med. Phys., **20**, 299-309, (1993).

[3] Chang J., Zhu W., Wang Y., Graber H. L., Barbour R. L., *"Regularized progressive expansion algorithm for recovery of scattering media from time-resolved data"*, J. Opt. Soc. Am., **14**, 306-312, (1997).

[4] Model R., Orlt M., Walzel M., Hünlich R., *"Optical imaging: three-dimensional approximation and perturbation approaches for time-domain data"*, Appl. Opt., **37**, 7968-7976, (1998).

[5] Gao F., Niu H., Zhao H., Zhang H., *"The forward and inverse models in time-resolved optical tomography imaging and their finite-element method solutions"*, Image & Vis. Comp., **16**, 703-712, (1998).

[6] Tarvainen T., Vauhkonen M., Arridge S. R., *"Gauss-Newton reconstruction method for optical tomography using the finite-element solution of the radiative transfer equation"*, Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer, **109**, 2767-2778, (2008).

[7] Patterson M., Chance B., Wilson B. C., *"Time-resolved reflectance and transmittance for the non-invasive measurement of tissue optical properties"*, Appl. Opt., **28**, 2331-2336, (1989).

[8] Tarvainen T., Vauhkonen M., Kolehmainen V., Arridge S. R., Kaipio J. P., *"Coupled radiative transfer equation and diffusion approximation model for photon migration in turbid medium with low-scattering and non-scattering regions"*, Phys. Med. Biol., **50**, 4913-30, (2005).

[9] Tarvainen T., Vauhkonen M., Kolehmainen V., Arridge S. R., Kaipio J. P., *"Finite element model for the coupled radiative transfer equation and diffusion approximation"*, Int. J. Numer. Method. Eng., **65**, 383-405, (2005).

[10] Wilson J. D., *"An approximate analytical solution to the diffusion equation for short-range dispersion from a continuous ground-level source"*, Bound-Lay. Meteorol., **23**, 85-103, (1982).

[11] Wang Z. M., Panasyuk G. Y., Markel V. A., Schotland J. C., *"Experimental demonstration of an analytic method for image reconstruction in optical diffusion tomography with large data sets"*, Opt. Lett., **30**, 3338-3340, (2005).

[12] Schweiger M., Arridge S. R., *"Comparison of two- and three-dimensional reconstruction methods in optical tomography"*, Appl. Opt., **37**, 7419-7428, (1998).

[13] Schweiger M., Arridge S. R., Hiraoka M., Delpy D. T., *"The finite element method for the propagation of light in scattering media: boundary and source conditions"*, Med. Phys., **22**, 1779-1792, (1995).

[14] Arridge S. R., Hebden J. C., Schweiger M., Schmidt F. E. W., Fry M. E.,. Hillman, H. Dehghani E. M. C, Delpy D. T., *"A method for three-dimensional time-resolved optical tomography"*, Inter. J. Imag. Sys. Techn., **11**, 2-11, (2000).

[15] Arridge S. R., Schweiger M., *"Direct calculation of the moments of the distribution of photon time of flight in tissue with a finite element method"*, Appl. Opt., **34**, 2683-2687, (1995).

[16] Schweiger M., Arridge S. R., *"Direct calculation with a finite element method of the Laplace transform of the distribution of photon time of flight in tissue"*, Appl. Opt., **36**, 9042-9049, (1997).

[17] Dehghani H., Arridge S. R., Schweiger M., Delpy D. T., *"Optical tomography in the presence of void regions"*, J. Opt. Soc. Am. A., **17**, 1659-1670, (2000).

[18] Arridge S. R., Dehghani H., Schweiger M., Okada E., *"The finite element model for the propagation of light in scattering media: a direct method for domains with nonscattering regions"*, Med. Phys., **27**, 252-264, (2000).

[19] Soloviev V. Y., Krasnosselskaia L. V., *"Dynamically adaptive mesh refinement technique for image reconstruction in optical tomography"*, Appl. Opt., **45**, 2828-2837, (2006).

[20] Guven M., Yazici B., Kwon K., Giladi E., Intes X., *"Effect of discretization error and adaptive mesh generation in diffuse optical absorption imaging: I"*, Inv. Prob., **23** 1115, (2007).

[21] Guven M., Yazici B., Kwon K., Giladi E., Intes X.,, *"Effect of discretization error and adaptive mesh generation in diffuse optical absorption imaging: II"*, Inv. Prob., **23**, 1135, (2007).

[22] Bodi G., Berube-Lauziere Y., *"A new deconvolution technique for time-domain signals in diffuse optical tomography without a priori information"*, Proc. SPIE, **7369**, 14, (2009).

[23] Ntziachristos V., Bremer C., Graves E., Ripoll J., Weissleder R., *"In vivo tomographic imaging of near-infrared fluorescent probes"*, Mol. Imaging, **1**, 82-88, (2002).

[24] Gurfinkel M., Ke S., Wen X. X., Li C., Sevick-Muraca E. M., *"Near-infrared fluorescence optical imaging and tomography"*, Dis. Markers , **19**, 107-121, (2003).

[25] *Biomedical Topical Meetings*, Vol. 71 of OSA Trends in Optics and Photonics Series (Opt. Soc. Am., Washington, D.C., (2002).

[26] Schulz R. B., Ripoll J., Ntziachristos V., *"Experimental fluorescence tomography of tissues with noncontact measurements"*, IEEE Trans. Med. Imaging, **23**, 492-500, (2004).

[27] Deliolanis N., Lasser T., Hyde D., Soubret A., Ripoll J., Ntziachristos V., *"Free-space fluorescence molecular tomography utilizing 360° geometry projections"*, Opt. Lett., **32**, 382-384, (2007).

[28] Turner G. M., Zacharakis G., Soubret A., Ripoll J., Ntziachristos V., *"Complete-angle projection diffuse optical tomography by use of early photons"*, Opt. Lett., **30**, 409-411, (2005).

[29] Meyer H., Garofalakis A., Zacharakis G., Psycharakis S., Mamalaki C., Kioussis D., Economou E. N., Ntziachristos V., Ripoll J., *"Noncontact optical imaging in mice with full angular coverage and automatic surface extraction"*, Appl. Opt., **46**, 3617-3627, (2007).

[30] Wang D., Liu X., Chen Y., Bai J., *"In-vivo fluorescence molecular tomography based on optimal small animal surface reconstruction"*, Chin. Opt. Lett., **8**, 82-85, (2010).

[31] Pogue B. W., McBride T. O., Osterberg U. L., Paulsen K. D., *"Comparison of imaging geometries for diffuse optical tomography of tissue"*, Opt. Express, **4**, 270-286, (1999).

[32] Pogue B. W., Poplack S. P., McBride T. O., Wells W. A., Osterman K. S., Osterberg U. L., Paulsen K. D., *"Quantitative hemoglobin tomography with diffuse near-infrared spectroscopy: pilot results in the breast"*, Radiology, **218**, 261-266, (2001).

[33] Montcel B., Poulet P., *"An instrument for small-animal imaging using time-resolved diffuse and fluorescence optical methods"*, Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. A., **569**, 551-556, (2006).

[34] Schulz R. B., Ripoll J., Ntziachristos V., *"Noncontact optical tomography of turbid media"*, Opt. Lett., **28**, 1701-1703, (2003).

[35] Nouizi F., Chabrier R., Torregrossa M., Poulet P., *"3D modeling for solving forward model of no-contact Fluorescence Diffuse Optical Tomography method"*, Proc. SPIE, **7369**, 0C, (2009).

[36] Ripoll J., Schulz R. B., Ntziachristos V., *"Free-space propagation of diffuse light: Theory and experiments"*, Phys. Rev. Lett., **91**, 103-901, (2003).

[37] Chen J., Venugopal V., Lesage F., Intes X., *"Time-resolved diffuse optical tomography with patterned light illumination and detection"*, Opt. Lett., **35**, 2121-2123, (2010).

[38] Joshi A., Bangerth W., Sevick-Muraca E. M., *"Non-contact fluorescence optical tomography with scanning patterned illumination"*, Opt. Express, **14**, 6516-6534, (2006).

[39] Joshi A., Bangerth W., Sevick-Muraca E. M., *"Non-contact fluorescence optical tomography with scanning area illumination"*, ISBI, IEEE, 582-585, (2006).

[40] Hervé L., Koenig A., Da Silva A., Berger M., Boutet J., Dinten J. M., Peltié P., Rizo P., *"Non-contact fluorescence diffuse optical tomography of heterogeneous media"*, Appl. Opt., **46**, 4896-4906, (2007).

[41] Venugopal V., Chen J., Lesage F., Intes X., *"Full-field time-resolved fluorescence tomography of small animals"*, Opt. Lett., **35**, 3189-3191, (2010).

[42] Gao F., Poulet P., Yamada Y., *"Simultaneous mapping of absorption and scattering coefficients from a three-dimensional model of time-resolved optical tomography"*, Appl. Opt., **39**, 5898-5910, (2001).

[43] Patterson M., Pogue W., *"Mathematical model for time-resolved and frequency domain fluorescence spectroscopy in biological tissues"*, Appl. Opt., **33**, 1963-1974, (1992).

[44] Li X. D., O'Leary M. A., Boas D. A., Chance B., Yodh A. G., *"Fluorescent diffuse photon density waves in homogeneous and heterogeneous turbid media: analytic solutions and applications"*, Appl. Opt., **35**, 3746-3758, (1996).

[45] Hawrysz D. J., Sevick-Muraca E. M., *"Development toward diagnostic breast cancer imaging using near-infrared optical measurements and contrast agents"*, Neoplasia, **2**, 388-417, (2000).

[46] Ntziachristos V., Weissleder R., *"Experimental three-dimensional fluorescence reconstruction of diffusemedia by use of a normalized born approximation"*, Opt. Lett., **26**, 893-895, (2001).

[47] Sevick-Muraca E. M., Houston J. P., Gurfinkel M., *"Fluorescence-enhanced, near infrared diagnostic imaging with contrast agent"*, Curr. Opin. Chem. Biol., **6**, 642-650, (2002).

[48] Graves E. E., Ripoll J., Weissleder R., Ntziachristos V., *"A submillimeter resolution for small animal imaging"*, Med. Phys., **30**, 901-911, (2003).

[49] Milstein A. B., Oh S., Webb K. J., Bouman C. A., Zhang Q., Boas D. A., Millane R. P., *"Fluorescence optical diffusion tomography"*, Appl. Opt., **42**, 3081-3094, (2003).

[50] Massoud T. F., Gambhir S. S., *"Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological processes in a new light"*, Genes. Dev., **17**, 545-580, (2003).

[51] Milstein A. B., Stott J. J., Oh S., Boas D. A., Millane R. P., Bouman C. A., Webb K. J., *"Fluorescence optical diffusion tomography using multiple-frequency data"*, J. Opt. Soc. Am., **21**, 1035-1049, (2004).

[52] Cherry S. R., *"In vivo molecular and genomic imaging: new challenges for imaging physics"*, Phys. Med. Biol., **49**, 13-48, (2004).

[53] Ntziachiristos V., Ripoll J., Wang L. H. V., Weissleder R., *"Looking and listening to light: the evolution of whole-body photonic imaging"*, Nat. Biotech., **23**, 313-320, (2005).

[54] Ntziachristos V., Tung C. H., Bremer C., Weissleder R., *"Fluorescence molecular tomography resolves protease activity in vivo"*, Nat. Med., **8**, 757-760, (2002).

[55] Hall D., Ma G., Lesage F., Wang Y., *"Simple time-domain optical method for estimating the depth and concentration of a fluorescent inclusion in a turbid medium"*, Opt. Lett., **29**, 2258-2260, (2004).

[56] Wu J., Perelman L., Dasari R. R., Feld M. S., *"Fluorescence tomographic imaging in turbid media using early-arriving photons and Laplace transforms"*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA , **94**, 8783-8788, (1997).

[57] Chen K., Perelman L. T., Zhang Q. G., Dasari R. R., Feld M. S., *"Optical computed tomography in a turbid medium using early arriving photons"*, J. Biomed. Opt., **5**, 144-154, (2000).

[58] Hattery D., Chernomordik V., Loew M., Gannot I., Gandjbakhche A., *"Analytical solutions for time-resolved fluorescence lifetime imaging in a turbid medium such as tissue"*, J. Opt. Soc. Am., **18**, 1523-1530, (2001).

[59] Sadoqi M., Riseborough P., Kumar S., *"Analytical models for time resolved fluorescence spectroscopy in tissues"*, Phys. Med. Biol., **46**, 2725-2743, (2001).

[60] Ma G., Mincu N., Lesage F., Gallant P., McIntosh L., *"System irf impact on fluorescence lifetime fitting in turbid medium"*, Proc. SPIE, **5699**, 263-273, (2005).

[61] Bloch S., Lesage F., Mackintosh L., Gandjbakche A., Liang K., Achilefu S., *"Whole-body fluorescence lifetime imaging of a tumor-targeted near-infrared molecular probe in mice"*, J. Biomed. Opt., **10**, 054003, (2005).

[62] Kumar A. T. N., Skoch J., Bacskai B. J., Boas D. A., Dunn A. K., *"Fluorescence lifetime-based tomography for turbid media"*, Opt. Lett., **30**, 3347-3349, (2005).

[63] Lam X., Lesage F., Intes X., *"Time domain fluorescent diffuse optical tomography: analytical expressions"*, Opt. Express, **13**, 2263-2275, (2005).

[64] Gao F., Zhao H., Tanikawa Y., Yamada Y., *"A linear, featured-data scheme for image reconstruction in time-domain fluorescence molecular tomography"*, Opt. Express, **14**, 7109-7124, (2006).

[65] Keren S., Gheysens O., Levin C. S., Gambhir S. S., *"A comparison between a time domain and continuous wave small animal optical imaging system"*, IEEE Trans. Med. Imaging, 27, 58-63, (2008).

[66] Arridge S. R., *"Optical tomography in medical imaging"*, Inv. Prob., **15**, 41-93, (1999).

[67] Gao F., Zhao H., Yamada Y., *"Improvement of image quality in diffuse optical tomography by use of full time-resolved data"*, Appl. Opt., **41**, 778-791, (2002).

[68] Model R., Orlt M., Walzel M., *"Reconstruction algorithm for near-infrared imaging in turbid media by means of time-domain data"*, J. Opt. Soc. Am., **14**, 313-323, (1997).

[69] Nouizi F., Torregrossa M., Chabrier R., Poulet P., *"Improvement of absorption and scattering discrimination by selection of sensitive points on temporal profile in diffuse optical tomography"*, Opt. Express, **19**, 12843-12854, (2011).

[70] Chen J., Intes X., *"Time gated perturbation Monte Carlo for whole body functional imaging in small animals"*, Opt. Express, **17**, 19566-19579, (2009).

[71] Chen J., Venugopal V., Intes X., *"Monte Carlo based method for fluorescence tomographic imaging with lifetime multiplexing using time gates"*, Biomed. Opt. Express, **2**, 871-886, (2011).

[72] Schweiger M., Arridge S. R., *"Application of temporal filters to time resolved data in optical tomography"*, Phys. Med. Biol., **44**, 1699-1717, (1999).

[73] Zhao H., Gao F., Tanikawa Y., Homma K., Yamada Y., *"Time-resolved optical tomographic imaging for the provision of both anatomical and functional information about biological tissue"*, Appl. Opt., **43**, 1905-1916, (2005).

[74] Gao F., Li J., Zhang L., Poulet P., Zhao H., Yamada Y., "Simultaneous fluorescence yield and lifetime tomography from time-resolved transmittances of small-animal-sized phantom", Appl. Opt., **49**,3163-3172, (2010).

[75] Schulz R., Peter J., Semmler W., Bangerth W., *"Independent modeling of fluorescence excitation and emission with the finite element method"*, in OSA Biomedical Optics Topical Meeting, Technical Digest, **ThF24**, OSA, (2004).

[76] Marjono A., Okawa S., Gao F., Yamada Y., *"Light Propagation for Time-Domain Fluorescence Diffuse Optical Tomography by Convolution Using Lifetime Function"*, Opt. Rev., **14**, 131-138, (2007).

[77] Marjono A., Akira Y., Okawa S., Gao F., Yamada Y., *"Full time-resolved fluorescence diffuse optical tomography using total light approach"*, in OSA Biomedical Optics Topical Meeting, Technical Digest, **BMD33**, OSA, (2008).

[78] Marjono A., Akira Y., Okawa S., Gao F., Yamada Y., *"Total light approach of time-domain fluorescence diffuse optical tomography"*, Opt. Express, **16**, 15268-15285, (2008).

[79] Nishimura G., Awasthi K., Locharoenrat K., Okawa S., Yamada Y., "*Time-domain fluorescence diffuse optical tomography for living animals by total-light algorithm*", Proc. SPIE, **7896**, 78962Q, (2011).

3 Système expérimental

Comme nous l'avons décrit dans le chapitre 1, de nombreuses méthodes de mesure des signaux optiques existent et permettent de caractériser les propriétés optiques des tissus biologiques, ou d'en réaliser la cartographie, dans le proche infrarouge. Le choix de l'instrumentation ou de la méthode de mesure dépend principalement du type de tissu étudié, de son épaisseur ainsi que la nature du signal utilisé pour la reconstruction des images.

Parmi les diverses méthodes possibles, notre laboratoire a choisi de construire un appareil de tomographie optique résolue en temps. Le système assemblé a permis de réaliser des mesures sur des objets test cylindriques et de reconstruire des images de ses coefficients d'absorption et de diffusion en 2D. Les fibres optiques utilisées pour l'illumination et la détection de la lumière étaient en contact avec la surface de l'objet étudié.

L'objectif des travaux de recherche menés durant cette thèse était de faire évoluer le dispositif afin d'effectuer des mesures *in-vivo* sur petit animal en utilisant une approche sans-contact, et de reconstruire des images précliniques par des techniques de reconstruction en 3D. Du point de vue expérimental, ce travail a principalement consisté à mettre en œuvre un système de détermination des coordonnées 3D de la surface du petit animal. Le problème direct a évolué vers une résolution en 3D de l'équation de diffusion et en la modélisation de la propagation des photons dans l'air entre les fibres optiques et la surface de l'animal.

Ce chapitre est divisé en trois parties : la description et la caractérisation du dispositif d'imagerie de surface, la description et la caractérisation du tomographe optique résolu en temps, et enfin la description des objets tests réalisés pour évaluer l'instrumentation.

3.1 Imagerie de surface

Comme décrit dans le deuxième chapitre, la première partie de la reconstruction d'images TOD est la résolution du problème direct qui consiste à simuler la propagation de la lumière à l'intérieur d'un modèle numérique ayant la forme de l'objet imagé. La construction de ce modèle requiert la connaissance de la surface de l'objet étudié. En imagerie préclinique sur animal anesthésié et non immergé dans un milieu diffusant, la détermination des coordonnées 3D de la surface de l'animal est donc indispensable. Deux approches sont possibles : soit intégrer le tomographe optique dans un dispositif d'imagerie anatomique, IRM ou scanner X, ou ajouter un dispositif spécifique au tomographe optique. La première approche a été envisagée et un prototype d'une sonde optique intégrée dans une bobine IRM réalisé. La seconde approche a également été mise en œuvre, pour garder l'autonomie du tomographe optique.

Différentes possibilités ont déjà été envisagées pour réaliser cette image de surface 3D par une méthode optique. Le choix final a été dicté par la disponibilité dans le laboratoire d'un capteur de mesure reposant sur la technologie conoscopique, et utilisé habituellement pour des applications industrielles [1]. Le système réalisé est donc composé d'un conoscope (Optimet), permettant une mesure locale de la position de la surface, et d'un dispositif de balayage de la surface (Sunny) présentés sur la figure 3.1. Il offre une solution adaptée à la mesure tridimensionnelle des objets étudiés (objets tests, petit animal), avec une précision équivalente aux systèmes à base de triangulation [2]. De plus, l'ensemble du système est compact et facilement intégrable dans le montage expérimental du tomographe optique.

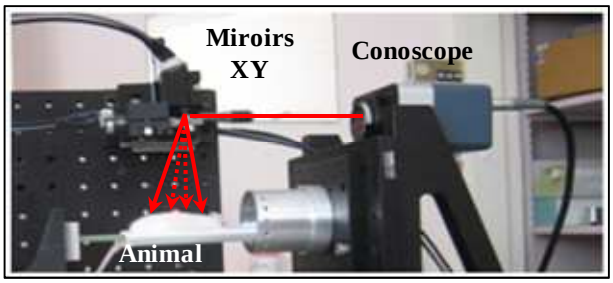


Figure 3.1: Montage conoscopique.

3.1.1 Principe de la conoscopie

Le fonctionnement du conoscope est basé sur l'utilisation d'un cristal uniaxe placé entre deux polariseurs circulaires [3]. Le schéma du conoscope utilisé et le principe physique de la conoscopie sont illustrés sur la figure 3.2.

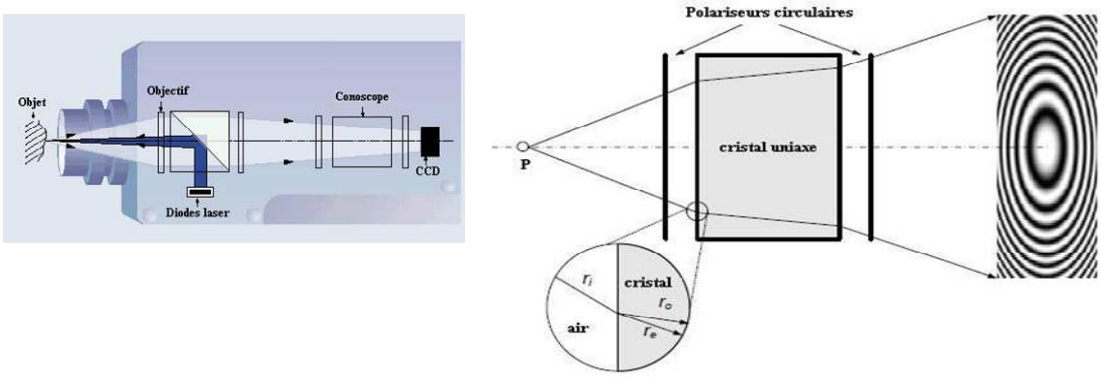


Figure 3.2: Schéma du conoscope et principe de l'holographie conoscopique.

Un faisceau lumineux émis par une diode laser éclaire un point P de la surface de l'animal ou de l'objet étudié. Cet objet diffuse le faisceau, dont une partie est collectée par l'objectif du conoscope, selon un cône dont l'ouverture est déterminée par la distance du point P au conoscope Z_C. Un rayon collecté traverse un premier polariseur circulaire qui génère deux faisceaux de polarisations orthogonales. Ces deux faisceaux se propagent, l'un suivant le mode ordinaire, l'autre suivant le mode extraordinaire, avec des vitesses différentes dans un cristal biréfringent. La vitesse du mode ordinaire est constante, tandis que celle du mode extraordinaire est fonction de l'angle que fait le rayon avec l'axe optique. A la sortie du cristal, les deux rayons déphasés traversent un second polariseur circulaire. Les deux rayons retrouvent un même état de polarisation, et peuvent donc interférer de manière constructive ou destructive selon leur différence de phase.

L'interférogramme enregistré par un capteur CCD dépend des caractéristiques de l'appareil et de la distance Z_C. En particulier, l'interfrange est inversement proportionnel au carré de Z_C [2,4].

3.1.2 Enregistrement des coordonnées de la surface

Le conoscope est destiné à enregistrer la surface du petit animal en mesurant les distances au conoscope d'un ensemble de points diffusant différents. Il a donc fallu lui adjoindre un système de balayage de la surface. Le dispositif utilisé est composé de deux miroirs galvanométriques perpendiculaires qui permettent de balayer la surface dans les directions direction X et Y (Figure 3.1). L'efficacité de ce type de montage a été validée dans plusieurs domaines de la photonique [5].

Chacun des miroirs est contrôlé par un servomoteur piloté lui même par une carte d'alimentation. Les angles de déviation des miroirs sont proportionnels à la tension d'entrée de la carte d'alimentation correspondante. Celle-ci est contrôlée par le logiciel du tomographe, et produite par une carte d'entrée sortie National Instrument. Les signaux de commande consistent en des échelons de tension, incrémentés à chaque itération du programme de pilotage. Pour chacune des 2 voies, les consignes

sont les tensions minimale V_{min} et maximale V_{max} et le nombre de pas de balayage. Un balayage complet est réalisé selon l'axe X, puis la valeur de Y est incrémentée d'un pas, la tension selon X est remise à sa valeur minimale, avant un nouveau balayage selon X.

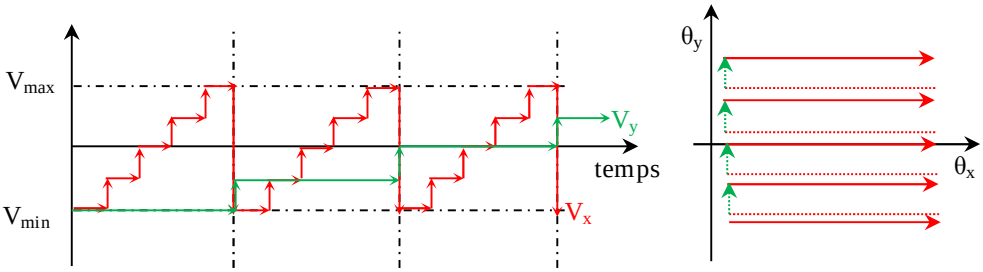


Figure 3.3 : Signaux de commande des servomoteurs (gauche) et déviations angulaires du laser (droite).

3.1.3 Calibration du dispositif de mesure de surface

L'ensemble conoscope - miroirs doit être calibré pour permettre une mesure précise des coordonnées (x,y,z) des points de la surface éclairés par le faisceau laser du conoscope, lors des balayages en X et Y. La figure 3.4 explique le principe de cette calibration réalisée avec un objet plan perpendiculaire à la direction du faisceau laser lorsque les miroirs sont à la tension V = 0. Considérons le miroir X, à la tension V_x correspond l'angle θ_x, selon la relation :

$$\theta_X = \alpha_X V_X \tag{3.1}$$

α_x est le coefficient de calibration du miroir X (en degré/volt). Une relation similaire permet de définit le coefficient de calibration α_y.

Un coefficient de calibration est déterminé à partir de la relation reliant la distance Z_c mesurée par le conoscope et la tension, V_x ou V_y, correspondante :

$$\alpha_X = \frac{1}{V_X}\cos^{-1}\left(d \Big/ \left(Z_c - d'\right)\right) \tag{3.2}$$

avec d' la distance miroir–conoscope.

L'ajustement des variations de Z_c en fonction de la tension V_x, (ou V_y) pour différentes distances d de l'objet au miroir, permet une calibration précise du conoscope.

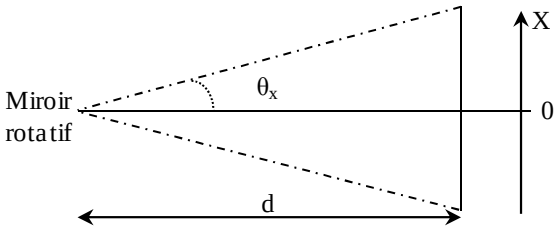


Figure 3.4: Balayage selon l'axe X.

Les mesures de calibration ont fourni les résultats suivants :

$$\alpha_x = 4{,}3 \text{ deg/V} \; ; \; \alpha_y = 4{,}9 \text{ deg/V}$$

Ces résultats sont proches des données du constructeur.

Une fois cette calibration réalisée, il est facile de mesurer les coordonnées (x,y,z) d'un point P situé à la distance Z_c du conoscope, pour des tensions des miroirs V_x et V_y.

3.1.4 Reconstruction de la surface

L'objet est placé sur le support du tomographe, situé à une distance connue des miroirs et du conoscope. Les coordonnées 3D de la surface de cet objet et les utiliser dans la reconstruction du modèle numérique de l'objet étudié.

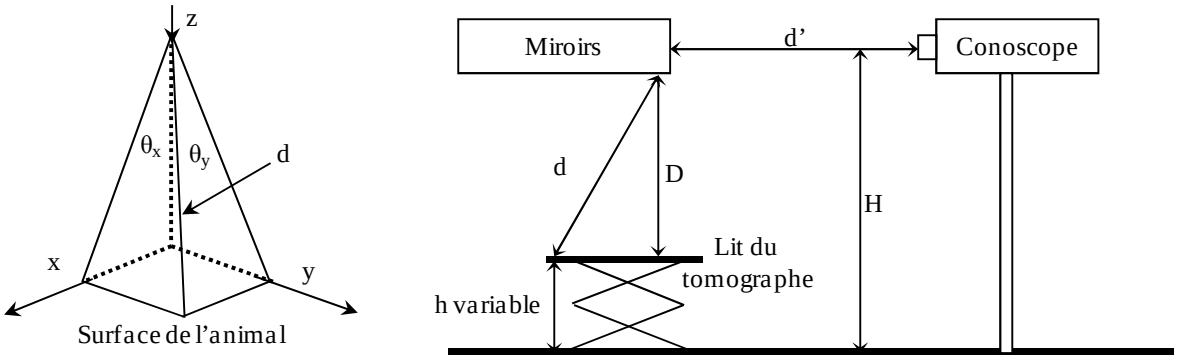


Figure 3.5: Montage conoscopique (droite) et repère utilisé (gauche).

Les données brutes acquises par balayage de la surface de l'animal sont bruitées. Elles sont filtrées par un filtre passe-bande (filtre de Butterworth), puis stockées dans une matrice 2D.

En prenant comme origine des axes les centres des miroirs, supposés confondus, et en appelant d' la distance miroir–conoscope, on peut exprimer les coordonnées d'un point P sur la surface de l'objet. La mesure au conoscope permet de calculer la distance miroir – point P sur l'objet d. Elle est égale à d = Z_C –d'. Les coordonnées (x, y, z) du point P s'expriment en fonction de d et des angles de déviation des faisceaux selon:

$$\begin{cases} z = \dfrac{d}{\sqrt{\left(1+\tan^2(\theta_x)+\tan^2(\theta_y)\right)}} \\ x = z\tan(\theta_x), \quad y = z\tan(\theta_y) \end{cases} \tag{3.3}$$

La figure 3.6 présente l'image conoscopique d'un objet plan horizontal, placé au niveau du lit du tomographe. Les variations de hauteur z mesurées sont inférieures à 0,2 mm, sur l'ensemble de la surface balayée de 40 mm x 50 mm.

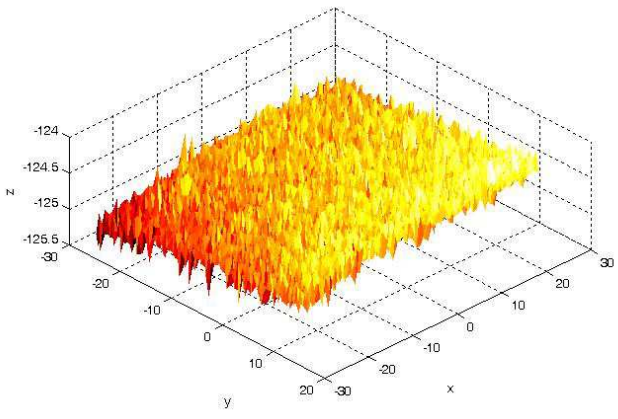


Figure 3.6 : Image conoscopique d'un objet plan horizontal. Balayage de 128 x 128 points correspondant à une surface de 40 x 50 mm. Axes de la figure en mm.

3.2 Tomographie optique

Pour les raisons exposées dans les chapitres précédents, le laboratoire a décidé de réaliser un système de tomographie optique diffuse résolu en temps [6]. Après une rapide description de l'ensemble de ce tomographe, nous considérerons plus en détail les éléments qui le composent.

3.2.1 Description d'ensemble

Le système assemblé est schématiquement illustré sur la figure 3.6. L'éclairage de l'animal est réalisé par quatre diodes laser fibrées, fonctionnant à 4 longueurs d'onde. Les diodes sont pilotées par un système à multicanaux. Les diodes sont pilotées en mode séquentiel, avec une fréquence de répétition maximale de 80 MHz. Les faisceaux lumineux des quatre diodes sont injectés dans une fibre optique quadrifurquée, la connexion se faisant au niveau de l'entrée dans la boîte noire dans laquelle sont réalisées les acquisitions. La sortie commune de cette fibre est montée sur la partie fixe d'un multiplexeur mécanique. Ce dispositif réalisé au laboratoire permet d'éclairer l'animal ou l'objet étudié avec 4 longueurs d'onde et de réaliser un balayage de la surface de l'animal, en synchronisant les déplacements des sources et des détecteurs.

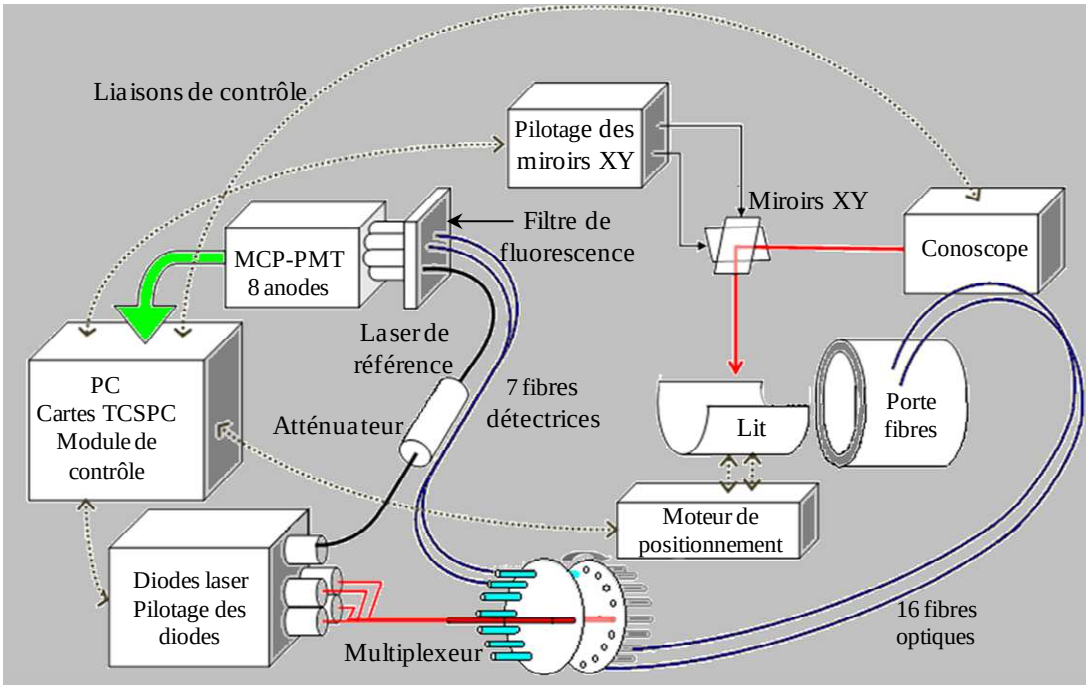


Figure 3.6: Schéma bloc du tomographe.

Le multiplexeur mécanique permet un couplage entre l'extrémité commune de la fibre 4-1, avec une des 16 fibres montées sur la partie mobile du détecteur, fixée sur une table de rotation motorisée. Une rotation de cette table d'un angle égal à 22,5° permet d'injecter la lumière dans la fibre voisine. Seize pas de rotation successifs de 22,5° permettent d'injecter la lumière dans les 16 fibres optiques qui transportent la lumière du multiplexeur à un support des fibres qui entoure l'animal positionné sur le lit du tomographe. Ce support est un cylindre de 40 mm de diamètre, les fibres étant positionnées tous les 22,5° sur ce support.

Le multiplexeur mécanique décrit ci-dessus sert également à la sélection des fibres de détection. Pour cela, sept fibres optiques sont montées sur la partie fixe du multiplexeur, en regard de 7 des 16 fibres allant du support du tomographe au multiplexeur. Ces 7 fibres transportent la lumière issue de l'objet étudié vers les détecteurs de lumière. Ainsi, une rotation du multiplexeur d'un angle de 22,5°, change en même temps la position de la source et des détecteurs, ces derniers restant à la même position angulaire par rapport à la source.

La lumière provenant du multiplexeur est acheminée par des fibres optiques multimodes de diamètre de cœur égal à 1500 µm vers 7 des 8 guides de lumière (bundles) ayant une forme adaptée à l'entrée de la photocathode du détecteur. Celui-ci est un tube photomultiplicateur à galettes de microcanaux à 8 anodes. Chacune des 8 voies de sortie est suivie d'une carte de comptage de photons uniques résolus en temps.

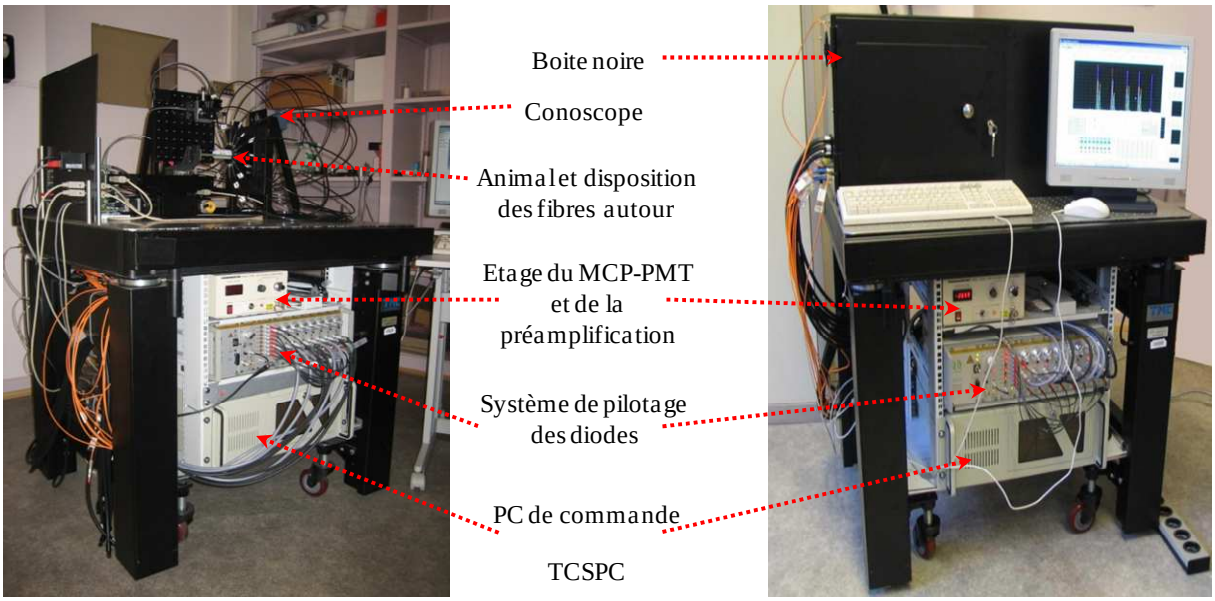


Figure 3.7 : Tomographe réalisé: boite noire enlevée (gauche), et en position (droite).

Lors des mesures de fluorescence, un filtre optique passe haut est inséré dans un espace ménagé séparant les fibres optiques et les guides de lumière. Ce filtrage permet d'éliminer les photons d'excitation.

Le huitième canal du MCP-PMT est généralement utilisé pour définir l'origine des temps et la correction de la gigue expérimentale. Pour cela, cette voie de référence est directement éclairée par une 5° diode laser picoseconde, via un atténuateur réglable fibré.

Le positionnement en translation des animaux sous le conoscope puis dans le champ de vue du tomographe est assuré par une table de translation motorisée. Cette translation, ainsi que la rotation de la partie mobile du multiplexeur, sont assurés par 2 moteurs pas à pas via une carte de commande.

L'animal sur le lit du tomographe, le multiplexeur et les dispositifs d'imagerie de surface et de tomographie sont placés dans une boîte noire fixée sur une table mobile de laboratoire d'optique (63-500 TMC). Toutes les parties électroniques et l'ordinateur, un PC industriel contenant les 8 cartes de comptage, la carte de pilotage des tables motorisées et la carte de commande des miroirs du système d'imagerie de surface, sont placés sous cette dernière comme le montre la figure 3.7.

3.2.2 Sources de lumière

3.2.2.1 Diodes laser

Le système comprend 4 diodes laser (Picoquant GmBH) à différentes longueurs d'onde dans le proche infrarouge (690, 785, 830 et 870 nm). Chacune de ces diodes laser est équipée d'un système de collimation et d'une fibre optique multimode de cœur égal à 50 µm, préalablement alignée sur la diode laser. La puissance délivrée peut être ajustée. Les puissances moyennes et crêtes maximales annoncées par le constructeur sont respectivement de 10 et 400 mW à 80 MHz.

Les profils temporels des impulsions lumineuses ont été mesurés, pour différentes puissances moyenne, à l'aide d'une caméra à balayage de fente [7]. Les résultats correspondant à une diode à 785 nm (80 MHz) sont présentés sur la figure 3.8. On observe qu'une augmentation de la puissance au dessus de 1 mW correspond à un élargissement temporel de l'impulsion.

La largeur à mi-hauteur (Full Width at Half Maximum - FWHM) a été utilisée pour comparer les profils obtenus à différentes puissances. La FWHM des impulsions reste relativement constante (55 ± 5 ps), pour des puissances inférieures à 1 mW.

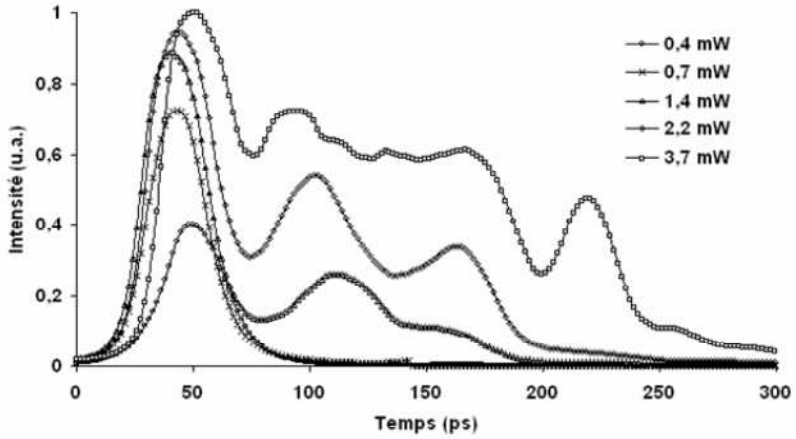


Figure 3.8: Profils temporels des impulsions, pour différentes puissances moyennes. Diode à 785 nm avec une fréquence de 80 MHz [7].

3.2.2.2 Pilotage des diodes laser

L'émission de lumière des quatre diodes laser est déclenchée lorsqu'elles reçoivent les signaux électriques générés par 4 des 8 modules de pilotage après la réception du signal du séquenceur (Sepia, Picoquant). Ce dernier permet de répartir séquentiellement le signal de base dans les huit voies (4 pour notre application) comme illustré par la figure 3.9.

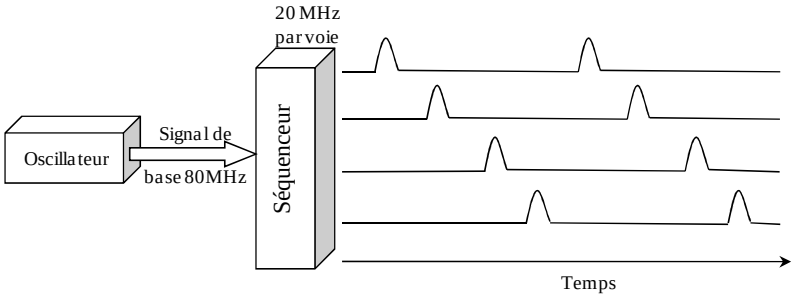


Figure 3.9: Principe de pilotage des diodes laser.

L'oscillateur génère un signal de base à la fréquence, 80 MHz au maximum ou des fréquences inférieures obtenues par des divisions par 2 successives. La fréquence du signal à la sortie de chacune des 4 voies du séquenceur est égale à la fréquence de base à l'entrée divisée par le nombre de voies sélectionné, dans ce cas 20 MHz.

3.2.3 Fibres optiques

Deux types de fibres optiques ont été utilisés dans le montage du tomographe.

3.2.3.1 Fibres d'illumination et de détection

Il s'agit des fibres reliant le multiplexeur au cylindre supportant les fibres du tomographe autour de l'animal. Ces fibres (HCG 1000, Ocean Optics) sont des fibres silice/silice, multimodes, à saut d'indice. Elles ont une ouverture numérique (ON) de 0,22, un cœur de diamètre 1000 µm et une longueur de 1,2 m. Le constructeur annonce qu'elles sont optimisées pour les transmissions dans le domaine du visible mais bien adaptées à notre application (Figure 3.10). Ces fibres ont un cœur de silice pure « high OH- », et une gaine de silice dopée. Le tout est protégé par une gaine intermédiaire de polymère dur de type HCS (Hard Clad Silica) pour améliorer leur résistance mécanique et

optimiser le guidage des modes de gaine lors de l'injection de la lumière, et d'un revêtement extérieur de Tefzel.

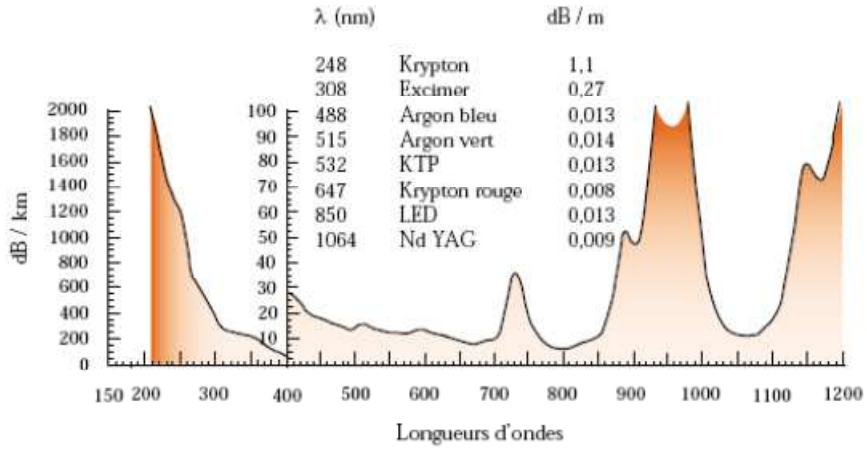


Figure 3.10 : Atténuation des fibres optiques HCG1000 [8].

3.2.3.2 Fibres du multiplexeur vers les bundles

Ces fibres (HCP1500, Sedi) font partie de la famille des fibres HCS mais leur silice est de type « low OH- ». Comme les précédentes, ce sont des fibres multimodes à saut d'indice mais de type silice/polymère. Ces fibres ont une grande ouverture numérique de 0,37, un plus grand diamètre de cœur de 1500 µm et une longueur de 40 cm (Figure 3.11). Elles sont protégées par une gaine de polymère dur dopée au fluor, puis d'une gaine extérieure de Tefzel.

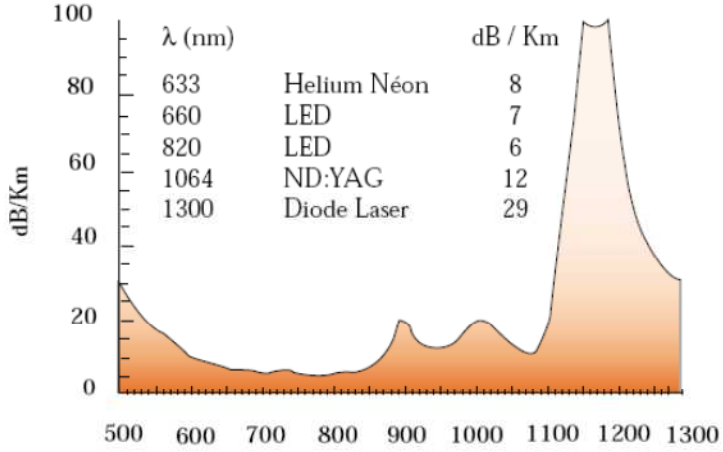


Figure 3.11 : Atténuation des fibres optiques HCP1500 [8].

La figure 3.12 montre la disposition de ces fibres à l'intérieur du tomographe.

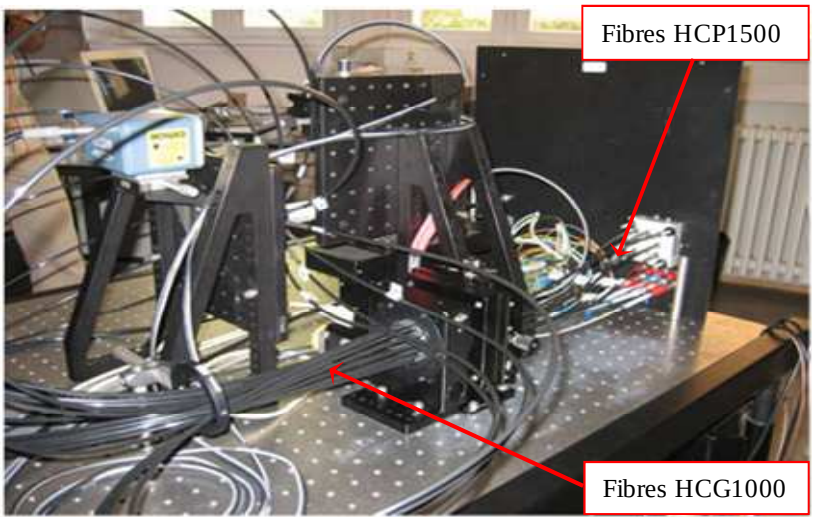


Figure 3.12 : Disposition des fibres à l'intérieur du système.

3.2.3.3 Faisceau de fibres vers PMT

Les fibres HCP1500 sont couplées, via un montage mécanique sur la cloison de la boîte noire, à des faisceaux de fibres optiques spécialement développés par Hamamatsu pour s'adapter aux 8 secteurs de la photocathode du MCP-PMT. Le système de couplage permet d'insérer des filtres optiques 50x50 mm dans les faisceaux. On utilise soit des filtres de fluorescence, soit un ensemble de filtres neutres de DO 0,5, 1 ou 2 pour atténuer certains faisceaux pour équilibrer les 8 voies de détection.

3.2.4 Multiplexeur

Les fibres HCG1000 sont fixées sur le coté mobile du multiplexeur, la fibre 4-1 et les fibres HCP1500 sur son coté fixe. La partie mobile du multiplexeur est montée sur une table de rotation entrainée par un moteur pas à pas (DMT 100, Owis GmbH) [9].

Une première fonction du multiplexeur mécanique est de permettre le couplage entre l'extrémité commune de la fibre 4-1, et une des 16 fibres montées sur la partie mobile du détecteur. Une rotation de cette table d'un angle égal à 22,5° permet d'injecter la lumière dans la fibre voisine. Seize pas de rotation successifs de 22,5° permettent d'injecter la lumière dans les 16 fibres optiques qui transportent la lumière du multiplexeur à un support des fibres qui entoure l'animal positionné sur le lit du tomographe.

Le multiplexeur mécanique sert également à la sélection des fibres de détection. Pour cela, les sept fibres optiques HCP1500 montées sur la partie fixe du multiplexeur sont en regard de 7 des 16 fibres allant du support du tomographe au multiplexeur. Ces 7 fibres transportent la lumière issue de l'objet étudié vers les détecteurs de lumière. Elles sont généralement montées sur le multiplexeur pour permettre d'effectuer des mesures en transillumination. En ce cas, elles sont placées en regard des fibres support du tomographe – multiplexeur situées sur le support entourant l'animal à des angles allant de 112,5 ° à 247,5 °, par pas angulaire de 22,5°, de la fibre d'illumination. Ainsi, une rotation du multiplexeur d'un angle de 22,5°, change en même temps la position de la source et des détecteurs, ces derniers restant à la même position angulaire par rapport à la source. Ce résultat est obtenu sans modification du montage mécanique source/détecteurs sur le support des fibres, autour de l'animal. Ce dernier peut donc être facilement intégré à un dispositif d'imagerie tel qu'une bobine dans un aimant pour l'IRM.

Ainsi, les 16 positions angulaires de la source, chacune étant associée à 7 positions de détecteurs, permettent d'enregistrer 112 TPSF. Un déplacement en translation de l'animal dans le tomographe permet de multiplier ce nombre de TPSF pour une étude 3D sur une épaisseur de tissus aussi grande

que nécessaire. Toutes ces TPSF seront utilisées dans la reconstruction des images des propriétés optiques de cet animal ou objet étudié.

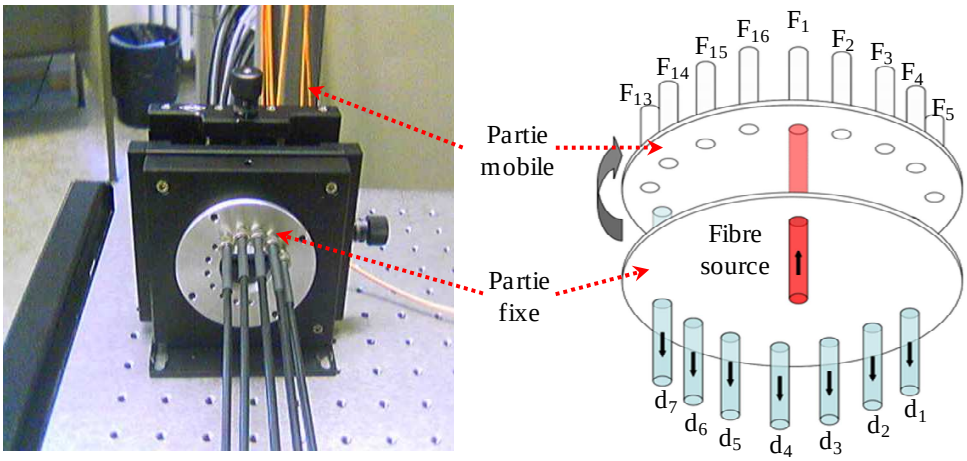


Figure 3.13 : Le multiplexeur (gauche) et un schéma montrant la fixation des fibres (droite).

3.2.5 Positionnement de l'animal

La figure 3.14 montre le dispositif de positionnement de l'animal.

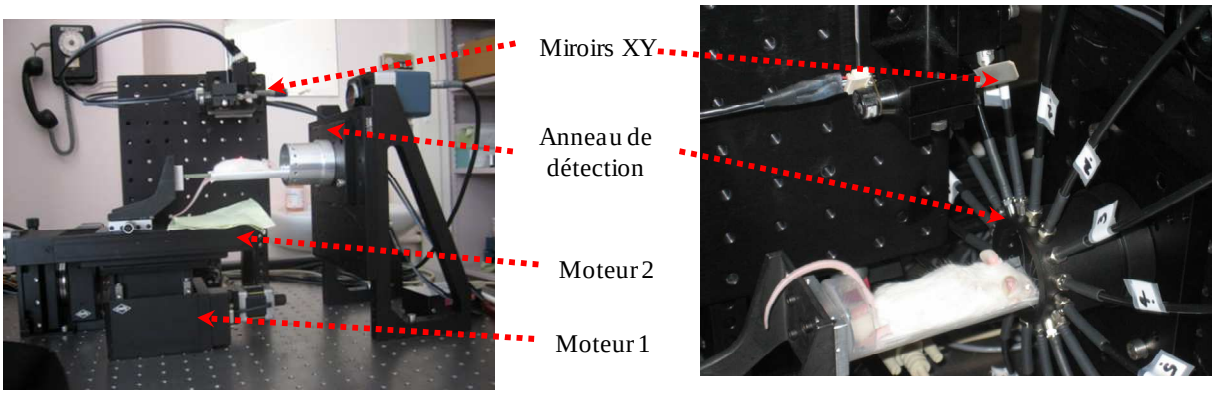


Figure 3.14 : Positionnement de l'animal.

Ce dispositif est constitué du lit du tomographe et de deux tables motorisées. La première (HMV 100-30, Owis GmbH) permet une translation verticale pour centrer l'animal dans le tomographe. La deuxième table (LIMES 90-100, Owis GmbH) [9] permet la translation horizontale afin de positionner l'animal en premier lieu sous les miroirs de balayage XY pour son imagerie de surface puis à l'intérieur de l'anneau de détection pour l'acquisition des TPSF permettant sa TOD 3D.

L'anneau de détection TOD est un support en forme de cylindre de 40 mm de diamètre, qui supportent les fibres optiques d'émission/réception positionnées tous les 22,5°.

3.2.6 Photomultiplicateur à galette de microcanaux (MCP-PMT)

Le choix des modules de comptage de photons TCSPC nécessite l'utilisation de détecteurs ayant un gain suffisant pour fournir une impulsion de sortie détectable afin de travailler en comptage de photon unique. De plus, l'impulsion de sortie doit être assez courte pour séparer les événements de détection à taux de comptage élevé. En même temps, la gigue de temps de transit dans le détecteur doit être petite pour conserver une bonne résolution temporelle.

Parmi les dispositifs photosensibles en usage aujourd'hui, le tube photomultiplicateur à galette de microcanaux (MicroChannel Plate-PhotoMultiplier Tube – MCP-PMT) est un détecteur qui offre une sensibilité extrêmement élevée et une réponse ultra-rapide [10]. Une galette de microcanaux est un multiplicateur d'électrons secondaires. Il consiste en un réseau de millions de tubes capillaires en verre d'un diamètre intérieur d'environ 3 à 15 µm, regroupés dans la forme d'un disque de diamètre inférieur à 1 mm. La paroi de chaque canal est émissive d'électrons secondaires, chacune des extrémités du capillaire est recouverte d'une couche métallique mince qui agit comme une électrode. Une tension est appliquée entre les deux, un champ électrique est ainsi créé dans la direction de l'axe du canal. Après une collision électron-paroi, des électrons secondaires sont émis et accélérés par ce champ et voyagent le long des trajectoires paraboliques déterminés par leur vitesse d'éjection initiale. Par répétition d'émissions d'électrons secondaires le courant d'électrons augmente de manière exponentielle comme le montre la figure 3.15.

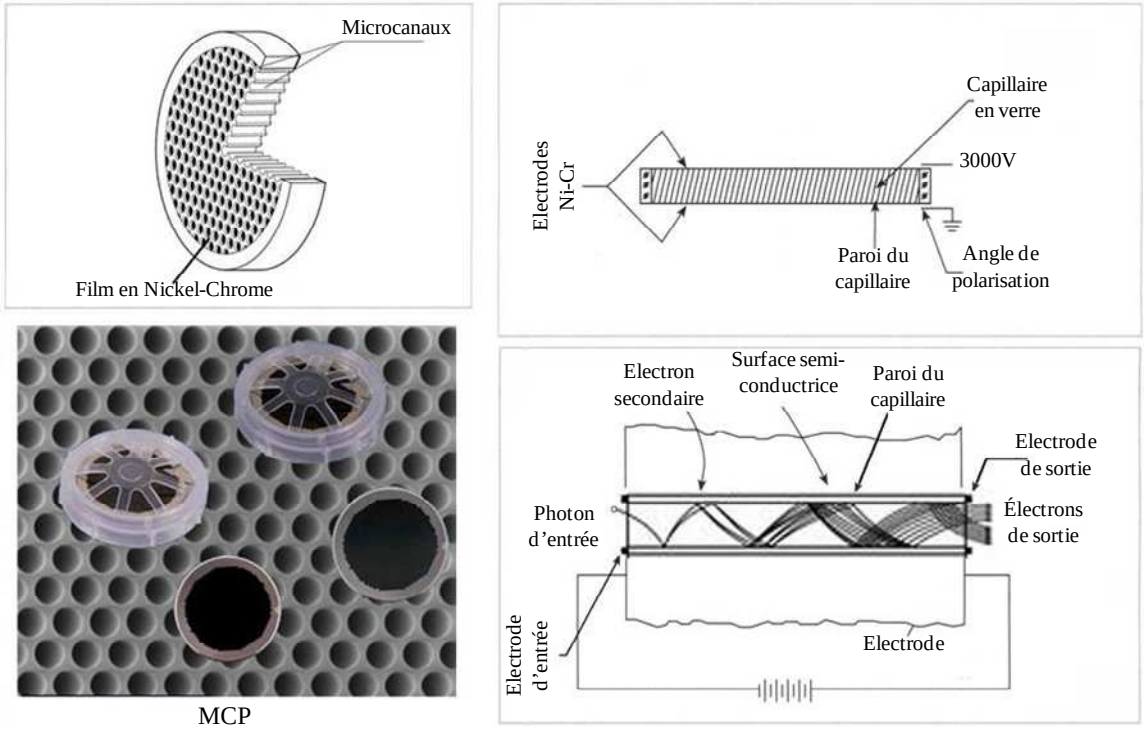


Figure 3.15 : Schéma de principe de fonctionnement du MCP-PMT [10].

Le détecteur utilisé est un tube photomultiplicateur MCP-PMT Hamamatsu R4110U spécialement conçu pour un appareil TOD assemblé par cette société [11]. Il possède une photocathode et huit anodes. La photocathode multi-alcaline S-25 a une sensibilité supérieure à 25 mA/W entre 500 et 850 nm. Le temps de réponse en mode de comptage de photons est de l'ordre de 53 ps, il varie légèrement selon les voies. Le gain utile est de $4{,}8.10^5$ sous une tension de 3kV. Le bruit d'obscurité de 6,4 nA ou de 2,5 coups par seconde en mode de comptage de photons.

En raison de la nature aléatoire du gain du MCP-PMT, l'amplitude des impulsions peut être très variable d'une détection à l'autre.

Les MCP-PMT ont un temps de transit (TT) rapide. Ce dernier est le temps qu'il faut entre la génération de l'électron primaire à la photocathode et l'arrivée du peloton d'électrons correspondant à l'anode. Le temps de transit est un facteur déterminant dans la technique TCSPC. Mais le facteur le plus important est la dispersion de ce temps de transit (TTS) qui détermine la résolution temporelle [12,13,14]. Le TTS de notre MCP-PMT est de 43,7 ps.

Un paramètre de sécurité important à prendre en compte est la fragilité des MCP-PMT aux fortes intensités lumineuses. Cela impose de ne pas dépasser un taux de comptage de 2.10^5 photons par seconde.

3.2.7 Préamplification

La plupart des MCP-PMT génèrent des impulsions entre 20 et 50 mV lorsqu'ils fonctionnent avec un gain maximum. Ces impulsions sont proprement détectées par le discriminateur des modules de comptage de photon TCSPC. Cependant, afin d'améliorer la résolution temporelle, l'immunité au bruit, la précision du seuil de discrimination et la sécurité des modules de comptage un préamplificateur (HFAM, Becker & Hickl, 1,6GHz – 26db) est utilisé en sortie du MCP-PMT. De plus, ce montage permet au MCP-PMT de fonctionner avec un gain et un courant de sortie moyen moins élevés, prolongeant ainsi sa durée de vie [10].

3.2.8 Comptage de photons uniques corrélés au temps (TCSPC)

Cette technique est extrêmement sensible pour l'enregistrement des signaux lumineux de bas niveau avec une résolution temporelle du picoseconde et une précision très élevée.

La technique TCSPC provient de travaux en physique nucléaire et a été utilisée depuis la fin des années 60 [15,16]. La TCSPC est utilisée depuis de nombreuses années pour enregistrer les courbes de déclin de fluorescence de colorants organiques en solution, et plus récemment dans les techniques de microscopie de fluorescence. En raison de la faible intensité et du faible taux de répétition des sources de lumière et la limitation de l'électronique des années 70 et 80, le temps d'acquisition était considérablement long. Ces limitations ont disparu depuis le développement de sources lumineuses rapides et l'introduction du module CPS-300 de Becker & Hickl en 1993.

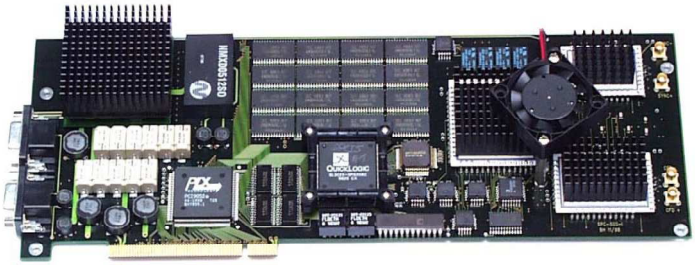


Figure 3.16 : Module TCSPC.

Utilisant un nouveau principe de conversion analogique-numérique, ces modules peuvent être utilisés à des taux de comptage de photons près de 100 fois plus élevé que les TCSPC classiques [10]. De plus, les nouveaux modules sont en mesure d'enregistrer les photons d'un grand nombre de détecteurs simultanément, ce qui accélère considérablement leur temps d'enregistrement.

3.2.8.1 Principe

La technique TCSPC, est basée sur la détection de photons uniques d'un signal lumineux périodique, la mesure des temps de détection et la reconstruction de la réponse temporelle TPSF (Time Point Spread Function) à partir des mesures de temps individuels [16,17,18]. La technique TCSPC utilise le fait que, pour des signaux de bas niveau et de taux de répétition élevé, l'intensité lumineuse est généralement assez faible pour que la probabilité de détecter plus d'un photon dans une période du signal soit négligeable.

Le signal du détecteur consiste en un train d'impulsions réparties de façon aléatoire correspondant à la détection des photons uniques. Il y a plusieurs périodes sans signal, les autres périodes contiennent une seule impulsion qui correspond à la détection d'un photon unique. Quand un photon est détecté, le temps de l'arrivée de l'impulsion du détecteur est mesuré. Les événements sont collectés dans une mémoire par l'ajout d'un «1» dans un emplacement de mémoire ayant une adresse proportionnelle au temps de détection. La TPSF est reconstruite par l'accumulation de l'ensemble des photons uniques détectés, en fonction de leurs temps d'arrivée respectifs, comme illustré par la figure 3.17.

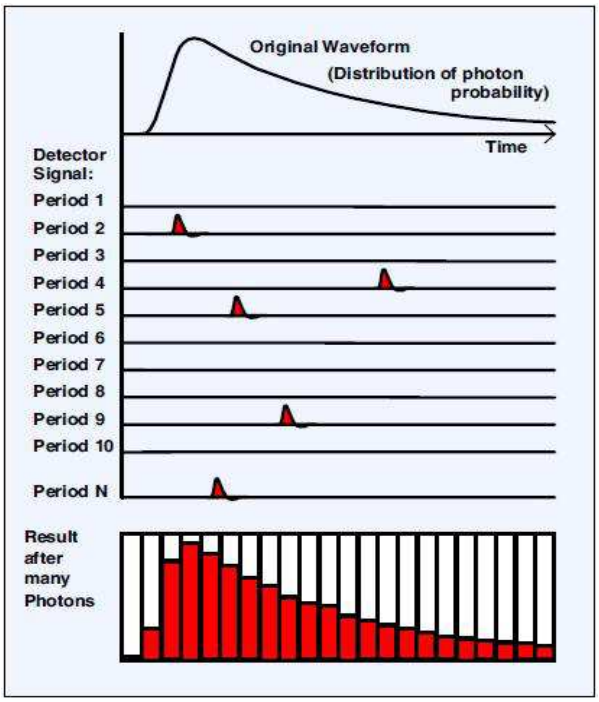


Figure 3.17 : Principe de la technique TCSPC [10].

3.2.8.2 Caractéristiques

Notre appareil est équipé de 8 cartes SPC 134 Becker et Hickl, adaptées à la fois à la fréquence de répétition des impulsions lumineuses, aux flux de photons sur le détecteur dans les expériences de TOD et TODF envisagées et aux caractéristiques du MCP-PMT de notre dispositif.

La résolution temporelle, dans la méthode TCSPC est limitée par le TTS du détecteur, soit 43,7 ps dans notre cas. Le taux d'échantillonnage, c'est à dire la densité de points du signal sur une TPSF enregistrée, doit être supérieur au double de la fréquence de la composante la plus rapide présente dans le signal. Par conséquent, les canaux temporels dans lesquels les photons sont enregistrés, doivent être plus petits que la largeur de la réponse impulsionnelle (RI) du détecteur, qui est ici de 53 ps.

Selon la précision désirée, l'intensité lumineuse ne doit pas être supérieure à seuil donné (détection de 0,01 à 0,1 photon par période de signal). Si le taux de comptage est trop élevé, la détection de plusieurs photons par période de signal ne peut plus être ignorée. Compte tenu d'une fréquence de répétition des diodes laser de 80 MHz, le taux de comptage maximum toléré pour le MCP-PMT (10^5 photons/s) assure un fonctionnement en photon unique. L'intervalle de temps moyen d'arrivée entre 2 photons consécutifs, 2 µs, est de plus largement supérieur au temps mort des SPC 134 qui est de 125 ns.

En pratique, nous utilisons les cartes de comptage avec les spécifications suivantes. Le nombre de canaux est égal à 4096. L'intervalle de temps de mesure total permet l'acquisition de 4 TPSF successives, à 4 longueurs d'onde différentes. A la fréquence de 80 MHz, cela correspond à un intervalle de 50 ns. La résolution temporelle est donc égale à 50000/4096 ps, soit environ 12,2 ps.

3.2.8.3 Fonctionnement

Le schéma de l'architecture d'un module TCSPC classique [19] est illustré par la figure 3.18.

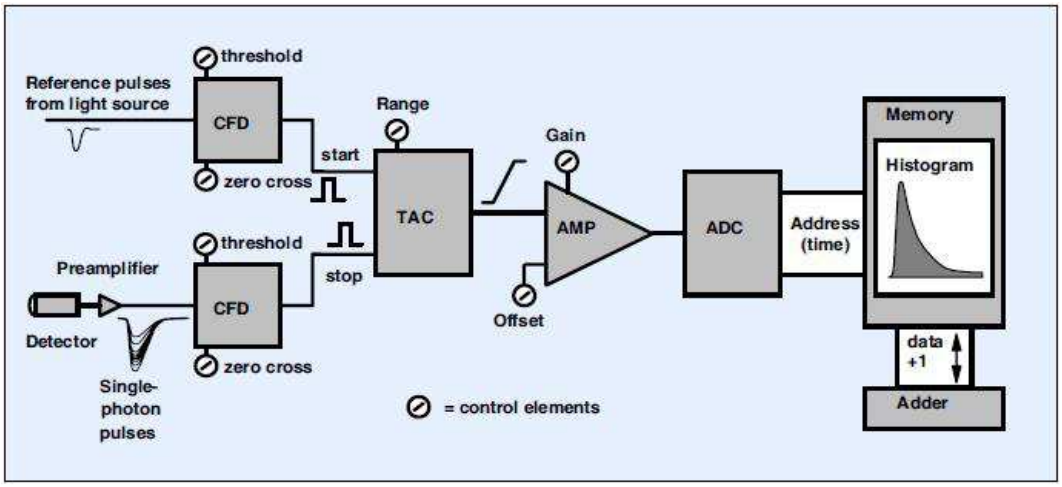


Figure 3.18: Architecture d'un module TCSPC [10].

Le détecteur, généralement un PMT, délivre une impulsion (Single Electron Response ou SER) pour chaque photon détecté. Ces impulsions sont injectées à l'entrée d'un discriminateur rapide. En raison du mécanisme d'amplification aléatoire dans le détecteur, une gigue considérable est observée sur leurs amplitudes. Même si le discriminateur est infiniment rapide, la gigue d'amplitude induit une gigue temporelle de l'ordre du temps de montée des impulsions. Par conséquent, un discriminateur à fraction constante (CFD - Constant Fraction Discriminateur) est utilisé afin de fournir un signal qui soit corrélé aussi précisément que possible avec la localisation temporelle de la SER et non pas avec son amplitude. Ceci est réalisé par déclenchement lors du passage à zéro de la somme du signal d'entrée et du même signal inversé et temporellement décalé. Ainsi, la position temporelle du pulse généré dépend du passage à zéro et non pas de l'amplitude du signal d'entrée.

Un paramètre (CFD-ZCL, CFD Zero Crossing Level) permet d'ajuster le niveau du passage à zéro afin de compenser les faibles décalages continus de tension dans les circuits électroniques. Un seuil est associé au CFD afin de rejeter les impulsions d'entrée ayant des amplitudes inférieures à ce seuil.

Un deuxième CFD est utilisé pour obtenir une impulsion de référence de synchronisation. Le signal d'entrée de ce deuxième CFD provient du signal de déclanchement des diodes laser.

Les impulsions de sortie des deux CFD sont utilisées comme des impulsions « start » et « stop » d'un convertisseur temps-amplitude (TAC – Time to Amplitude Converter). Le TAC génère un signal de sortie proportionnel au temps écoulé entre le « start » et le « stop ».

Ainsi le TAC génère une tension dépendant linéairement de la position temporelle du photon détecté. Dans le schéma du module TCSPC classique, le démarrage du TAC est assuré par le signal de synchronisation plutôt que par le signal détecté, le faisant ainsi fonctionner à une fréquence de déclenchement élevée. Afin de réduire cette dernière, une nouvelle configuration « start-stop » inversée a été préférée car la fréquence du signal, qui est celle de la détection des photons f_d, est très inférieure à celle du signal de synchronisation f_i.

Le signal à la sortie du TAC est amplifié à l'aide d'un amplificateur à biais puis envoyé à un convertisseur analogique digital (ADC - Analog to Digital Converter). Le signal à la sortie de l'ADC est l'équivalent numérique du temps de détection des photons. L'ADC doit fonctionner avec une précision extrêmement élevée car toute non-uniformité entre les différents canaux induit une variation systématique dans le nombre de photons dans les canaux, créant du bruit et faussant la TPSF enregistrée. Le nombre de canaux disponibles varie de 64 à 4096 canaux, ce qui correspond à une résolution de l'ADC (ADC-res) ajustable de 6 à 12 bits.

La réalisation d'une mesure en continu est impossible à cause du temps nécessaire à la lecture et le stockage des résultats. L'utilisation de deux mémoires remplies et lues séquentiellement peut surmonter cette limitation.

3.3 Objets tests

Dès 1959, les deux chercheurs britanniques (William Russel et Rex Burch) ont mis en place une base éthique aux expérimentations biomédicales sur petit animal [20]. Connue sous le nom de règle des 3R (Remplacement, Réduction et Raffinement) sont désormais inscrites dans les textes de lois européennes [21]. Des solutions alternatives ont été développées, notamment via la mise au point de nouvelles techniques d'imagerie *in vitro,* qui ont conduit à une diminution très nette du nombre d'animaux utilisés.

Ce nombre peut être réduit d'avantage par l'utilisation d'objets test qui reprennent les caractéristiques des tissus des animaux et les remplacent durant l'étape d'évaluation et d'amélioration des algorithmes de reconstruction.

Les tissus biologiques sont des milieux hétérogènes dans lesquels la répartition des absorbeurs et des diffuseurs est souvent très complexe. Cependant, l'équation de diffusion gouvernant la propagation de la lumière dans ces milieux complexes limite à deux paramètres optiques les caractéristiques macroscopiques d'un volume homogène : les coefficients d'absorption μ_a et de diffusion réduite μ_s'. Ainsi, la validation de la fidélité des objets simulant les tissus se limite à la modélisation de leurs coefficients d'absorption et de diffusion.

3.3.1 Propriétés optiques des matériaux utilisés

Les objets test sont composés de trois ingrédients :

- ✓ Une matrice transparente : une résine Polyester préaccélérée, transparente (n=1,54), et son catalyseur : peroxyde de méthyléthylcétone (Roth-Sochiel N° C647.1) [22].
- ✓ Des particules diffusantes : Oxyde de Titane (IV) (Sigma-Aldrich, T-8141) : TiO_2 (n=2,6) [23].
- ✓ Un absorbeur : encre de Chine (Lefranc Bourgeois).

Au vu de la complexité du mélange, la détermination de ces propriétés optiques s'avère difficile. Une étude de caractérisation complète a été réalisée durant la thèse de Zint [24]. La résine utilisée actuellement n'étant pas la même, une nouvelle étude a été menée afin d'obtenir le nouveau coefficient de diffusion réduit. Elle est basée sur l'ajustement des données mesurées sur un objet de dimensions telles (diamètre = 100 mm, hauteur = 35mm) qu'il peut être considéré comme une tranche semi-infinie pour des études en réflexion et des distances entre fibres comprises entre 15mm et 28mm.

Il est ainsi possible d'utiliser une solution analytique de l'équation de diffusion, qui exprime le signal réfléchi à la surface de la tranche, selon l'équation suivante [25]:

$$R(\rho,d,t) = A(4\pi\kappa c)^{-3/2} t^{-5/2} \exp\left(-\mu_a ct - \frac{\rho^2}{4\pi ct}\right). \left[z_0 \exp\left(-\frac{{z_0}^2}{4\pi ct}\right) - (2d - z_0)\exp\left(-\frac{(2d-z_0)^2}{4\pi ct}\right) + (2d+z_0)\exp\left(-\frac{(2d+z_0)^2}{4\pi ct}\right)\right] \quad (3.10)$$

A est un coefficient de normalisation, $z_0 = L_s$' la position de la source isotrope dans le milieu, d l'épaisseur de l'objet et ρ la distance inter-optodes.

En effectuant deux mesures pour deux distances différentes ρ_1 et ρ_2 et en négligeant μ_a devant μ_s', il est possible d'utiliser le rapport des deux mesures pour déterminer le coefficient de diffusion réduit en utilisant l'équation :

$$\frac{R(\rho_1,d,t)}{R(\rho_2,d,t)} = \exp\left(\frac{\rho_2{}^2-\rho_1{}^2}{4\kappa ct}\right) \tag{3.11}$$

L'ajustement entre les profils temporels mesurés et simulés nécessite la convolution de ces derniers avec la réponse impulsionnelle du système (RI). Afin de limiter au maximum l'erreur engendrée par cette étape, les mesures ont été menées sur un appareil composé d'un laser Titane – saphir femtoseconde et d'une caméra à balayage de fente, ayant une RI inférieure à 10 ps [24].

L'analyse des données expérimentales a permis de démontrer, à 785 nm, qu'une concentration de 0,74 mg/ml de TiO_2 correspond à un coefficient μ_s' de 0,63 mm^{-1} [7].

Le coefficient d'absorption est déterminé, pour un volume d'encre de Chine donné, par la formule suivante :

$$\mu_a = \mu_{a\,résine} + \mu_{a\,encre}\frac{V_{encre}}{V_{totale}} \tag{3.12}$$

$\mu_{arésine}$ est la contribution en absorption de la résine, égale à 0,001mm^{-1} (à 800nm) et V_{encre}, V_{totale} sont les volumes de l'encre et le volume total respectivement. μ_{aencre} est systématiquement mesuré, pour la concentration d'encre utilisée, avec un spectrophotomètre.

3.3.2 Fabrication des objets tests

Le TiO_2 et l'encre de Chine sont mélangés dans de l'éthanol absolu. Le TiO_2 ayant une grande affinité pour l'eau, qui elle même n'est pas miscible avec la résine, se dissoudrait de préférence dans la partie aqueuse et serait séparé de la résine en cas d'utilisation d'éthanol non absolu. Le volume du mélange ne doit pas dépasser 2% du volume total de la résine. Ce mélange est homogénéisé en le plaçant 15 minutes sous ultrasons.

Le mélange est ensuite ajouté à la résine. L'ensemble est homogénéisé de nouveau en le plaçant 5 minutes aux ultrasons. Un volume, 1 à 2% du volume total, de catalyseur est ajouté au mélange final. Les objets sont immédiatement coulés dans leur moule sous hotte, couverts et laissés pour polymérisation 24 heures à température ambiante.

Les objets durcis sont usinés selon les dimensions souhaitées, ce qui permet d'éliminer les irrégularités de surface et de dépolir les faces externes.

Des inclusions avec des propriétés optiques différentes, par utilisation de résines ayant des concentrations différentes en TiO2 et/ou encre, sont coulées après perçage de trous à des emplacements prédéterminés.

3.3.3 Objets tests cylindriques

3.3.3.1 Cylindres à inclusions avec symétrie axiale

Les fibres optiques utilisées dans le tomographe sont fixées sur un cylindre de 40 mm de diamètre. Pour les études de validation des méthodes de reconstruction, des séries de six objets tests sont fabriqués simultanément, avec le même mélange préparé selon la méthode décrite ci-dessus.

Trois cylindres ont été fabriqués afin de valider les algorithmes de reconstruction en contact. Ces objets consistent en des cylindres de 40 mm de diamètre et 60 mm de hauteur.

Trois autres cylindres ont été réalisés pour la validation des algorithmes de reconstruction selon l'approche sans contact. Ces objets cylindriques ont un diamètre de 28 mm et une hauteur de 60 mm. L'objectif est de valider la modélisation de la propagation de la lumière dans l'espace séparant l'extrémité des fibres de la surface de ces cylindres.

Chacune de ces séries comporte trois objets différents. Le premier est un cylindre homogène. Le second contient deux inclusions de propriétés optiques différentes. Le dernier est percé d'un trou destiné à contenir une suspension fluorescente. Les géométries des objets contenant des inclusions sont détaillées ci-dessous.

3.3.3.2 Cylindres à deux inclusions avec μ_a, μ_s' différents

Ces objets ont la même forme que l'objet homogène C (Figure 3.19). De plus, ils contiennent deux inclusions cylindriques C_1 et C_2 de même hauteur que C et ayant des coefficients optiques différents. Ces objets sont utilisés pour simuler les hétérogénéités en propriétés optiques présentes dans les tissus biologiques. Les dimensions et positions des inclusions sont représentées dans les coupes illustrées sur la figure 3.19.

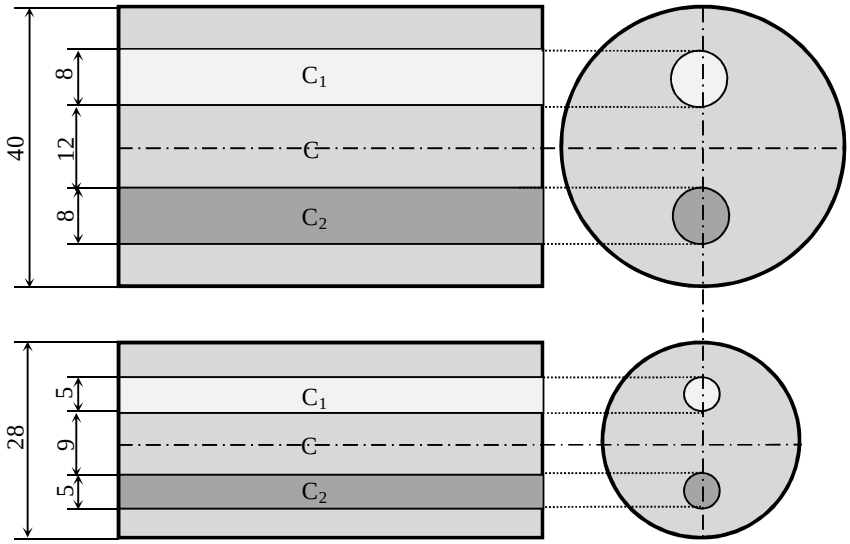


Figure 3.19: Coupes des objets test avec inclusions.

3.3.3.3 Cylindres avec une inclusion fluorescente

Cette inclusion est en fait un trou, de profondeur 50 mm, percé à la même position que l'une des inclusions des objets précédemment décrits. Elle peut être remplie d'une solution fluorescente afin de simuler la fixation d'un fluorophore sur une tumeur.

3.4 Références

[1] Obeso F., Sancho L., Alvarez I., Dıez A., Sirat G., Falessi R., *"Novel on-line surface quality-control for hot slabs in continuous casting"*, La Revue de la Metallurgie, **3**, 267-275, (2002).

[2] Alvarez I., Enguita J. M., Frade M., Marina J., Ojea G., *"On-Line Metrology with Conoscopic Holography: Beyond Triangulation"*, Sensors, **9**, 7021-7037, (2009).

[3] Sirat G. Y., Psaltis D., *"Conoscopic Holography"*, Opt. Lett., **10**, 4-6, (1985).

[4] Gava D., *"Vision conoscopique 3D : calibration et reconstruction"*, Université René Descartes, Paris V, (1998).

[5] MacKinnon D. K., Blais F., Aitken V. C., *"Modeling an Auto-synchronizing Laser Range Scanner"*, American Control Conference, Denver, Colorado, USA, TP09-04, P.1-6 - NRC 45840, (2003).

[6] Montcel B., Chabrier R., Poulet P., *"A time resolved and multi-wavelength, fluorescence and diffuse optical tomography system for small animals"*, Proc. SPIE, **5859**, 132-140, (2005).

[7] Montcel B., "*Tomographie optique diffuse résolue en temps: Applications fonctionnelles en neurosciences"*, Université de louis Pasteur, (2005).

[8] http://www.sedi-fibres.com/

[9] Owis GmbH, Im Gaisgraben 7, D-79219 Staufen, Allemagne, http://www.owis-staufen.de/.

[10] Becker W., *"The bh TCSPC handbook"*, 3rd edition, Avril (2008).

[11] Eda H., Oda I., Ito Y., Wada Y., Oikawa Y., Tsunazawa Y., Takada M., Tsuchiya Y., Yamashita Y., Oda M., Sassaroli A., Yamada Y., Tamura M., *" Multichannel time-resolved optical tomographic imaging system"*, Rev. Sci. Instrum., **70**, 3595-3602, (1999).

[12] Akatsu M., Enari Y., Hayasaka K., Hokuue T., Iijima T., Inami K., Itoh K., Kawakami Y., Kishimoto N., Kubota T., Kojima M., Kozakai Y., Kuriyama Y., Matsuishi T., Miyabayashi Y., Ohshima T., Sato N., Senyo K., Sugi A., Tokuda S., Tomita M., Yanase H., Yosino S., *"MCP-PMT timing property for single photons"*, Nucl. Instr. Meth., **528**, 763-775, (2004).

[13] Kume H. (ed.), Photomultiplier Tube, Hamamatsu Photonics K.K., (1994).

[14] Kume H., Koyama K., Nakatsugawa N., Suzuki S., Fatlowitz D., *"Ultrafast microchannel plate photomultipliers"*, Appl. Opt., **27**, 1170-1178, (1988).

[15] Meiling W., Stary F., *"Nanosecond pulse techniques"*, Akademie-Verlag, Berlin, (1963).

[16] Yguerabide J., *"Nanosecond fluorescence spectroscopy of macromolecules"*, Meth. Enzymol., **26**, 498-578, (1972).

[17] Becker W., *"Advanced time-correlated single-photon counting techniques"*, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, (2005).

[18] O'Connor D.V., Phillips D., *"Time-correlated single photon counting"*, Academic Press, London (1984).

[19] Cova S., Bertolaccini M., Bussolati C., *"The measurement of luminescence waveforms by single-photon techniques"*, Phys. Stat. Sol., **18**, 11-61, (1973).

[20] Russel W., Burch R., *"The Principles of Humane Experimental Technique"*, London: Methuen, (1959).

[21] RDT info N°24 - Le magazine de la recherche européenne, "*Une science sans cobaye ?"*, 26-27, Novembre (1999).

[22] Roth-Sochiel, 3 rue de la chapelle, BP 11, 67630 Lauterbourg, France, http://www.rothsochiel.fr/.

[23] Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, BP 701, 38297 Saint Quentin Fallavier, France, http://www.sigmaaldrich.com/.

[24] Zint V., *"Tomographie optique proche infrarouge, résolue en temps, des milieux diffusants"*, Université de Louis Pasteur, (2002).

[25] Patterson M. S., Chance B., Wilson B. C., *"Time resolved reflectance and transmittance for non-invasive measurement of tissue optical properties"*, Appl. Opt., **28**, 2331-2336, (1989).

4 Méthodes de reconstruction d'images

4.1 Equation du transfert radiatif et approximation de la diffusion

Afin de réaliser les images d'un milieu diffusant et absorbant, il est nécessaire d'établir une relation entre l'intensité lumineuse I(r_d, t, λ) recueillie à une certaine distance d'une source lumineuse d'intensité $I_0(r_s, t, \lambda)$, prenant en compte les différents paramètres optiques du milieu, en particulier son coefficient d'absorption $\mu_a(r, \lambda)$ et son coefficient de diffusion réduit $\mu_s'(r, \lambda)$. Compte tenu de la nature ondulatoire de la lumière, les équations de Maxwell semblent être l'outil le plus approprié pour fournir une telle relation. Cependant, ce genre d'approche est trop difficile, dans le cas des milieux très hétérogènes et de géométrie complexe tels les tissus biologiques, pour être mis en pratique.

La deuxième approche potentielle repose sur la théorie du transfert radiatif. L'équation du transfert radiatif ne prend pas en compte les phénomènes d'interférence et de diffraction liés à la nature ondulatoire de la lumière et considère que la propagation de l'énergie lumineuse. Cette théorie établit en fait le bilan énergétique dans un volume donné, tenant compte des flux d'entrée et de sortie et des pertes par absorption dans ce volume.

Cette équation reste cependant encore complexe à résoudre. Elle peut être simplifiée sous certaines hypothèses. Sa simplification la plus populaire en tomographie optique est l'approximation de diffusion. Cette approximation est généralement utilisable dans la fenêtre thérapeutique, domaine spectral où la propagation des photons est essentiellement contrôlée par la diffusion, qui domine largement l'absorption par les tissus.

Ce chapitre présente successivement l'équation du transfert radiatif puis l'équation de diffusion. Nous décrirons ensuite les techniques de résolution de cette dernière équation.

4.1.1 Equation du transfert radiatif

Dans le domaine temporel, l'équation du transfert radiatif (ETR) ou l'équation de transport de Boltzmann décrit l'évolution de la luminance $L(\vec{r},\vec{s},t)$. La luminance d'une source lumineuse est la puissance émise par unité de surface et d'angle solide. Elle s'exprime en [$W.m^{-2}.sr^{-1}$], selon l'équation :

$$\frac{1}{c}\frac{\partial L(\vec{r},\vec{s},t)}{\partial t}+\vec{s}\cdot\nabla L(\vec{r},\vec{s},t)+\left(\mu_a+\mu_s\right)L(\vec{r},\vec{s},t)=\mu_s\iint_{4\pi}L(\vec{r},\vec{s},t)\,f(\vec{s}'\cdot\vec{s})ds'+S(\vec{r},\vec{s},t) \quad (4.1)$$

c la vitesse de la lumière dans le milieu, $f(\vec{s}'\cdot\vec{s})$ est la fonction de phase normalisée définie dans le chapitre 1, probabilité qu'un photon soit diffusé dans la direction $\vec{s}$ depuis la direction $\vec{s}'$. $S(\vec{r},\vec{s},t)$ est l'énergie émise par unité de volume et par unité de temps dans la direction $\vec{s}$.

Plusieurs solutions analytiques de l'ETR ont été proposées dans le cas de géométries simples [1]. Des méthodes de résolution numérique adaptées à des géométries plus complexes ont été développées telles que les méthodes de Monte Carlo [2]. Dans les milieux fortement diffusants, l'approximation de la diffusion permet de simplifier l'ETR. Plusieurs auteurs ont démontré la possibilité d'utiliser l'ETR ou une combinaison de l'ETR et de l'approximation de diffusion, en particulier pour tenir compte de la présence de régions peu diffusantes dans lesquelles l'approximation de la diffusion ne peut être faite [3,5-8].

4.1.2 Approximation de la diffusion

L'ETR est difficile à résoudre et elle est habituellement simplifiée par l'équation de diffusion (ED). Cette approximation suppose que la diffusion de lumière est isotrope, dans un milieu d'albédo voisin de l'unité ($\mu_a << \mu_s$), avant sa détection, ce qui impose que la distance source détecteur soit grande devant la longueur de diffusion de transport.

Nous introduisons les deux grandeurs suivantes: intensité moyenne Φ [W.m^{-2}], et courant moyen $\vec{J}$ [W], liées à la luminance par les relations de définition :

$$\Phi(\vec{r},t) = \int_{4\pi} L(\vec{r},\vec{s},t)\,d\Omega \tag{4.2}$$

$$\vec{J}(\vec{r},t) = \int_{4\pi} \vec{s}L(\vec{r},\vec{s},t)\,d\Omega \tag{4.3}$$

Les termes de l'ETR peuvent être décomposés en harmoniques sphériques par l'approximation P_N [9]. En se limitant à l'approximation d'ordre 1, la luminance L et la source de lumière S se décomposent selon leurs composantes isotropes et anisotropes en :

$$L(\vec{r},\vec{s},t) = \frac{1}{4\pi}\left(\Phi(\vec{r},t) + 3\vec{J}(\vec{r},t).\vec{s}\right) \tag{4.4}$$

$$S(\vec{r},\vec{s},t) = \frac{1}{4\pi}\left(S_0(\vec{r},t)\right) \tag{4.5}$$

S_0 étant un terme de source purement isotrope, situé à L_s' sous la surface. Il s'exprime en W.m^{-3}.

En intégrant tous les membres de l'ETR, puis en intégrant ces mêmes termes multipliés au préalable par $\vec{s}$, on obtient les deux équations suivantes :

$$\frac{1}{c}\frac{\partial\Phi(\vec{r},t)}{\partial t} + \mu_a\Phi(\vec{r},t) + \nabla\vec{J}(\vec{r},t) = S_0(\vec{r},t) \tag{4.6}$$

$$\frac{1}{c}\frac{\partial\vec{J}(\vec{r},t)}{\partial t} + (\mu_a + \mu_s')\vec{J}(\vec{r},t) + \frac{1}{3}\nabla\Phi(\vec{r},t) = 0 \tag{4.7}$$

*4.1.2.1 **Equation de diffusion***

Cette équation permet d'exprimer les variations de l'intensité moyenne $\Phi(\vec{r},t)$. Pour éliminer le terme de flux $\vec{J}(\vec{r},t)$ à partir du système d'équations (4.6) et (4.7), il faut faire l'hypothèse suivante :

$$\frac{1}{c}\left|\frac{\partial\vec{J}(\vec{r},t)}{\partial t}\right| \ll (\mu_a + \mu_s')\left|\vec{J}(\vec{r},t)\right| \tag{4.8}$$

Cette équation signifie que les variations temporelles du courant en un point peuvent être négligées devant ses variations associées à la diffusion. Cette hypothèse est valide, y compris dans les techniques résolues en temps, si la condition $\mu_a << \mu_s$' est respectée. En regard de cette condition, le terme dépendant du temps est négligeable et l'équation (4.7) s'écrit simplement :

$$\vec{J}(\vec{r},t) = -\frac{1}{3(\mu_a + \mu_s')}\nabla\Phi(\vec{r},t) \tag{4.9}$$

Il s'agit de l'équation connue sous le nom de loi de Fick. On définit la constante κ, appelée coefficient de diffusion, qui s'exprime en m^2/s et qui est reliée aux caractéristiques du milieu par :

$$\kappa = \frac{c}{3(\mu_a + \mu_s')} \tag{4.10}$$

En utilisant l'expression du courant (4.9) dans l'équation (4.6) on obtient :

$$\frac{\partial \Phi(\vec{r},t)}{\partial t} + c\mu_a \Phi(\vec{r},t) - \nabla[\kappa \nabla \Phi(\vec{r},t)] = q_0(\vec{r},t) \tag{4.11}$$

Qui est l'équation de diffusion [10], dans laquelle le terme source $q_0 = cS_0$ s'exprime en $W.m^{-2}.s^{-1}$. Quand le coefficient d'absorption est nul, cette équation se réduit à l'équation de diffusion de la chaleur. Si le coefficient de diffusion est invariant spatialement l'équation prend sa forme simplifiée :

$$\frac{\partial \Phi(\vec{r},t)}{\partial t} + c\mu_a \Phi(\vec{r},t) - \kappa \nabla^2 \Phi(\vec{r},t) = q_0(\vec{r},t) \tag{4.12}$$

L'équation de diffusion ne dépend pas du vecteur orientation $\vec{s}$ et le nombre de degrés de liberté est réduit de 6 à 4. Elle permet de résoudre les problèmes de transport en terme d'intensité ou de densité de photons et non pas en terme de luminance. Comme on peut le remarquer, l'équation de diffusion ne dépend pas indépendamment du coefficient de diffusion μ_s et du coefficient d'anisotropie g, mais de leur combinaison μ_s'. Trois approximations ont été faites dans la dérivation de l'équation de diffusion à partir de l'ETR :

1) Le développement en harmoniques sphériques de la luminance se limitant au premier ordre.
2) Les variations temporelles du courant peuvent être négligées
3) La source est isotrope.

Les deux premières approximations peuvent être réduite à la seule condition $\mu_s' >> \mu_a$: les photons doivent subir de très nombreux évènements de diffusion (réduites) avant d'être absorbés. Les valeurs de ces coefficients, pour les tissus biologiques et dans la fenêtre thérapeutique, ont été présentées dans le chapitre 1. Le coefficient d'absorption μ_a se situe dans la fourchette [0,001 - 1] mm^{-1}. Le coefficient de diffusion réduite μ_s' est dans l'intervalle [0,3 - 10] mm^{-1}. Par conséquent, cette hypothèse est vérifiée dans la plupart des tissus biologiques. Elle n'est pas satisfaite dans certains tissus biologiques peu diffusants : liquide céphalo-rachidien, kystes liquides … Lorsque la localisation de ces régions est connue, cette hypothèse peut être compensée par un modèle hybride qui utilise l'équation de transport pour ces régions et l'équation de diffusion en dehors [5-8].

La dernière hypothèse n'est clairement non vérifiée au voisinage de la source d'irradiation des tissus. En ces points, il faudrait considérer la source comme un dipôle, l'intensité de la source possédant une forte information de direction. Nous avons montré dans le chapitre 1 que lorsque la lumière a parcouru une distance égale à $L_s' = 1/\mu_s'$ à l'intérieur du tissu, l'information sur la direction initiale a totalement disparu. Pour cette raison, la source sera modélisée comme une source isotrope à L_s' sous la surface. Des mesures effectuées au voisinage de la source ne satisferont pas la théorie de la diffusion. L'équation de la diffusion n'est valide que lorsque la distance source – détecteur est suffisamment importante devant L_s'.

Dans la suite de cette thèse, les conditions d'utilisation de l'ED seront considérées comme satisfaites et les sources de lumière seront isotropes et situées à l'intérieur du tissu, à une distance de L_s' de la position réelle du point d'éclairement.

4.1.2.2 ***Conditions aux limites***

Les conditions aux limites précisent que la lumière est injectée uniquement aux positions des sources isotropes [11]. Ainsi la luminance qui a une direction vers l'intérieur du milieu est nulle. L'ED ne pouvant pas gérer les informations directionnelles, cette condition n'est pas prise en compte. On suppose que le courant moyen, entrant sur une surface S de vecteur normal $\vec{n}$ est égal à la fraction du courant sortant réfléchi par cette surface, de coefficient de réflexion diffuse R, qui s'écrit :

$$\int_{\vec{s}.\vec{n}<0} L(\vec{r},\vec{s},t).\vec{s}.d\Omega = R \int_{\vec{s}.\vec{n}>0} L(\vec{r},\vec{s},t).\vec{s}.d\Omega \tag{4.13}$$

La détermination de ce paramètre a été défini par Egan et Hilgeman [12] selon:

$$R = -1,44n^{-2} + 0,71n^{-1} + 0,668 + 0,0636n \tag{4.14}$$

n est l'indice de réfraction du milieu. En utilisant la loi de Fick on obtient l'équation de conditions aux limites de Robin modifiées [13,14] :

$$\Phi(\vec{r},t) + 2A\kappa\nabla\Phi(\vec{r},t)\cdot\vec{n} = 0 \tag{4.15}$$

A est le coefficient de réflexion interne à la surface. Ce coefficient est relié à R par :

$$A = \frac{(1+R)}{(1-R)} \tag{4.16}$$

En TOD résolue en temps, la mesure réalisée en un point de la surface, de vecteur normal $\vec{n}$, du milieu est l'exitance qui s'exprime par :

$$\Gamma(\vec{r},t) = -\kappa\vec{n}.\nabla\Phi(\vec{r},t) \tag{4.17}$$

Combinée à la condition aux limites de Robin (4.15), cette relation s'exprime simplement par :

$$\Gamma(\vec{r},t) = \frac{\Phi(\vec{r},t)}{2A} \tag{4.18}$$

$\Gamma(\vec{r},t)$ est appelé profil temporal ou TPSF (Temporal Point Spread Function).

4.2 Solutions de l'équation de diffusion

4.2.1 Solutions analytiques

Dans le cas de géométries simples, l'équation de diffusion (4.11) possède des solutions analytiques.

Le cas le plus simple est celui d'un milieu infini. En ce cas la solution est donnée par l'équation :

$$\Phi(\vec{r},t) = (4\pi\kappa t)^{-3/2}\exp\left(-\mu_a ct - \frac{r^2}{4\kappa t}\right) \tag{4.19}$$

Cette équation est l'équation de Green [15] ou équation de Green retardée [16]. La fonction définie par l'équation (4.19) est représentée Figure 4.1.

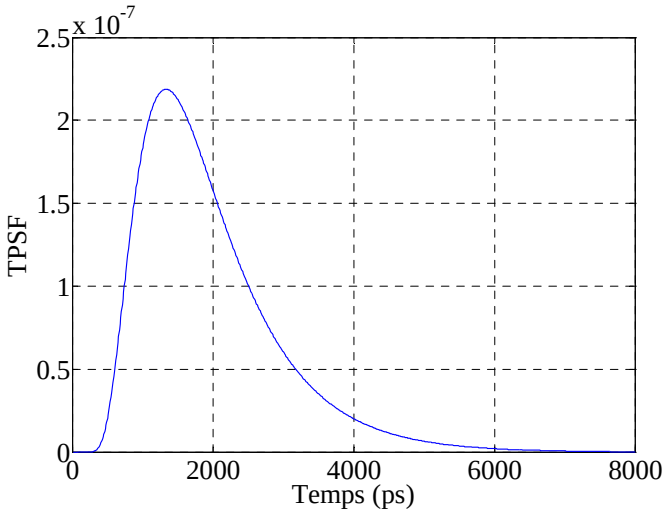


Figure 4.1 : Fonction de Green normalisée pour un milieu infini défini par n=1,54, μ_a=0,005mm^{-1}, μ'_s =0,6 mm^{-1}, à la distance r = 40 mm de la source.

Il est possible d'obtenir une solution analytique pour un milieu semi-infini. Cette solution est basée sur la méthode dite "des images" [15], qui consiste à placer un couple de sources négative et positive, symétriques par rapport à la surface de l'objet. Les sources sont situées à la distance $z_0 = 1/\mu_s'$ de la surface, qui correspond au libre parcours moyen de transport. Cette approche permet de remplir la condition aux limites qui impose qu'aucune lumière ne revienne jamais dans le milieu diffusant après l'avoir quitté. Dans ce cas, le flux de photons, à la profondeur z et à la distance transversale ρ du point source, s'écrit :

$$\Phi(\rho, z, t) = (4\pi\kappa t)^{-3/2} \exp\left(-\mu_a c t - \frac{\rho^2}{4\kappa t}\right)\left[\exp\left(-\frac{(z-z_0)^2}{4\kappa t}\right) - \exp\left(-\frac{(z+z_0)^2}{4\kappa t}\right)\right] \qquad (4.20)$$

De cette équation découle le signal réfléchi mesurable à la surface (z = 0) à une distance ρ de la source [15]. Des solutions analytiques de l'équation de diffusion ont été proposées pour des milieux en tranche d'épaisseur finie [15] ou des géométries régulières (cylindres, sphères) [1,15,17], des milieux stratifiés [18] ou des milieux présentant des perturbations en absorption [19,20]. Malheureusement, ces modèles restent simplistes pour modéliser la propagation de la lumière dans des structures plus complexes telles que celles envisagées dans les applications précliniques ou cliniques de la TOD.

La résolution de l'équation de diffusion dans de tels milieux requiert une méthode numérique. Nous considérerons successivement la méthode de Monte Carlo, citée de par son intérêt, et la méthode des éléments finis, utilisées dans ce travail.

4.2.2 Méthode de Monte Carlo

4.2.2.1 ***Principe***

La méthode de Monte Carlo est une méthode de simulation numérique où les photons « jouent à la roulette » à chaque fois qu'ils ont parcouru une longueur de diffusion. Elle calcule leurs trajectoires aléatoires à l'intérieur des tissus. Elle consiste à transformer un problème déterministe en un problème probabiliste [21]. Cette méthode a été initialement utilisée dans les recherches en thérapie photodynamique, comme moyen d'étude du flux et de l'absorption de la lumière dans les tissus biologiques [22]. Une évolution majeure de la méthode pour ses applications à la propagation de la lumière dans les tissus a été proposée par Prahl *et al* à la fin des années 1980 [18].

La trajectoire d'un photon dans un tissu biologique est modélisée selon une marche aléatoire avec une direction qui dépend de la direction de l'étape précédente. En suivant un nombre suffisant de photons dans un milieu de propriétés connues, il est possible de calculer les cartes de densités de photons et les profils temporels de sortie de photons pour les différents points de la surface. Cette méthode peut être utilisée pour décrire la propagation de photons selon un modèle de transport, avec un point d'entrée, une orientation du faisceau incident et en tenant compte d'un modèle de diffusion anisotrope. Elle peut être simplifiée et accélérée pour proposer une solution correspondant aux approximations de la diffusion.

4.2.2.2 ***Mise en œuvre***

La résolution du problème commence par l'injection d'un photon dans le tissu, selon les conditions d'éclairement simulées : faisceau collimaté ou source isotrope par exemple. La distance de propagation est ensuite calculée, à partir des propriétés optiques locales dans le milieu de propagation. Le photon est suivi par ses coordonnées de position et sa direction de propagation. Les évènements subis par un photon : diffusion, absorption ou réflexion sur une interface, sont modélisés pour calculer l'évolution du « poids » du photon et déterminer ses changements de direction de propagation et son point d'arrêt. Les densités de photons dans les tissus et les quantités observables sont déduites des calculs précédents et des convolutions par les profils temporels et spatiaux des faisceaux simulés [18].

Pour converger vers une solution hautement probable et fiable, il est nécessaire de simuler les chemins optiques d'un très grand nombre de photons. Par conséquent, cette méthode de Monte Carlo peut être très précise et constitue la méthode de référence [23-26], à laquelle il convient de confronter

des résultats obtenus par des méthodes plus approximatives. Elle est par contre couteuse en temps de calcul, ce qui peut être très pénalisant pour une méthode d'imagerie clinique où les images doivent être fournies très rapidement après l'acquisition.

De nombreux codes de Monte Carlo sont disponibles sur internet. Ils permettent de résoudre de très nombreux problèmes de propagation de lumière en milieux diffusants et notamment pour suivre les photons diffusés et les photons de fluorescence. Le groupe de Prahl et Jacques propose plusieurs codes en C sur le site de l'Université de l'Oregon [27].

4.2.3 Méthode des éléments finis

4.2.3.1 ***Principe***

Résoudre l'équation de diffusion par la méthode des éléments finis (MEF) sur un domaine Ω consiste à rechercher une solution approchée de la solution exacte sous la forme d'un champ défini par morceaux sur des sous domaines de Ω. Les n sous domaine Ω_i doivent être tels que :

$$\bigcup_{i=1}^{n} \Omega_i = \Omega \text{ et } \tilde{\Omega}_i \bigcap \tilde{\Omega}_j = \varnothing \quad \forall i \neq j \tag{4.21}$$

où $\tilde{\Omega}_i$ désigne l'intérieur de Ω_i. Autrement dit, les Ω_i sont une partition de Ω.

Le champ dans chaque sous domaine Ω_i est déterminé par un nombre fini de valeurs du champ (ou de ses dérivées) en des points choisis arbitrairement dans le sous domaine, et appelés nœuds.

Chercher une solution par éléments finis consiste donc à déterminer quel champ local on attribue à chaque sous domaine pour que le champ global obtenu par juxtaposition de ces champs locaux soit proche de la solution du problème. Certaines contraintes sont imposées à la solution approchée notamment le fait qu'elle ait une continuité simple à la frontière entre les sous domaines.

La qualité de la solution dépend de la division en sous domaines (nombre et dimension des sous domaines), du choix de la famille de champs locaux dans chaque sous domaine (fonctions test) et des conditions de continuité imposées aux frontières des sous domaines. Une fois ces choix faits, il reste à rechercher, une combinaison de champs locaux qui satisfait approximativement les équations.

L'estimation de la densité de photons $\Phi(\vec{r},t)$ par MEF est obtenue par son approximation $\Phi^h(\vec{r},t)$. Cette dernière est une fonction continue et polynomiale par morceau sur un espace défini par les fonctions de base $u_i(\vec{r})$ avec $u_i(\vec{r}_j) = \delta_{ij} \quad (i, j = 1,...,N)$ où $\vec{r}_j$ est la position du nœud N_j.

$$\Phi^h(\vec{r},t) = \sum_{i=0}^{N} \Phi_i(t) u_i(\vec{r}) \tag{4.22}$$

Afin de résoudre l'ED par la MEF, l'équation (4.11) et ses conditions aux limites (4.15) sont ramenées à un problème d'inversion de matrice qui s'écrit :

$$\begin{aligned}
&\left(K(\kappa) + C(\mu_a) + M\frac{\partial}{\partial t} + \beta(A)\right)\Phi = S, \\
&K_{ij} = \int_{\Omega} k_i \nabla u_i(\vec{r}).\nabla u_j(\vec{r})\, d\Omega, \\
&C_{ij} = \int_{\Omega} c\mu_a u_i(\vec{r}) u_j(\vec{r})\, d\Omega, \\
&M = \int_{\Omega} u_i(\vec{r}) u_j(\vec{r})\, d\Omega, \\
&\beta_{ij} = \frac{c}{2A}\int_{\partial\Omega} u_i(\vec{r}) u_j(\vec{r})\, ds, \\
&S_j = \int_{\partial\Omega} S_0 u_j(\vec{r})\, ds, \\
&\Phi = [\Phi_1 \quad \Phi_2 \quad ... \quad \Phi_N].
\end{aligned} \tag{4.23}$$

Les matrices K, C et M sont de tailles NxN (N est le nombre de nœuds). Ces matrices sont creuses et non nulles uniquement si i et j appartiennent au même élément. En inversant le système d'équation (4.23), on introduit la représentation discrète de l'opérateur de Green G.

$$\left(K(\kappa)+C(\mu_a)+M\frac{\partial}{\partial t}+\beta(A)\right)^{-1} S = GS = \Phi \tag{4.24}$$

4.2.3.2 ***Programmation***

Afin de décrire le comportement temporel de Φ(t) par rapport au temps, nous discrétisons l'équation (4.24) par rapport au temps :

$$(K+C+\beta)\Phi_n + M\frac{1}{\Delta t}\left[\Phi_n - \Phi_{n-1}\right] = S_n \tag{4.25}$$

ou Φ_n est la solution au pas temporel n.

Sachant que $S_n = 0$ pour tout $n > 0$ (source impulsionnelle), nous pouvons écrire la récurrence suivante :

$$\begin{aligned}\left(K+C+\beta+M\frac{1}{\Delta t}\right)\Phi_0 &= S_0\\ \left(K+C+\beta+M\frac{1}{\Delta t}\right)\Phi_{n+1} &= M\frac{1}{\Delta t}\Phi_n, n\geq 1\end{aligned} \tag{4.26}$$

Comme cité précédemment, la source est isotrope et placée à l'intérieur d'un tétraèdre du maillage. Nous évaluant l'influence de cette source sur les quatre nœuds de l'élément qui la contient en utilisant les relations de passage des coordonnées cartésiennes aux coordonnées naturelles. L'influence de la source $S(x_s,y_s,z_s)$ sur chaque nœud du tétraèdre P_i (x_i,y_i,z_i) avec i=1,…,4 est proportionnelle au volume du tétraèdre ayant comme sommets la source S et les trois nœuds du tétraèdre restant comme détaillé dans le cas 2D dans la référence [28]. Ce problème peut être contourné en forçant le maillage à placer des nœuds aux emplacements des sources théoriques comme illustré en section 5.1.1.1.2.

Afin d'exprimer tout le problème sous la forme matricielle, nous discrétisant μ_a et κ dans la base $u_j(\vec{r})$:

$$\begin{aligned}\mu_a(\vec{r}) &= \sum_{i=1}^{N}\mu_{ai}u_i(\vec{r})\\ \kappa(\vec{r}) &= \sum_{i=1}^{N}\kappa_i u_i(\vec{r})\end{aligned} \tag{4.27}$$

Dans cette même base, lorsque les i et j appartiennent au même élément, nous utilisant la forme 3D de l'égalité détaillée dans le travail de Zienkiewicz [29] :

$$\iiint_V u_1^a u_2^b u_3^c dxdydz = 6V\frac{a!b!c!}{(a+b+c+4)!} \tag{4.28}$$

avec V le volume du tétraèdre.

On obtient alors les matrices M, C et K :

$$M_{ij} = \int_\Omega u_i u_j d\Omega = \frac{6V}{120}\begin{bmatrix}2&1&1&1\\1&2&1&1\\1&1&2&1\\1&1&1&2\end{bmatrix} \tag{4.29}$$

$$C_{ij} = \sum_{i=0}^{3}\sum_{j=0}^{3} c\mu_{ak} \int_{\Omega} u_i u_j u_k \, d\Omega$$

$$= \frac{6Vc}{720}\left(\mu_{a1}\begin{bmatrix} 6 & 2 & 2 & 2 \\ 2 & 2 & 1 & 1 \\ 2 & 1 & 2 & 1 \\ 2 & 1 & 1 & 2 \end{bmatrix} + \mu_{a2}\begin{bmatrix} 2 & 2 & 1 & 1 \\ 2 & 6 & 2 & 2 \\ 1 & 2 & 2 & 1 \\ 1 & 2 & 1 & 2 \end{bmatrix} + \mu_{a3}\begin{bmatrix} 2 & 1 & 2 & 1 \\ 1 & 2 & 2 & 1 \\ 2 & 2 & 6 & 2 \\ 1 & 1 & 2 & 2 \end{bmatrix} + \mu_{a4}\begin{bmatrix} 2 & 1 & 1 & 2 \\ 1 & 2 & 1 & 2 \\ 1 & 1 & 2 & 2 \\ 2 & 2 & 2 & 6 \end{bmatrix} \right) \tag{4.30}$$

$$K_{ij} = \frac{1}{4}\sum_{n=1}^{4} k_n \sum_{i=1}^{4}\sum_{j=1}^{4} \int_{\Omega} \nabla u_i . \nabla u_j \, d\Omega \tag{4.31}$$

La fonction u est une fonction polynomiale de forme $u(x, y, z) = ax + by + cz + d$. Pour un nœud donné d'un tétraèdre, cette fonction vaut 1 et zéro pour les trois autres nœuds.

Les coefficients a, b, c, et d sont calculés par résolution du système matriciel suivant :

$$\begin{bmatrix} a_n \\ b_n \\ c_n \\ d_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x_1 & y_1 & z_1 & 1 \\ x_2 & y_2 & z_2 & 1 \\ x_3 & y_3 & z_3 & 1 \\ x_4 & y_4 & z_4 & 1 \end{bmatrix}^{-1} \begin{bmatrix} u_n \\ u_n \\ u_n \\ u_n \end{bmatrix} \tag{4.32}$$

Le gradient de la fonction u s'écrit alors :

$$\nabla u_n(x, y, z) = \begin{bmatrix} a_n & b_n & c_n \end{bmatrix} \tag{4.33}$$

Pour les éléments de la surface nous calculons $\beta_{ij} = \frac{c}{2A}\iint_{\partial\Omega} u_i u_j \, ds$ en considérant non plus un tétraèdre mais un triangle, car un des sommets du tétraèdre n'est pas situé sur la frontière. En considérant les deux vecteurs u(x_{n2}-x_{n1},y_{n2}-y_{n1},z_{n2}-z_{n1}) et v(x_{n2}-x_{n3},y_{n2}-y_{n3},z_{n2}-z_{n3}) définis en fonction des 3 nœuds n_1,n_2 et n_3 de l'élément triangulaire de bord, on écrit :

$$\beta_{ii} = \beta_{jj} = \frac{c\Delta}{24A}\begin{bmatrix} 2 & 1 & 1 \\ 1 & 2 & 1 \\ 1 & 1 & 2 \end{bmatrix}$$
$$\beta_{ij} = \frac{c\Delta}{48A}\begin{bmatrix} 2 & 1 & 1 \\ 1 & 2 & 1 \\ 1 & 1 & 2 \end{bmatrix} \tag{4.34}$$

avec Δ l'aire du triangle donnée par :

$$\Delta = \frac{1}{2}\left(\vec{u} \wedge \vec{v}\right) = \frac{1}{2}\left\| \begin{matrix} u_2 v_3 - u_3 v_2 \\ u_3 v_1 - v_3 u_1 \\ u_1 v_2 - v_1 u_2 \end{matrix} \right\| \tag{4.35}$$

La source isotrope est modélisée par une impulsion de Dirac injectée à l'instant t = 0. Les matrices M, K, C et β sont indépendantes du temps et la matrice totale $\left(K + C + \beta + M\frac{1}{\Delta t}\right)$ est symétrique définie positive. Ainsi la première étape de la récurrence de l'équation (4.26) peut être résolue par une simple factorisation de Cholesky [30].

4.3 Reconstruction d'images

4.3.1 **Reconstruction selon des modèles**

En TOD, la reconstruction d'images est un problème d'optimisation qui consiste à estimer les paramètres optiques internes (μ_a, μ_s') d'un objet après avoir effectué des mesures sur sa surface. Il est assumé que la meilleure estimation de ces paramètres est celle qui permet de simuler des données similaires à celles mesurées sur la surface de l'objet. La performance de la reconstruction d'images TOD dépend fortement de la qualité du modèle utilisé dans la simulation et de la qualité des données mesurées.

*4.3.1.1 **Théorie de la perturbation***

L'approche par perturbation linéaire est définie comme étant l'approximation consistant à considérer qu'une variation des coefficients (μ_a, μ_s') implique une modification des mesures $Y_{s,d}(x, t)$ qui peut être exprimée par une série de Taylor. Une mesure $Y_{s,d}(x, t)$ obtenue au temps t en utilisant la source s et le détecteur d sur un objet de propriétés optiques x, peut être exprimée ainsi :

$$Y_{s,d}\left(x_1(r),t\right)=Y_{s,d}\left(x_0(r),t\right)+\frac{\partial Y_{s,d}\left(x_0(r),t\right)}{\partial x}\left[x_1(r)-x_0(r)\right]+\frac{1}{2!}\frac{\partial^2 Y_{s,d}\left(x_0(r),t\right)}{\partial x^2}\left[x_1(r)-x_0(r)\right]^2+\ldots \quad (4.36)$$

$$\text{avec } x(r)=\begin{bmatrix}\mu_a(r)\\ \kappa(r)\end{bmatrix} \quad (4.37)$$

x(r) est la distribution des propriétés optiques à l'intérieur de l'objet. $x_0(r)$ représente l'état initial et $x_1(r)$ représente l'état perturbé.

En ignorant les termes d'ordre supérieur à 1 dans l'équation (4.36), nous obtenons la carte de sensibilité $J_{s,d}(x_0(r), t)$ (Photon Measurement Density Function - PMDF) :

$$J_{s,d}\left(x_0(r),t\right)=\frac{Y_{s,d}\left(x_1(r),t\right)-Y_{s,d}\left(x_0(r),t\right)}{x_1(r)-x_0(r)}=\frac{\partial Y_{s,d}\left(x_0(r),t\right)}{\partial x} \quad (4.38)$$

Cette matrice représente l'amplitude des changements des mesures $Y_{s,d}(x(r),t)$ dus à une variation des propriétés optiques x(r) à une position r pour une source s et un détecteur d donnés.

La matrice contenant la totalité des $J_{s,d}(x_0(r),t)$ calculée pour tous les couples source-détecteur est appelée *matrice jacobienne* ou *matrice de sensibilité*. Elle peut être évaluée par dérivation du problème direct ou par la méthode des adjoints [9].

$$J_{s,d}\left(x_0(r),t\right)=\begin{bmatrix}G_s^+(\vec{r},t)\otimes G_d(\vec{r},t)\\ \nabla G_s^+(\vec{r},t)\otimes \nabla G_d(\vec{r},t)\end{bmatrix} \quad (4.39)$$

ou $G_d(\vec{r},t)$ et $G_s^+(\vec{r},t)$ sont les fonctions de Green directe et adjointe calculées pour une source s et un détecteur d dans une géométrie appropriée. Cette formulation assume que l'influence d'une source s sur un détecteur d est la même si d est utilisé comme source et s est utilisé comme détecteur. Cette méthode permet de réduire considérablement le temps de calcul.

L'évaluation de cette matrice jacobienne dans des géométries complexes avec des distributions de propriétés optiques hétérogènes peut être obtenue en substituant les fonctions de Green de l'équation (4.39) dans l'opérateur de Green discret G décrit en section 4.2.3.1 (équation (4.24)). Le calcul des matrices jacobiennes est détaillé en section 4.3.3.

*4.3.1.2 **Algorithmes de reconstruction linéaires***

Les algorithmes de reconstruction d'images à partir de mesures tomographiques ont été établis pour la reconstruction d'images en tomodensitométrie par rétro-projection filtrée. Ces algorithmes restent valables en TOD s'ils prennent en compte la non-linéarité de la propagation des photons dans les tissus, décrite par les matrices jacobiennes [31].

Une faible variation des propriétés optiques internes $\Delta x(r)$ implique un faible changement des mesures $\Delta Y_{s,d}(x_0(r),t)$. Cette modification est obtenue par l'équation :

$$\Delta Y_{s,d}\left(x_0(r),t\right) = J_{s,d}\left(x_0(r),t\right)\Delta x(r) \tag{4.40}$$

Afin de calculer la variation $\Delta x(r)$ responsable de la variation $\Delta Y_{s,d}(x_0(r),t)$, il suffit d'inverser le problème présenté par l'équation (4.40). Les mesures peuvent être des profils temporels $\Gamma_{s,d}(x_0(r),t)$ dans le cas de la TOD résolue en temps, ou plus généralement, des données $M_{s,d}(x_0(r))$, déduites de ces profils temporels :

$$M_{s,d}^{(1)} - M_{s,d}^{(0)} = J_{s,d}^{M}\left(x_0(r)\right)\left[x_1(r) - x_0(r)\right] \tag{4.41}$$

Ce problème est mal posé, il n'est pas possible d'inverser directement la matrice jacobienne qui est presque singulière. L'algorithme itératif de Levenberg-Marquardt permet de résoudre cette difficulté [32-34]:

$$\Delta x = \left[J^T J + \tilde{\lambda} I\right]^{-1} J^T \Delta M \tag{4.42}$$

Δx est la matrice des variations des propriétés optiques en chaque nœud du maillage, ΔM est la matrice des changements dans les mesures. I est la matrice identité. La matrice Hessienne $[J^T J]$ est connue pour être mal conditionnée [35]. Plusieurs techniques existent pour inverser ce type de matrice [35] et la plus utilisée consiste à ajouter un terme à sa diagonale. $\tilde{\lambda} = \lambda \max(diag(J^T J))$ est le facteur de régularisation utilisé pour améliorer la stabilité de l'inversion de la matrice Hessienne $[J^T J]$ en rendant sa diagonale plus dominante [36,37].

Il est clair qu'une valeur très forte de facteur de régularisation dominera l'équation (4.42) et le vecteur Δx trop faible. Cependant, si sa valeur est trop faible, l'inversion du problème sera dominée par le bruit et le vecteur Δx devient insignifiant [38,39]. Une discussion plus détaillée et rapportée dans les travaux de Yalavarthy *et al* et de Srinivasan *et al* [39-41].

*4.3.1.3 **Algorithme de reconstruction non-linéaires***

L'inconvénient majeur des algorithmes linéaires est qu'ils prennent en compte uniquement des petites variations des propriétés optiques. Dans le cas de la reconstruction d'images TOD, nous cherchons à reconstruire une mesure $M_{s,d}^{(1)}$ et non un changement dans la mesure. L'utilisation d'un algorithme non-linéaire s'impose.

Les algorithmes de reconstruction non-linéaires utilisent un processus itératif durant lequel la matrice jacobienne est mise à jour pour chaque estimation de x(r). La première étape de l'algorithme est le calcul de $M_{s,d}^{init}$ à partir des valeurs initiales $x_{init}(r)$. La différence entre la mesure $M_{s,d}^{(1)}$ et les simulations $M_{s,d}^{init}$ est utilisée pour l'estimation de la distribution des propriétés optiques à l'itération suivante $x_{init+1}(r)$:

$$\begin{aligned} M_{s,d}^{(1)} - M_{s,d}^{(init)} &= J_{s,d}^{M}\left(x_{init}(r)\right)\left[x_{init+1}(r) - x_{init}(r)\right] \\ M_{s,d}^{(1)} - M_{s,d}^{(init+1)} &= J_{s,d}^{M}\left(x_{init+1}(r)\right)\left[x_{init+2}(r) - x_{init+1}(r)\right] \\ &\ldots \end{aligned} \tag{4.43}$$

Ce processus est réitéré afin de minimiser une erreur définie par :

$$\sum_{s,d}\left(\frac{M_{s,d}^{(1)}-M_{s,d}^{(init+N)}}{\sigma_{s,d}^{(1)}}\right)^2 \tag{4.44}$$

$\sigma_{s,d}^{(1)}$ est la déviation standard de la mesure $M_{s,d}^{(1)}$ [42-44].

L'Algebraic Reconstruction Technique ou ART ou méthode de Kaczmarz [45] du nom du mathématicien Polonais Kaczmarz a été utilisée dans la reconstruction d'images à partir de projections par Gordon, Bender et Herman [48]. Cette technique permet de résoudre des systèmes d'équations linéaires Ax = B. L'avantage de cette technique par rapport à d'autres méthodes est qu'elle est mieux adaptée pour prendre en compte la nature creuse de la matrice A. Dans le domaine de l'imagerie biomédicale, cette technique a montré sa supériorité par rapport à la technique de la rétro-projection filtrée [47].

Considérant une matrice A(MxN) et un vecteur B, l'ART calcule une approximation de la solution de façon itérative par :

$$x^{k+1}=x^k+\lambda_k\frac{b_i-\left\langle a_i,x^k\right\rangle}{\left\|a_i\right\|^2}a_i \tag{4.45}$$

avec a_i la $i^{ème}$ ligne de la matrice A et b_i la $i^{ème}$ valeur du vecteur B et $\lambda_k\in[0,2]$ le paramètre de relaxation assurant la convergence de la solution vers l'intersection des hyperplans gouvernés par les équations $a_i.x = b_i$.

4.3.2 Types de données

Les données mesurées par notre système sont constitués des profils temporels (TPSF) $\Gamma_{s,d}(t)$ mesurés à la surface d'un objet après son excitation par une source laser pulsée.

*4.3.2.1 **Moments***

Parmi les méthodes disponibles, CW, DF ou DT, il est généralement admis que la dernière est celle qui permet de reconstruire la meilleure distribution locale des propriétés optiques dans les tissus [48]. Une question reste toutefois en suspend : comment utiliser ces données mesurées résolues en temps ?

Une méthode très performante consiste à utiliser les moments des profils temporels $\Gamma_{s,d}(t)$ obtenus en utilisant la transformée de Mellin définie par:

$$\mathrm{M}_{p,u}\left[\Gamma_{s,d}(t)\right]=\frac{1}{N}\int_{t=0}^{\infty}\Gamma_{s,d}(t)t^u e^{-pt}dt \tag{4.46}$$

u est l'ordre de la transformée.

L'intensité totale E ou le moment d'ordre zéro est obtenu en utilisant la transformée de Mellin avec u = p = 0 et N = 1 :

$$E_{s,d}\left[\Gamma_{s,d}(t)\right]=\int_{t=0}^{\infty}\Gamma_{s,d}(t)dt \tag{4.47}$$

Le temps moyen ou le moment d'ordre 1 est obtenu avec u = 1, p = 0 et N = E :

$$TM_{s,d}\left[\Gamma_{s,d}(t)\right]=\frac{1}{E}\int_{t=0}^{\infty}\Gamma_{s,d}(t)tdt \tag{4.48}$$

Ces deux premiers moments seront utilisés dans le traitement des données simulées et expérimentales obtenues dans ce travail et présentés dans les chapitres 5 et 6. La figure 4.2 illustre ces deux moments sur une TPSF simulée.

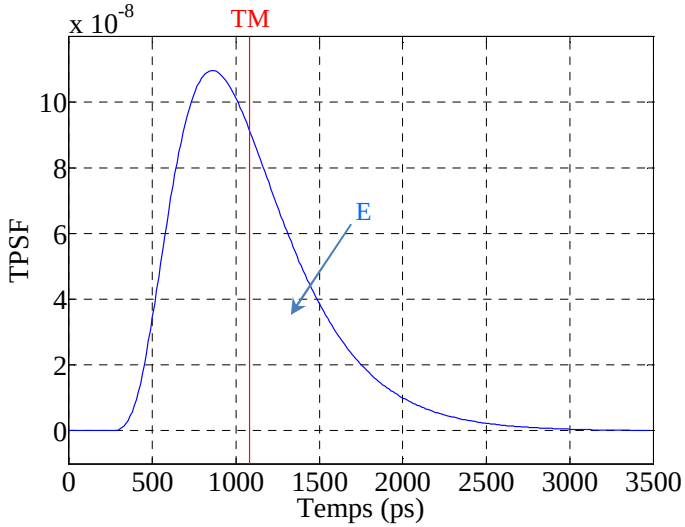


Figure 4.2 : Intensité totale E et temps moyen TM d'une TPSF simulée.

Lors de la reconstruction du coefficient d'absorption μ_a à partir des mesures M de type m, nous pourrons écrire une relation linéaire :

$$[\Delta M_m] = \left[J^m_{\mu_a} \right] [\Delta \mu_a] \tag{4.49}$$

Si les deux coefficients μ_a et μ_s' sont reconstruits simultanément en utilisant les mesures M de type m1 et m2, nous écrirons :

$$\begin{bmatrix} \Delta M_{m1} & \Delta M_{m2} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} J^{m1}_{\mu_a} & J^{m1}_{\mu_s'} \\ J^{m2}_{\mu_a} & J^{m2}_{\mu_s'} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \Delta \mu_a \\ \Delta \mu_s' \end{bmatrix} \tag{4.50}$$

Il est important de noter que les données ne sont généralement pas du même ordre de grandeur et qu'une étape de normalisation est nécessaire:

$$\left[\frac{\Delta M}{moy|\Delta M|} \right] = \left[\frac{x_0 J^M_x(x_0)}{moy|\Delta M|} \right] \left[\frac{\Delta x}{x_0} \right] \tag{4.51}$$

moy| | représente la valeur moyenne.

Sans cette normalisation, les variations calculées à l'aide du temps moyen dominent celles calculées avec l'intensité, lorsque la reconstruction est faite en utilisant ces deux moments.

L'utilisation des moments des profils temporels $\Gamma_{s,d}(t)$ présente plusieurs avantages [14] dont :

1) Elle est robuste au bruit, aux fluctuations des sources et aux erreurs du modèle
2) Ces moments peuvent être calculés directement, sans avoir à calculer les profils temporels
3) Ces moments sont auto-normalisés

Cependant, leur utilisation présente le problème de non unicité de la solution. En effet, des distributions de propriétés optiques différentes peuvent correspondre ou générer le même jeu de moments. Les algorithmes de reconstruction en TOD permettent de calculer deux images, une d'absorption μ_a et une de diffusion réduite μ_s'. Il est cependant très difficile de séparer la contribution des deux coefficients, des mesures identiques pouvant être obtenues avec différentes distributions de ces deux coefficients [49]. Les travaux de Gao *et al* ont démontré qu'il est toutefois possible de

séparer la contribution des deux coefficients en utilisant une combinaison appropriée des moments utilisés [14,50].

Les moments calculés par la transformée de Mellin deviennent de plus en plus corrélés, sensibles au bruit, mathématiquement incomplets et inutilisables en pratique au fur et à mesure que l'ordre de la transformée augmente. De plus, un inconvénient majeur de l'utilisation de ce type de données est qu'ils paraissent moins sensibles aux variations locales du coefficient d'absorption [51]. Les images reconstruites à partir des moments dérivés de données expérimentales ou simulées présentent une mauvaise résolution spatiale [14,50-55].

Par conséquent, un besoin crucial d'utiliser d'autres informations issues des profils temporel, ou tous les points de ces profils afin d'exploiter un maximum, si ce n'est la totalité de l'information contenue dans ceux-ci.

4.3.2.2 ***Profils temporels***

Les données $Y_{s,d}(r,t)$ fournies par le système expérimental utilisé sont les profils temporels $\Gamma_{s,d}^{mes}(r,t)$ ou TPSF des photons issus des tissus excités par une impulsion laser. La résolution de l'ED par la MEF permet d'obtenir les TPSF simulées $\Gamma_{s,d}^{sim}(r,t)$.

De nouvelles méthodes résolues en temps tentent de prendre en compte la totalité des points des TPSF. La considération de tous les points des TPSF ou d'une partie d'entre eux dans le processus de reconstruction revient à minimiser l'expression donnée par :

$$\sum_{s}\sum_{d}\sum_{t}\left(\frac{\Gamma_{s,d}^{mes}(r,t)-\Gamma_{s,d}^{sim}(r,t)}{\sigma_{s,d}^{mes}}\right) \tag{4.52}$$

$\sigma_{s,d}^{mes}$ est la déviation standard de la mesure $\Gamma_{s,d}^{mes}$ [42-44].

L'inconvénient majeur de la simulation et de l'utilisation de toute la TPSF, ou d'une partie, dans le processus d'inversion est d'être extrêmement coûteux en temps de calcul et de nécessiter une mémoire de calcul de grande capacité [56].

4.3.2.2.1 Totalité des points de la TPSF : Full-Time - FT

Plusieurs travaux ont démontré que les algorithmes de reconstruction utilisant la totalité des points de la TPSF permettent d'obtenir la meilleure estimation des propriétés optiques [51,57]. Pour limiter les problèmes de temps de calcul et de capacité de mémoire, il est possible de n'utiliser que certains points de la TPSF. Arridge *et al* ont par ailleurs démontré que l'utilisation de tous les points de la TPSF comporte des redondances dans l'information [58].

Dans le cadre de cette thèse, nous avons choisi 19 points de la TPSF lors de l'utilisation des algorithmes reconstruisant avec les données FT. Le point central est fixé sur le maximum de la TPSF et les 18 restants sont placés pour moitié sur le front montant (FrM) et pour moitié sur son front descendant (FrD). Les neuf points de chaque coté sont uniformément répartis entre 10% et 90% de l'amplitude maximale de la TPSF avec un pas de 10%.

Il est important de noter que ces points sont les mêmes utilisés pour reconstruire le coefficient d'absorption et le coefficient de diffusion réduit. La figure 4.3 montre les 19 points de la TPSF utilisés par les algorithmes FT développés.

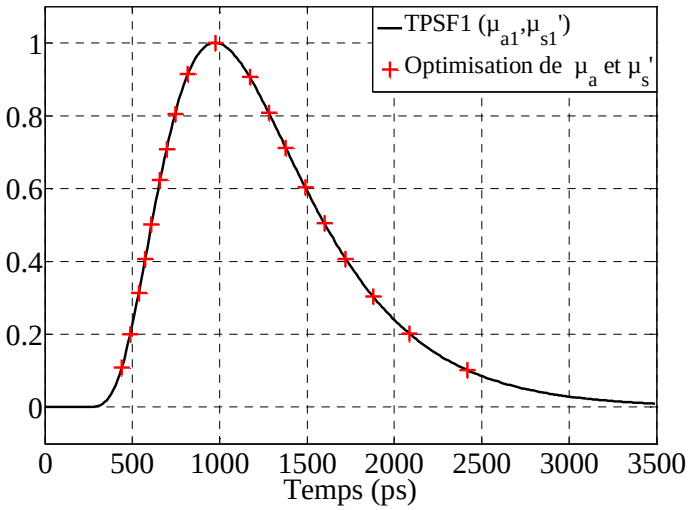


Figure 4.3 : Points choisis sur la TPSF pour la résolution du problème inverse en utilisant la méthode FT.

4.3.2.2.2 Sélection de points de la TPSF : Point Selection - PS

Nous avons proposé une nouvelle méthode permettant de choisir certains points sur la TPSF pour la résolution du problème inverse. Au contraire de la méthode FT, cette méthode PS n'utilise pas les mêmes points pour la reconstruction de la carte d'absorption et pour la carte de diffusion réduite. En effet, lors du calcul du vecteur de mise à jour du coefficient d'absorption $\Delta\mu_a$, les points sont choisis sur le FrD de la TPSF. Au contraire, les points sont choisis sur le FrM pour le calcul de $\Delta\mu_s$'. Cette méthode est inspirée des travaux de Gandjbakhche *et al* [59,60], expérimentalement confirmée par Cubeddu *et al* [61,62]. Ces auteurs ont démontré que le contraste des images obtenues à partir de données «tardives » est essentiellement observé sur les images d'absorption; alors que le contraste obtenu avec des données correspondant à des temps de vol courts est plus marqué sur les images de diffusion. Ces conclusions ont été récemment confirmées par Venugopal *et al.* [63], à partir de données acquises avec une caméra avec un intensificateur à porte temporelle.

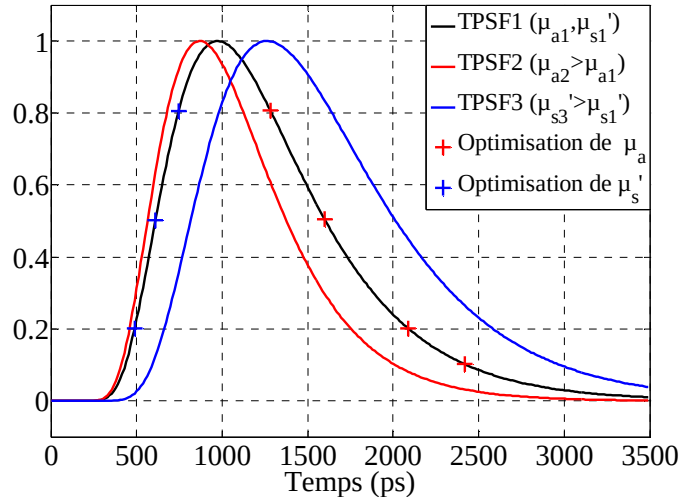


Figure 4.4 : Points choisis sur la TPSF pour la résolution du problème inverse en utilisant la méthode PS.

La figure 4.4 présente une comparaison entre trois TPSF, après normalisation de leur amplitude. Ces $TPSF_i$ (i = 1, 2, 3) ont été calculées par simulation d'un objet cylindrique homogène (Ø = 28 mm), avec une source et un détecteur diamétralement opposés. Ces TPSF ont été simulées avec différents

coefficients $\{\mu_a, \mu_s'\}$. Le profil $TPSF_1$ sert de référence : $\mu_{a1} = 0{,}005mm^{-1}$ et $\mu_{s1}'=0{,}6\ mm^{-1}$. Les $TPSF_2$ et $TPSF_3$ sont respectivement utilisés pour montrer l'influence d'une augmentation de 50% de μ_a ou de μ_s' : $\mu_{a2} > \mu_{a1} = \mu_{a3}$, et $\mu_{s3}' > \mu_{s1}' = \mu_{s2}'$.

Une augmentation de μ_s' engendre un retard important du FrM de la TPSF, alors que l'augmentation de μ_a n'a que peu avancé le FrM de la TPSF. Selon la figure 4.4, le FrD des TPSF est sensible aux variations de μ_a et aux variations de μ_s'. Il est cependant admis que le FrD est plus sensible aux variations de μ_a. Ce résultat peut se justifier par le fait reconnu depuis Patterson *et al* [15], qu'un ajustement exponentiel de la « queue » des TPSF est une méthode efficace d'évaluation du coefficient d'absorption.

Nous savons à présent que la TPSF doit être divisée en deux parties selon le temps d'arrivée des photons : temps courts et temps tardif. Cependant une question reste en suspend : quel est le temps critique utilisé pour la séparation de ces deux classes ?

Afin de définir ce temps critique, nous nous sommes basés sur le modèle analytique de Patterson pour un milieu infini $\Phi(t,\mu_a,\mu_s')$ rappelé dans l'équation (4.19). Nous avons observé que les quantités $(\partial\Phi/\partial\mu_s').\mu_s'$ et $(\partial\Phi/\partial\mu_a).\mu_a$ sont égales pour des temps toujours très proches du t_{max}, temps correspondant au maximum de Φ, c'est-à-dire de la TPSF mesurée. Dès lors nous avons défini t_{max} comme étant le temps de séparation entre les temps courts correspondant à la partie sensible aux variations de μ_a et les temps tardifs correspondants aux variations de μ_s' [64].

Par conséquent, les points utilisés dans le processus d'optimisation ont été choisis sur le FrD de la TPSF ou sur son FrM respectivement pour le calcul de $\Delta\mu_a$ ou $\Delta\mu_s'$.

La méthode proposée consiste à sélectionner 3 points sur le FrM de la TPSF à 20%, 50% et 80% de son amplitude maximale A_{max}, utilisés pour la reconstruction des images de μ_s'. Les images de μ_a sont reconstruites en utilisant 4 points placés sur le FrD de la TPSF à 10%, 20%, 50% et 80% de A_{max}. Le choix de ces points est purement heuristique. Leurs amplitudes ont été choisies afin d'obtenir une répartition uniforme des points. Les amplitudes maximales des points sont fixées à 80% de A_{max} afin de s'éloigner relativement du A_{max}.

Le choix du nombre de points, fixé à 7, est purement expérimental. Nous avons trouvé qu'un nombre de points supérieur à 7 n'améliore pas de manière significative la qualité des images reconstruites, alors qu'un nombre de points inférieur à 7 la dégrade dramatiquement. La limitation à 7 du nombre de points et leur séparation en 2 groupes (4 + 3) pour la reconstruction des images réduit le temps de calcul de ces images de 81%, par comparaison avec la méthode FT.

La figure 4.4 présente les 7 points choisis pour résoudre le problème inverse en utilisant la méthode PS.

4.3.3 **Calcul des matrices jacobiennes**

Nous avons décrit précédemment que la résolution du problème direct consiste au calcul de la densité de photons après injection d'une impulsion lumineuse en un point source r_s. La lumière atteignant un détecteur placé sur la surface en un point r_d est la lumière réémise $\Gamma(t)$, proportionnelle à la densité de photons en ce point $\Phi(r_d, r_s, t)$. Le problème direct est modélisé par l'équation de diffusion, résolue par la méthode des éléments finis. En considérant les moments temporels de la densité de photons $\Psi^{(n)}(r, r_s) = \int_0^\infty t^n \Phi(r, r_s, t)\, dt$, il est possible d'écrire la récurrence suivante :

$$\begin{aligned} &\left[\nabla\cdot\kappa(r)\nabla - \mu_a(r)c\right]\Psi^{(0)}(r, r_s) = -\delta(r - r_s), \\ &\left[\nabla\cdot\kappa(r)\nabla - \mu_a(r)c\right]\Psi^{(n)}(r, r_s) = -n\Psi^{(n-1)}(r, r_s), \\ &c\Psi^{(n)}(r, r_s) + 2\kappa(r)A\vec{n}\cdot\nabla\Psi^{(n)}(r, r_s)\,|_{r\in\partial\Omega} = 0. \end{aligned} \tag{4.53}$$

Le système d'équations est résolu par la MEF en utilisant la méthode de Galerkin [30,65]. Il est ainsi possible de calculer directement les moments des profils temporels, sans calculer explicitement ces profils. Les moments obtenus par la transformée de Mellin sont largement utilisés en TOD [9,66,67].

La méthode de reconstruction d'images décrite au paragraphe 4.2 nécessite le calcul des matrices jacobiennes J des densités de photons $\Phi(r, r_s, t)$. De la même manière, la méthode des moments requiert le calcul des jacobiennes des moments.

*4.3.3.1 **Jacobiennes des moments temporels***

L'opérateur non-linéaire $F^{(\nu)}(D_d^{(s)}, S_s)$ associé au moment d'ordre ν, pour la source S_s et le détecteur $D_d^{(s)}$, peut être développé en série de Taylor afin d'appliquer la formulation de Newton-Raphson :

$$M^{(\nu)} = F^{(\nu)}(p + \delta p) = F^{(\nu)}(p) + J^{(\nu)}(p)\delta p, \tag{4.54}$$

$p(r) = \left[\mu_a(r), \kappa(r)\right]^T$ est le vecteur contenant les propriétés optiques du milieu et $J^{(\nu)}(p)$ est la dérivée de Freshet de l'opérateur direct $F^{(\nu)}$, définie par :

$$J^{(\nu)} = \begin{bmatrix} \partial F^{(\nu)}(D_1^{(1)}, S_1)/\partial\mu_a & \partial F^{(\nu)}(D_1^{(1)}, S_1)/\partial\kappa \\ \partial F^{(\nu)}(D_2^{(1)}, S_1)/\partial\mu_a & \partial F^{(\nu)}(D_2^{(1)}, S_1)/\partial\kappa \\ & \vdots \\ \partial F^{(\nu)}(D_D^{(1)}, S_S)/\partial\mu_a & \partial F^{(\nu)}(D_D^{(1)}, S_S)/\partial\kappa \end{bmatrix} \tag{4.55}$$

La forme discrète de cette dérivée est la matrice jacobienne de l'opérateur. Le calcul extrêmement long de cette matrice à partir de sa relation de définition (équation 4.55) peut être évité en utilisant la théorie de la perturbation présentée en section 4.3.1. En considérant une perturbation $\delta\mu_a$, δk respectivement en μ_a et en κ dans le système d'équations (4.53), on aboutit à :

$$\begin{aligned} &\left[\nabla\cdot(\kappa+\delta\kappa)\nabla - (\mu_a+\delta\mu_a)c\right]\left[\Psi^{(0)}(r,r_s) + \delta\Psi^{(0)}(r,r_s)\right] = -\delta(r-r_s), \\ &\left[\nabla\cdot(\kappa+\delta\kappa)\nabla - (\mu_a+\delta\mu_a)c\right]\left[\Psi^{(n)}(r,r_s) + \delta\Psi^{(n)}(r,r_s)\right] = -n\left[\Psi^{(n-1)}(r,r_s) + \delta\Psi^{(n-1)}(r,r_s)\right], \\ &c\left[\Psi^{(n)}(r,r_s) + \delta\Psi^{(n)}(r,r_s)\right] + 2(\kappa+\delta\kappa)A\vec{n}\cdot\nabla\left[\Psi^{(n)}(r,r_s) + \delta\Psi^{(n)}(r,r_s)\right]\Big|_{r\in\partial\Omega} = 0. \end{aligned} \tag{4.56}$$

En développant l'équation (4.56), en négligeant les termes d'ordre deux et en gardant $\delta\kappa$ invariant sur $\delta\Omega$, nous obtenons la récurrence suivante :

$$\begin{aligned} \delta\Psi^{(n)}(r,r_s) &= -\int_\Omega \Psi^{(0)}(r,r')\delta\mu_a(r')c\Psi^{(n)}(r',r_s)dr' - \int_\Omega \nabla_{r'}\Psi^{(0)}(r,r')\delta\kappa\nabla_{r'}\Psi^{(n)}(r',r_s)dr' \\ &+ n\int_\Omega \Psi^{(0)}(r,r')\delta\Psi^{(n-1)}(r',r_s)dr', n \geq 0 \end{aligned} \tag{4.57}$$

Après discrétisation de μ_a et κ et en appliquant les équations (4.18), (4.55), (4.56) et (4.57), la perturbation du moment d'ordre n de la lumière réémise $\delta T^{(n)}$ due aux perturbations $\delta\mu_a$, δk peut être écrite sous la forme matricielle suivante :

$$\delta T^{(n)}\left(D_D^{(s)}, S_s\right) = J_a^{(T^{(n)})}\left(D_D^{(s)}, S_s\right)\delta\mu_a + J_k^{(T^{(n)})}\left(D_D^{(s)}, S_s\right)\delta k, \quad n \geq 0 \tag{4.58}$$

Les jacobiennes $J_{\mu_a}^{(T^{(n)})}$ et $J_{\kappa}^{(T^{(n)})}$ pour les moments de la lumière réémise $T^{(n)}$ (n = 0, 1) utilisés dans cette thèse sont données par :

$$J_{\mu_a}^{(T^{(0)})}(D_d{}^{(s)},S_s)=\begin{bmatrix}-\int_\Omega T^{(0)}(D_d{}^{(s)},r)c\Psi^{(0)}(r,S_s)u_1(r)dr\\-\int_\Omega T^{(0)}(D_d{}^{(s)},r)c\Psi^{(0)}(r,S_s)u_2(r)dr\\-\int_\Omega T^{(0)}(D_d{}^{(s)},r)c\Psi^{(0)}(r,S_s)u_D(r)dr\end{bmatrix}^T,$$

$$J_{k}^{(T^{(0)})}(D_d{}^{(s)},S_s)=\begin{bmatrix}-\int_\Omega \nabla_r T^{(0)}(D_d{}^{(s)},r)\nabla_r\Psi^{(0)}(r,S_s)u_1(r)dr\\-\int_\Omega \nabla_r T^{(0)}(D_d{}^{(s)},r)\nabla_r\Psi^{(0)}(r,S_s)u_2(r)dr\\-\int_\Omega \nabla_r T^{(0)}(D_d{}^{(s)},r)\nabla_r\Psi^{(0)}(r,S_s)u_D(r)dr\end{bmatrix}^T,$$

$$J_{\mu_a}^{(T^{(1)})}(D_d{}^{(s)},S_s)=\begin{bmatrix}-\int_\Omega \left[T^{(0)}(D_d{}^{(s)},r)\Psi^{(1)}(r,S_s)+T^{(1)}(D_d{}^{(s)},r)\Psi^{(0)}(r,S_s)\right]cu_1(r)dr\\-\int_\Omega \left[T^{(0)}(D_d{}^{(s)},r)\Psi^{(1)}(r,S_s)+T^{(1)}(D_d{}^{(s)},r)\Psi^{(0)}(r,S_s)\right]cu_2(r)dr\\-\int_\Omega \left[T^{(0)}(D_d{}^{(s)},r)\Psi^{(1)}(r,S_s)+T^{(1)}(D_d{}^{(s)},r)\Psi^{(0)}(r,S_s)\right]cu_D(r)dr\end{bmatrix}^T, \quad (4.59)$$

$$J_{\kappa}^{(T^{(1)})}(D_d{}^{(s)},S_s)=\begin{bmatrix}-\int_\Omega \left[\nabla_r T^{(0)}(D_d{}^{(s)},r)\nabla_r\Psi^{(1)}(r,S_s)+\nabla_r T^{(1)}(D_d{}^{(s)},r)\nabla_r\Psi^{(0)}(r,S_s)\right]u_1(r)dr\\-\int_\Omega \left[\nabla_r T^{(0)}(D_d{}^{(s)},r)\nabla_r\Psi^{(1)}(r,S_s)+\nabla_r T^{(1)}(D_d{}^{(s)},r)\nabla_r\Psi^{(0)}(r,S_s)\right]u_2(r)dr\\\vdots\\-\int_\Omega \left[\nabla_r T^{(0)}(D_d{}^{(s)},r)\nabla_r\Psi^{(1)}(r,S_s)+\nabla_r T^{(1)}(D_d{}^{(s)},r)\nabla_r\Psi^{(0)}(r,S_s)\right]u_D(r)dr\end{bmatrix}^T$$

La jacobienne $J_\gamma^{(\langle t\rangle)}$ du temps moyen $\langle t\rangle$ est obtenue à partir des jacobiennes des deux premiers moments par l'équation :

$$J_\gamma^{(\langle t\rangle)}\left(D_d^{(s)},S_s\right)=\frac{J_\gamma^{(T^{(0)})}\left(D_d^{(s)},S_s\right)}{T^{(0)}\left(D_d^{(s)},S_s\right)}-\langle t\rangle\left(D_d^{(s)},S_s\right)\frac{J_\gamma^{(T^{(0)})}\left(D_d^{(s)},S_s\right)}{T^{(0)}\left(D_d^{(s)},S_s\right)} \quad (4.60)$$

$\gamma\in(\mu_a,\kappa)$.

*4.3.3.2 **Jacobienne des points de la TPSF***

Quand l'intérêt est porté sur la totalité des points de la TPSF et non pas sur ses moments, l'équation utilisé est l'équation (4.18) exprimant cette TPSF. L'équivalent de l'équation (4.57) s'écrit :

$$\delta\Gamma\left(D_d^s,S_s,t\right)=-\int_0^t\int_\Omega\left[\Gamma\left(D_d^s,r,t-\tau\right).\Phi\left(r,S_s,\tau\right)c\delta\mu_a\left(r\right)+\nabla_r\Gamma\left(D_d^s,r,t-\tau\right).\nabla_r\Phi\left(r,S_s,\tau\right)\delta\kappa(r)\right]drd\tau \quad (4.61)$$

où $\delta\Gamma\left(D_d^s,S_s,t\right)$ représente la perturbation sur les points de la TPSF $\Gamma\left(D_d^s,S_s,t\right)$ due aux perturbations $\delta\mu_a$ et $\delta\kappa$ lors de l'utilisation de la source S_s et du détecteur $D_d^{(s)}$.

Les matrices jacobiennes pour l'absorption et la diffusion sont données par :

$$J_{\mu_a}\left(D_d^s,S_s,t\right)=\begin{bmatrix}-\int_0^\infty\int_\Omega\Gamma\left(D_d^s,r,t_i-\tau\right)\Phi\left(r,S_s,\tau\right)cu_1\left(r\right)drd\tau\\-\int_0^\infty\int_\Omega\Gamma\left(D_d^s,r,t_i-\tau\right)\Phi\left(r,S_s,\tau\right)cu_2\left(r\right)drd\tau\\-\int_0^\infty\int_\Omega\Gamma\left(D_d^s,r,t_i-\tau\right)\Phi\left(r,S_s,\tau\right)cu_D\left(r\right)drd\tau\end{bmatrix}^T \tag{4.62}$$

$$J_\kappa\left(D_d^s,S_s,t\right)=\begin{bmatrix}-\int_0^\infty\int_\Omega\nabla_r\Gamma\left(D_d^s,r,t_i-\tau\right).\nabla_r\Phi\left(r,S_s,\tau\right)u_1\left(r\right)drd\tau\\-\int_0^\infty\int_\Omega\nabla_r\Gamma\left(D_d^s,r,t_i-\tau\right).\nabla_r\Phi\left(r,S_s,\tau\right)u_2\left(r\right)drd\tau\\-\int_0^\infty\int_\Omega\nabla_r\Gamma\left(D_d^s,r,t_i-\tau\right).\nabla_r\Phi\left(r,S_s,\tau\right)u_D\left(r\right)drd\tau\end{bmatrix}^T \tag{4.63}$$

Dans les équations (4.62) et (4.63) les convolutions dans le domaine temporel peuvent être calculées par une simple multiplication dans le domaine fréquentiel en utilisant les transformées de Fourier directe et inverse. L'avantage de la convolution en termes de volume de stockage a favorisé son utilisation durant les travaux de cette thèse.

4.3.4 **Informations à priori**

Le couplage des systèmes TOD avec des imageurs fournissant des images anatomiques a été l'objet de plusieurs travaux recherches. Ces systèmes hybrides ont permis d'améliorer les images reconstruites, en termes de résolution spatiale et de précision des images paramétriques. Cette imagerie multimodale permet de fournir des données physiologiques locales et plus précises des tissus étudiés [68-88]. Cependant, une question fondamentale persiste : comment utiliser au mieux l'information spatiale obtenue des images structurelles pour améliorer la précision de la TOD ? Nous avons analysé cette question, compte tenu de l'existence dans le laboratoire d'un système d'imagerie IRM préclinique. L'IRM préclinique fournit des images de haute résolution spatiale (≈ 0,1 mm), tandis que l'imagerie TOD a une résolution spatiale relativement faible (≈ 4-7 mm), mais fourni des informations physiologiques de grand intérêt.

Le problème inverse en TOD est connu pour être un problème non-linéaire, mal posé et mal conditionné [9]. Li *et al* [71] ont exploité les images de mammographie X pour le choix des paramètres de régularisation des différentes régions d'intérêt et des tissus environnants. Cette méthode a montré que le contraste et la résolution des images reconstruites pouvaient être nettement améliorés.

D'autres recherches ont montré que le contraste de la TOD peut être corrélé à celui de l'IRM [70,73,77,81,82]. Les algorithmes permettant d'exploiter l'information à priori sont classés en deux catégories en fonction du degré de confiance en celle-ci.

4.3.4.1 ***Algorithme avec hard à priori***

Dans ce type d'algorithme, la confiance en l'information structurelle issue de la segmentation des images IRM est totale. Elle peut être utilisée pour réduire le nombre de paramètres inconnus à estimer dans le processus d'inversion du problème inverse en TOD [78]. Ceci est obtenu en réduisant la taille de la matrice de NxN à NxR, où N est le nombre de nœuds et R le nombre de régions segmentées dans les images IRM. On écrit alors :

$$\tilde{J}=JK \tag{4.64}$$

K est la matrice portant l'information sur les régions. Elle est donnée par :

$$K = \begin{bmatrix} k_{1,1} & k_{1,2} & \cdots & k_{1,R} \\ k_{2,1} & k_{2,2} & \cdots & k_{2,R} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ k_{N,1} & k_{N,2} & \cdots & k_{N,R} \end{bmatrix} \tag{4.65}$$

avec

$$k_{j,n} = \begin{cases} 1, & j \in R_n \\ 0, & j \notin R_n \end{cases} \tag{4.66}$$

où R_n représente la région n.

Lors de l'utilisation de cette jacobienne modifiée, l'équation (4.42) de la section 4.3.1.2 devient :

$$\Delta x = \left[\tilde{J}^T \tilde{J} + \lambda I \right]^{-1} \tilde{J}^T \Delta M \tag{4.67}$$

Δx est le vecteur des propriétés optiques et ΔM la différence entre les mesures et les simulations.

Le problème majeur de cette approche est le potentiel d'introduire une erreur en imposant des hypothèses incorrectes dans le modèle. Boverman *et al* ont démontré récemment que malgré la présence d'erreurs dans l'information structurelle, cette méthode hard à priori améliore considérablement la localisation des hétérogénéités [72,83,84].

4.3.4.2 ***Algorithme avec soft à priori***

Une autre approche d'intégration de l'information à priori est basée sur le fait que les variations des propriétés optiques dans une région donnée sont uniformes. Ceci est obtenu par le contrôle des matrices de régularisation [79,80,85,86]. Brooksby *et al* ont introduit un terme de régularisation de type Laplacien L, qui relie la propriété optique de chaque nœud aux autres nœuds du maillage [79,80,83-85].

$$L = \begin{cases} 0, & i \text{ et } j \text{ ne sont pas des nœuds de la même région} \\ -1/N_R, & i \text{ et } j \text{ sont des nœuds de la même région} \\ 1, & i = j \end{cases} \tag{4.68}$$

En utilisant la matrice L, l'équation (4.42) de la section 4.3.1.2 devient :

$$\Delta x = \left[J^T J + \lambda L^T L \right]^{-1} J^T \Delta M \tag{4.69}$$

Le calcul de Δx peut se réaliser en même temps pour μ_a et μ_s'. Cependant le paramètre de régularisation λ n'est pas le même pour les deux coefficients, ainsi $\Delta\mu_a$ et $\Delta\mu_s$' sont calculés séparément en utilisant l'équation (4.67) et (4.69) lors de l'utilisation d'un algorithme utilisant un hard ou un soft à priori [87].

4.3.5 **Reconstruction d'images de fluorescence**

*4.3.5.1 **Formulation du problème direct***

La propagation des photons d'excitation et de fluorescence dans les milieux diffusant peut être modélisée par les équations de diffusion couplées dans le domaine temporel [88-91] :

$$\begin{aligned}&\left[-\nabla\cdot\kappa_x(r)\nabla+\mu_{ax}(r)+\frac{1}{c}\frac{\partial}{\partial t}\right]\Phi_x(r,t)=q_x(r,t),\\&\left[-\nabla\cdot\kappa_m(r)\nabla+\mu_{am}(r)+\frac{1}{c}\frac{\partial}{\partial t}\right]\Phi_m(r,t)=\frac{\eta\varepsilon C(r)}{\tau}\int_0^t\Phi_x(r,t')e^{\frac{t-t'}{\tau}}dt',\end{aligned}\tag{4.70}$$

ε est le coefficient d'extinction molaire du fluorophore, C sa concentration, η le rendement quantique et τ le temps de vie de fluorescence. Les indices x et m indiquent respectivement les photons d'excitation et de fluorescence. Comme le montre la deuxième équation du système, la source de fluorescence est exprimée par la convolution de la densité des photons $\Phi_x(r,t)$ par le déclin exponentiel de l'émission de fluorescence.

Comme évoqué dans le chapitre 2.3.1, cette formulation exprime les profils temporels de fluorescence en fonction de six paramètres tissulaires : μ_a et μ_s' aux longueurs d'onde d'excitation et de fluorescence, concentration (ηεC) et temps de vie τ de fluorescence. Compte tenu du caractère mal posé de la TODF, de nombreuses solutions équivalentes peuvent être trouvées lors de la reconstruction des images de ces six paramètres. La reconstruction d'images de fluorescence est donc particulièrement complexe. S'il est possible d'augmenter le nombre de mesures, ou d'utiliser plus d'informations à priori en couplant l'appareil de TODF et un dispositif d'imagerie anatomique, la plupart des chercheurs ont donc proposé des solutions alternatives pour simplifier le problème de reconstruction [92-95]. Nous exposerons ci dessous la méthode proposée par Schulz *et al* sous le nom de « lumière totale » [96], que nous avons utilisé dans nos premiers travaux en fluorescence.

*4.3.5.2 **Approche en lumière totale***

Selon ces auteurs, la lumière totale correspond à la somme de la lumière d'excitation et de la lumière de fluorescence à temps de vie nul. La première composante est mesurée par TOD. La seconde est calculée en déconvoluant les données de TODF de la décroissance exponentielle régie par le temps de vie.

Une seconde simplification, très discutable *in-vivo*, est apportée dans cette méthode. Elle consiste à considérer que les propriétés optiques du milieu sont égales aux longueurs d'onde d'excitation et d'émission : $\mu_{ax}(r) = \mu_{am}(r) = \mu_a(r)$ [97]. L'absorption par le fluorophore est supposée nulle dans la bande de fluorescence. Le coefficient d'absorption à la longueur d'onde d'excitation est égal à la somme des coefficients du milieu et du fluorophore :

$$\mu_{at}(r) = \mu_a(r) + \ln(10).\varepsilon C(r)\tag{4.71}$$

Sous ces hypothèses, le système d'équations (4.70) peut s'écrire comme suit :

$$\begin{aligned}&\left[-\nabla\cdot\kappa(r)\nabla+\mu_{at}(r)+\frac{1}{c}\frac{\partial}{\partial t}\right]\Phi_x(r,t)=q_x(r,t)\\&\left[-\nabla\cdot\kappa(r)\nabla+\mu_a(r)+\frac{1}{c}\frac{\partial}{\partial t}\right]\Phi_m^*(r,t)=\eta\varepsilon C(r)\Phi_x(r,t)\end{aligned}\tag{4.72}$$

$\Phi_m^*(r,t)$ est la densité de photons émis avec l'hypothèse de temps de vie nul.

En développant μ_{at} dans l'équation de diffusion à la longueur d'onde d'excitation, l'expression de la « lumière totale » s'écrit :

$$\left[-\nabla\cdot\kappa(r)\nabla+\mu_a(r)+\frac{1}{c}\frac{\partial}{\partial t}\right]\Phi_t(r,t)=q_x(r,t) \tag{4.73}$$

Le terme $\Phi_t(r,t)$ de la « lumière totale » est égal à :

$$\Phi_t(r,t)=\frac{\ln(10)}{\eta}\Phi_m^*(r,t)+\Phi_x(r,t) \tag{4.74}$$

Les densités de photons $\Phi_x(r,t)$ et $\Phi_t(r,t)$ peuvent être calculés en résolvant respectivement la première équation du système (4.72) et l'équation (4.73).

$\Phi_m^*(r,t)$ est obtenue à partir de l'équation (4.74). La densité de photon $\Phi_m(r,t)$ de lumière émise avec le temps de vie de fluorescence τ peut finalement être calculée par convolution de $\Phi_m^*(r,t)$ avec la fonction du temps de vie. Ce calcul suppose que le temps de vie τ est homogène à l'intérieur du tissu imagé [98] :

$$\Phi_m(r,t)=\frac{1}{\tau}\int_0^t\Phi_m^*(r,t')e^{\frac{-(t-t')}{\tau}}dt' \tag{4.75}$$

Comme pour la TOD, la méthode de lumière totale proposée reprend les conditions aux limites de Robin, appliquée aux longueurs d'onde d'absorption et d'émission.

4.3.5.3 ***Problème inverse en lumière totale***

L'algorithme de reconstruction utilisant la méthode de lumière totale est l'équivalent d'un algorithme réalisant une double reconstruction TOD. En effet, les deux densités de photons $\Phi_x(r,t)$ et $\Phi_t(r,t)$ sont obtenues par la résolution de l'équation de diffusion. Les aspects spécifiques à cette méthode sont les suivants.

4.3.5.3.1 Déconvolution des données de fluorescence

Avant de réaliser l'inversion du problème correspondant à l'équation (4.73), il est nécessaire de calculer $\Phi_m^*(r,t)$. Ce calcul consiste en la déconvolution des $TPSF_m(r_b,t)$ par la fonction du temps de vie de fluorescence afin d'obtenir les données $TPSF_m^*(r_b,t)$ simulant l'émission des photons avec un temps de vie nul. Cette étape est réalisée à l'aide de l'algorithme de déconvolution de Van Cittert [96,99]:

$$TPSF_{m,k}^*=TPSF_{m,k-1}^*+\left(TPSF_m-TPSF_{m,k-1}^*\otimes T\right) \tag{4.76}$$

k est le nombre d'itérations. L'opérateur $\otimes$ correspond au produit de convolution. Cette étape est appliquée à tous les profils temporels obtenus pour chaque couple source-détecteur. Cette déconvolution étant une étape de prétraitement des données, elle n'est pas incluse dans le processus itératif d'inversion [100].

4.3.5.3.2 Principe d'inversion du problème

Le principe du calcul de la distribution de la concentration d'un fluorophore donné à l'intérieur d'un tissu à l'aide de la méthode de la lumière totale est schématisé dans la figure 4.5.

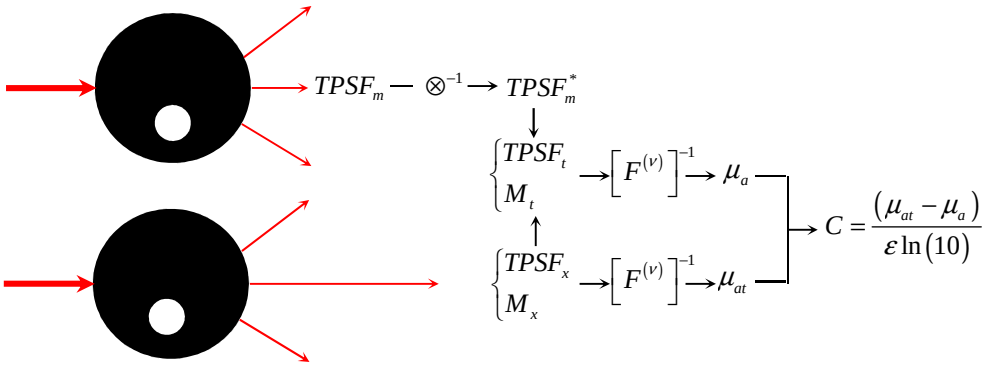


Figure 4.5 : Reconstruction de la concentration d'un fluorophore par la méthode de la lumière totale.

Les coefficients $\mu_a(r)$ et $\mu_{at}(r)$ sont reconstruits en inversant respectivement la première équation du système (4.72) et l'équation (4.73). Cette inversion peut être effectuée en utilisant un des trois types de données présentés en section 4.5.2.

La concentration C(r) en n'importe quel point r du tissu est calculée en fonction des deux coefficients d'absorption μ_a et μ_{at} comme suit :

$$C(r) = \frac{\left[\mu_{at}(r) - \mu_a(r)\right]}{\varepsilon.\ln(10)} \tag{4.77}$$

L'avantage majeur de l'algorithme de reconstruction utilisant l'approche en lumière totale réside dans le fait que la concentration du fluorophore et les propriétés optiques du tissu sont calculées de manière simultanée (Fig. 4.5). De plus, cette approche permet de s'affranchir de l'étape de convolution qui apparait dans la seconde équation du système (4.70), qui devait être mené à chaque itération du processus d'inversion. L'approche en lumière totale réduit ainsi le temps total de la reconstruction à environ 10% du temps requis pour l'inversion du système d'équations (4.70) [100].

Cette méthode exige cependant des approximations peu compatibles avec une application préclinique, et la programmation de la résolution des équations couplées reste indispensable. Cette étape nécessitera le calcul des jacobiennes des données utilisées par rapport à la concentration des fluorophores et au temps de vie de fluorescence.

4.4 Références

[1] Arridge S.R., Cope M., Delpy D.T., *"The theoretical basis for the determination of optical pathlengths in tissue: temporal and frequency analysis"*, Phys. Med. Biol., **37**, 1531-1560, (1992).

[2] Boas D. A., *"Diffuse photon probes of structural and dynamical properties of turbid media: Theory and biomedical applications"*, Université de Pennsylvanie, USA, (1992).

[3] Kervella M., Tarvainen T., Humeau A., L'Huillier J.P., *"Comparison between two hybrid models for photon migration in biological tissues"*, IRBM, **28**, 80-85, (2007).

[4] Yuan Z., Zhang Q., Sobel E., Jiang H ., *"Comparison of diffusion approximation and higher order diffusion equations for optical tomography of osteoarthritis"*, J. Biomed. Opt., **14**, 054013,(2009).

[5] Tarvainen T., Vauhkonen M., Kolehmainen V., Kaipio J. P., *"Finite element model for the coupled radiative transfer equation and diffusion approximation"*, Int. J. Numer. Meth. Eng., **65**, 383-405, (2006).

[6] Dehghani H., Delpy D. T., Arridge S. R., *"Photon migration in non-scattering tissue and the effects on image reconstruction"*, Phys. Med. Biol., **44**, 2897-2906, (1999).

[7] Arridge S. R., Dehghani H., Schweiger M., Okada E., *"The finite element model for the propagation of light in scattering media: a direct method for domains with nonscattering regions"*, Med. Phys., **27**, 252-264, (2000).

[8] Tarvainen T., Vauhkonen M., Kolehmainen V., Arridge S.R., Kaipio J.P., *"Coupled radiative transfer equation and diffusion approximation model for photon migration in turbid medium with low-scattering and non-scattering regions"*, Phys. Med. Biol., **50**, 4913-4930, (2005).

[9] Arridge S. R., *"Optical tomography in medical imaging"*, Inv. Prob., **15**, R41-93, (1999).

[10] Duderstadt J. J., Matin W. R., *"Transport Theory"*, Wiley, New York, (1979).

[11] Ishimaru A., *"Wave propagation and scattering in random media"*, Academic Press, NewYork, (1978).

[12] Egan W. G., Hilgeman T. W., *"Optical Properties of Inhomogeneous Materials"*, Academic, New York, (1979).

[13] Groenhuis R. A. J., Ten Bosh J. J., Ferwerda H. A.,*"Scattering and absorption of turbid materials determined from reflection measurements. 2: Measuring method and calibration"*, Appl. Opt., **22**, 2463-2467, (1983).

[14] Gao F., Poulet P., Yamada Y., *"Simultaneous Mapping of Absorption and Scattering Coefficients from a Three-Dimensional Model of Time-Resolved Optical Tomography"*, Appl. Opt., **39**, 5898-5910, (2000).

[15] Patterson M. S., Chance B., Wilson B. C., *"Time resolved reflectance and transmittance for non-invasive measurement of tissue optical properties"*, Appl. Opt., **28**, 2331-2336, (1989).

[16] Chandrasekhar S., *"Stochastic problem in physics and astronomy"*, Rev. Mod. Phys., **15**, 1-88, (1943).

[17] Contini D., Martelli F., Zaccanti G., *"Photon migration through a turbid slab described by a model based on diffusion approximation. I. Theory"*, Appl. Opt., **36**, 4587-4599, (1997).

[18] Prahl S. A., Keijzer M., Jacques S. I., Welch A. J., *"A Monte Carlo Model of Light Propagation in Tissue"*, SPIE Institute Series, **IS5**, 102-111, (1989).

[19] Arridge S. R., *"Photon measurement density functions, part I: analytical forms"*, Appl. Opt., **34**, 7395-7409, (1995).

[20] Feng S., Zeng F.A., Chance B., *"Photon migration in the presence of a single defect: a perturbation analysis"*, Appl. Opt., **34**, 3826-3837, (1995).

[21] Boas D. A., Culver J. P., Scott J. J., Dunn A. K., *"Three dimensional Monte Carlo code for photon migration through complex heterogeneous media including adult human head"*, Opt. Express, **10**, 159-170, (2002).

[22] Wilson B. C., Adam G., *"A Monte Carlo model for the absorption and flux distributions of light in tissue"*, Med. Phys., **10**, 824-830, (1983).

[23] Flock S. T., Patterson M. S., Wilson B. C., Wyman D. R., *"Monte carlo modeling of light propagation in highly scattering tissues I : Model predictions and comparaison with diffusion theory"*, IEEE Trans. Biomed. Eng., **36**, 1162-1168, (1989).

[24] Hasegawa Y., Yamada Y., Tamura M., Nomura Y., *"Monte carlo simulation of light transmission through living tissues"*, Appl. Opt., **30**, 4515-4520, (1991).

[25] Hiraoka M., Firbank M., Essenpreis M., Cope M., Arridge S. R., Van der Zee P., Delpy D. T., *"A monte carlo investigation of optical pathlength in inhomogeneous tissue and its application to near infrared spectroscopy"*, Phys. Med. Biol., **38**, 1859- 1876, (1993).

[26] Tinet E., Avrillier S., Tualle J. M., Ollivier J. P., *"Fast semi-analytical Monte Carlo simulation for time resolved light propagation in turbid media"*, J. Opt. Soc. Am. A., **13**, 1903-1915, (1996).

[27] http://omlc.ogi.edu/software/mc/

[28] Romaniuk B., Desvignes M., Revenu M., Deshayes M. J., *"Shape variability and spatial relationships modeling in statistical pattern recognition"*, Pattern Recog. Lett., **25**, 239-247, (2004).

[29] Zienkiewicz O. C., Taylor R. L., *"The finite element method, 1: Basic formulation and linear problems"*, McGraw Hill, 4th Edition, (1989).

[30] Arridge S. R., Schweiger M., Hiraoka M., Delpy D. T., *"A finite element approach for modeling photon transport in tissue"*, Med. Phys., **20**, 299-309, (1993).

[31] Birk U. J., Darrell A., Konstantinides N., Sarasa-Renedo A., Ripoll J., *"Improved reconstructions and generalized filtered back projection for optical projection tomography"*, Appl. Opt., **50**, 392-398, (2011).

[32] Levenberg K., *"A method for the solution of certain nonlinear problems in least squares"*, Q. Appl. Math., **2**, 164-168, (1944).

[33] Marquardt D. W., *"An algorithm for least squares estimation of nonlinear parameters"*, J. Soc. Ind. Appl. Math., **11**, 431-441, (1963).

[34] Jiang H., Paulsen K. D., Osterberg U., Pogue B. W., Patterson M. S., *"Simultaneous reconstruction of optical absorption and scattering maps in turbid media from near-infrared frequency-domain data"*, Opt. Lett., **20**, 2128-2130, (1995).

[35] Arridge S. R., *"Forward and inverse problems in time resolved infrared imaging"*, Med. Opt. Tomog., **IS11**, 35-64, (1993).

[36] Dehghani H., Barber D. C., Basarab-Horwath I., *"Incorporating a priori anatomical information into image reconstruction in electrical impedance tomography"*, Physiol. Meas., **20**, 87-102, (1999).

[37] Tikhonov A. N., *"Regularization of mathematically incorrectly posed problems"*, Soviet. Math. Dokl., **4**, 1624-1627, (1963).

[38] Paulsen K. D., Jiang H., *"Spatially varying optical property* reconstruction using a finite *element diffusion equation approximation"*, Med. Phys., **22**, 691, (1995).

[39] Srinivasan S., Pogue B. W., Dehghani H., Jiang S., Song X., Paulsen K. D., *"Improved quantification of small objects in near-infrared diffuse optical tomography"*, J. Biomed. Opt., **9**, 1161-1171, (2004).

[40] Yalavarthy P. K., Pogue B. W., Dehghani H., Paulsen K. D., *"Weight-matrix structured regularization provides optimal generalized least-squares estimate in diffuse optical tomography"* , Med. Phys., **34**, 2085-2098, (2007).

[41] Yalavarthy P. K., Pogue B. W., Dehghani H., Carpenter C. M., Jiang S., Paulsen K. D., *"Structural information within regularization matrices improves near infrared diffuse optical tomography"*, Opt. Express., **15**, 8043-8058, (2007).

[42] Hielscher A. H., Klose A. D., Hanson K. M., *"Gradient-based iterative image reconstruction scheme for time-resolved optical tomography"*, IEEE Trans. Med. Imag.,**18**, 262-271, (1999).

[43] Hielscher A. H., Klose A., Beuthan J., *"Evolution strategies for optical tomographic characterization of homogeneous media"*, Opt. Express, **9**, 507-518, (2000).

[44] Arridge S. R., Schweiger M., *"A gradient based optimisation scheme for optical tomography"*, Opt. Express., **2**, 213-226, (1998).

[45] Kaczmarz S., *"Angenäherte Auflösung von Systemen linearer Gleichungen"*, Bulletin International de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres. Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles. Série A, Sciences Mathématiques, **35**, 355-357, (1937).

[46] Gordon R., Bender R., Herman G. T., *"Algebraic reconstruction techniques (ART) for threedimensional electron microscopy and x- ray photography"*, J. Theor. Biol., **29**, 471-481, (1970).

[47] Herman G. T., *"Fundamentals of computerized tomography: Image reconstruction from projection"*, 2nd edition, Springer, (2009).

[48] Keren S., Gheysens O., Levin C. S., Gambhir S. S., *"A comparison between a time domain and continuous wave small animal optical imaging system"*, IEEE Trans. Med. Imaging, **27**, 58-63, (2008).

[49] Arridge S. R., Lionheart W. R. B., *"Nonuniqueness in diffusion-based optical tomography"*, *Opt. Lett.*, **23**, 882 -884, (1998).

[50] Schweiger M., Arridge S. R., *"Application of temporal filters to time-resolved data in optical tomography"*, Phys. Med. Biol., **44**, 1699-1717, (1999).

[51] Gao F., Zhao H., Yamada Y., *"Improvement of Image Quality in Diffuse Optical Tomography by use of Full Time-Resolved Data"*, Appl. Opt., **41**, 778-79, (2002).

[52] Gao F., Zhao H., Onodera Y., Sassaroli A., Tanikawa Y., Yamada Y., *"Image reconstruction from experimental measurements of a multichannel time-resolved optical tomographic imaging system,"* in Optical Tomography and Spectroscopy of Tissue IV, Chance B., Alfano R. R., Tromberg B. J., Tamura M., Sevick-Muraca E. M., eds., Proc. SPIE, **4250**, 351-361, (2001).

[53] Hillman E. M. C., Hebden J. C., Schmidt F. E. R., Arridge S. R., Schweiger M., Dehghani H., Delpy D. T., *"Calibration techniques and datatype extraction for time-resolved optical tomography"*, Rev. Sci. Instrum., **71**, 3415-3427, (2000).

[54] Schmidt F. E. W., Hebden J. C., Hillman E. M. C., Fry M. E., Schweiger M., Dehghani H., Delpy D. T., Arridge S. R., *"Multiple-slice imaging of a tissue-equivalent phantom by use of time-resolved optical tomography"* , Appl. Opt., **39**, 3380-3387, (2000).

[55] Schmidt F. E. W., Fry M. E., Hillman E. M. C., Hebden J. C., Delpy D. T., *"A 32-channel time-resolved instrument for medical optical tomography"*, Rev. Sci. Instrum., **71**, 256-265, (2000).

[56] Herman G. T., *"Image Reconstruction from Projections: the Fundamentals of Computerized Tomography"*, Academic, New York, (1980).

[57] Model R., Orlt M., Walzel M., Hünlich R., *"Reconstruction algorithm for near-infrared imaging in turbid media by means of time-domain data"*, J. Opt. Soc. Am. A., **14**, 313-324, (1997).

[58] Arridge S. R., Schweiger M., *"A general framework for iterative reconstruction algorithms in optical tomography"*, In IMA Volumes in Mathematics and its Applications: Computational Radiology and Imaging, therapy and Diagnosis, Edition Borgers C., Natterer F., Springer-Verlag Berlin, **110**, 45-70, (1998).

[59] Gandjbakhche A. H., Bonner R. F., Nossal R., Weiss G. H., *"Absorptivity contrast in transillumination imaging of tissue abnormalities"*, Appl. Opt., **35**, 1767-1774, (1996).

[60] Gandjbakhche A. H., Chernomordik V., Hebden J. C., Nossal R., *"Time-Dependent Contrast Functions for Quantitative Imaging in Time-Resolved Transillumination Experiments"*, Appl. Opt., **37**, 1973-1981, (1998).

[61] Cubeddu R., Pifferi A., Taroni P., Torricelli A., Valentini G., *"Imaging of optical inhomogeneities in highly diffusive media: Discrimination between scattering and absorption contributions"*, Appl. Phys. Lett. , **69**, 4162, (1996).

[62] Cubeddu R., Pifferi A., Taroni P., Torricelli A., Valentini G., *"Imaging with Diffusing Light: An Experimental Study of the Effect of Background Optical Properties"*, Appl. Opt., **37**, 3564-3573, (1998).

[63] Venugopal V., Chen J., Intes X., *"Development of an optical imaging platform for functional imaging of small animals using widefield excitation"*, Biomed. Opt. Express., **1**, 143-156, (2011).

[64] Nouizi F., Torregrossa M., Chabrier R., Poulet P., *"Improvement of absorption and scattering discrimination by selection of sensitive points on temporal profile in diffuse optical tomography"*, Opt. Express, **19**, 12843-12854, (2011).

[65] Barbour R. L., Graber H. L., Wang Y., Chang J. H., Aronson R., *"A perturbation approach for optical diffusion tomography using continuous-wave and time-resolved data"*, In Medical Optical Tomography: Functional Imaging and Monitoring, Muller G., Chance B., Alfano R., Arridge S., Beuthan J., Gratton E., Kaschke M., Masters B., Svanberg S., Van de Zee P., eds., Vol. IS11 of SPIE Institute Series, Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers, Bellingham, Wash., 87-120, (1993).

[66] Gao F., Zhao H., Niu H., *"A study of numerical simulation of image reconstruction in optical computer tomography"*, Bioimaging, **5**, 51-57, (1997).

[67] Torregrossa M., *"Reconstruction d'images obtenues par tomographie optique dans le proche infrarouge"*, Université de Louis Pasteur, (2003).

[68] Zhu Q., Chen N. G., Kurtzman S. C., *"Imaging tumor angiogenesis by use of combined near-infrared diffusive light and ultrasound"*, Opt. Lett., **28**, 337-339, (2003).

[69] Zhang Q., Brukilacchio T. J., Li A., Stott J. J., Chaves T., Hillman E., Wu T., Chorlton M., Rafferty E., Moore R. H., Kopans D. B., Boas D. A., *"Coregistered tomographic x-ray and optical breast imaging: initial results"*, J. Biomed. Opt., **10**, 1-9, (2005).

[70] Brooksby B., Jiang S., Kogel C., Doyley M., Dehghani H., Weaver J. B., Poplack S. P., Pogue B. W, Paulsen K. D., *"Magnetic resonance guided near infrared tomography of the breast"*, Rev. Sci. Instrum., **75**, 5262-5270, (2004).

[71] Li A., Miller E. L., Kilmer M. E., Brukilacchio T. J., Chaves T., Stott J., Zhang Q., Wu T., Chorlton M., Moore R. H., Kopans D. B., Boas D. A., *"Tomographic optical breast imaging guided by three-dimensional mammography"*, Appl. Opt., **42**, 5181-5190, (2003).

[72] Li A., Boverman G., Zhang Y., Brooks D., Miller E. L., Kilmer M. E., Zhang Q., Hillman E. M. C., Boas D. A., *"Optimal linear inverse solution with multiple priors in diffuse optical tomography"*, Appl. Opt., **44**, 1948-1956, (2005).

[73] Ntziachristos V., Yodh A. G., Schnall M., Chance B., *"Concurrent MRI and diffuse optical tomography of breast after indocyanine green enhancement"*, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., **97**, 2767-2772, (2000).

[74] Boverman G., Miller E. L., Li A., Zhang Q., Chaves T., Brooks D. H., Boas D., *"Quantitative spectroscopic diffuse optical tomography of the breast guided by imperfect a priori structural information"*, Phys. Med. Biol., **50**, 3941-3956, (2005).

[75] Barbour R. L., Graber H. L., Chang J. W., Barbour S. L. S., Koo P. C., Aronson R., *"MRI-guided optical tomography: Prospects and computation for a new imaging method"*, IEEE Comp. Sci. Eng., **2**, 63-77, (1995).

[76] Hielscher A. H., Bartel S., *"Use of penalty terms in gradient-based iterative reconstruction schemes for optical tomography"*, J. Biomed. Opt., **6**, 183-192, (2001).

[77] Ntziachristos V., Ma X. H., Chance B., *"Time-correlated single photon counting imager for simultaneous magnetic resonance and near-infrared mammography"*, Rev. Sci. Instrum., **69**, 4221-4233, (1998).

[78] Brooksby B., Dehghani H., Pogue B. W., Paulsen K. D., *"Near infrared (NIR) tomography breast image reconstruction with a priori structural information from MRI: algorithm development for reconstructing heterogeneities"*, IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron., **9**, 199-209, (2003).

[79] Brooksby B., Jiang S., Dehghani H., Pogue B. W., Paulsen K. D., Weaver J., Kogel C., Poplack S. P., *"Combining near infrared tomography and magnetic resonance imaging to study in vivo breast tissue: implementation of a Laplacian-type regularization to incorporate magnetic resonance structure"*, J. Biomed. Opt., **10**, 1-10, (2005).

[80] Brooksby B., Pogue B. W., Jiang S., Dehghani H., Srinivasan S., Kogel C., Tosteson T. D., Weaver J., Poplack S. P., Paulsen K. D., *"Imaging breast adipose and fibroglandular tissue molecular signatures using Hybrid MRI-Guided Near-Infrared Spectral Tomography"*, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., **103**, 8828-8833, (2006).

[81] Torregrossa M., Zint C. V., Poulet P., *"Effects of prior MRI information on image reconstruction in diffuse optical tomography"*, in Novel Optical Instrumentation for Biomedical Applications, Albert C. Boccara, Proc. of SPIE, **5143**, 29-40, (2003).

[82] Torregrossa M., Zint C. V., Poulet P., *"The use of MRI information to initialize the first stage of the image reconstruction algorithm in optical tomography"*, in Optical Tomography and Spectroscopy of Tissue V, Britton Chance, Robert Alfano, Bruce Tromberg, Mamoru Tamura, Eva Sevick-Muraca, Proc. of SPIE , **4955**, 264-272, (2003).

[83] Lin Y., Yan H., Nalcioglu O., Gulsen G., *"Quantitative fluorescence tomography with functional and structural a priori information"*, Appl. Opt., **48**, 1328-1336, (2009).

[84] Dehghani H., Srinivasan S., Pogue B. W., Gibson A., *"Numerical modelling and image reconstruction in diffuse optical tomography"*, Phil. Trans. R. Soc., **367**, 1900 3073-3093, (2009).

[85] Brooksby B., Srinivasan S., Jiang S., Dehghani H., Pogue B. W., Paulsen K. D., Weaver J., Kogel C., Poplack S. P., *"Spectral priors improve near-infrared diffuse tomography more than spatial priors"*, Opt. Lett., **30**, 1968-1970, (2005).

[86] Davis S. C., Dehghani H., Wang J., Jiang S., Pogue B. W., Paulsen K. D., *"Image-guided diffuse optical fluorescence tomography implemented with Laplacian-type regularization"*, Opt. Express, **15**, 4066-4082, (2007).

[87] Lin Y., Gao H., Nalcioglu O., Gulsen G., *"Fluorescence diffuse optical tomography with functional and anatomical a priori information: feasibility study"*, Phys. Med. Biol., **52**, 5569-5585, (2007).

[88] Yamada Y., *"Light-tissue interaction and optical imaging in biomedicine"*, in *Annual Review of Heat Transfer*, C. L. Tien, eds., **6**, 1-59, (1995).

[89] Patterson M., Pogue B. W., *"Mathematical model for time-resolved and frequency-domain fluorescence spectroscopy in biological tissues"*, Appl. Opt., **33**, 1963-1974, (1994).

[90] Hutchinson L., Lakowicz R., Sevick-Muraca M., *"Fluorescence lifetime based sensing in tissues: a computational study"*, Biophys. J., **68**, 1574-1582, (1995).

[91] Muraca S., Burch L., *"Origins of phosphorescence signals reemitted from tissue"*, Opt. Lett., **19**, 1928-1930, (1994).

[92] Leblond F., Davis S. C., Valdés P. A., Pogue B. W., *"Pre-clinical whole-body fluorescence imaging: Review of instruments, methods and applications"*, J. Photochem. Photobiol. B, **98**, 77-94, (2010).

[93] Gao F., Zhao H., Tanikawa Y., Yamada Y., *"A linear, featured-data scheme for image reconstruction in time-domain fluorescence molecular tomography"*, Opt. Express, **14**, 7109-7124, (2006).

[94] Gao F., Zhao H., Zhang L., Tanikawa Y., Marjono A., Yamada Y., *"A self-normalized, full time-resolved method for fluorescence diffuse optical tomography"*, Opt. Express, **16**, 13104-13121, (2008).

[95] Gao F., Li J., Zhang L., Poulet P., Zhao H., Yamada Y., *"Simultaneous fluorescence yield and lifetime tomography from time-resolved transmittances of small-animal-sized phantom"*, Appl. Opt., **49**, 3163-3172, (2010).

[96] Schulz R., Peter J., Semmler W., Bangerth W., *"Independent modeling of fluorescence excitation and emission with the finite element method"*, in OSA Biomedical Optics Topical Meeting, Technical Digest, **ThF24**, OSA, (2004).

[97] Sadoqi M., Riseborough P., Kumar S., *"Analytical models for time resolved fluorescence spectroscopy in tissues"*, Phys. Med. Biol., **46**, 2725, (2001).

[98] Farrel T., Patterson M., *"Diffusion modelling of fluorescence in tissue"*, in *Handbook of Biomedical Fluorescence*, Mycek M. and Pogue W., eds., 29-60, (2003).

[99] Marjono A., Akira Y., Okawa S., Gao F., Yamada Y., *"Full time-resolved fluorescence diffuse optical tomography using total light approach"*, in OSA Biomedical Optics Topical Meeting, Technical Digest, **BMD33**, OSA, (2008).

[100] Marjono A., Akira Y., Okawa S., Gao F., Yamada Y., *"Total light approach of time-domain fluorescence diffuse optical tomography"*, Opt. Express, **16**, 15268-15285, (2008).

5 Résultats : données simulées

Avant d'envisager d'appliquer les méthodes de reconstruction d'images décrites dans le chapitre 4 sur des données expérimentales, il est nécessaire de les évaluer sur des données simulées. Cette étape permet de valider les méthodes, en évitant d'injecter des erreurs de mesure non connues en entrée.

Nous avons donc calculé des données simulées, par résolution du problème direct, sur des objets simulant des objets tests, pour lesquels nous aurons la possibilité d'acquérir des données expérimentales à l'aide du tomographe résolu en temps décrit dans le chapitre 3.

Nous présenterons successivement la génération des données simulées, puis la reconstruction d'images à partir de ces données. Ces travaux ont été réalisés en utilisant le logiciel Comsol Multiphysics®, par l'écriture de scripts sous Matlab (The Mathworks^{TM}). Chaque partie est divisée en deux. L'une est consacrée à des objets cylindriques, dans les configurations avec et sans contact. L'autre se rapporte à un objet simulé en forme de souris, conçu à partir de la mesure de la surface 3D d'un animal. Chacun des objets simulés est utilisé pour générer des profils temporels de photons diffusés et de photons de fluorescence. Les images reconstruites à partir de ces données seront exposées et discutées dans la seconde partie de ce chapitre.

5.1 Génération des données

5.1.1 Objets simulés cylindriques

La résolution du problème direct nécessite la construction de modèles numériques de mêmes formes que les objets imagés. Compte tenu de la symétrie cylindrique du tomographe réalisé, les premiers objets test fabriqués sont des cylindres. Le mode de fabrication et la description de ces objets ont été faits en section 3.3.

5.1.1.1 Géométries étudiées

En mode d'acquisition avec les fibres optiques en contact avec l'objet test, celui-ci est un cylindre de diamètre égal au diamètre intérieur du support des fibres, soit 40 mm. Pour tester le mode d'acquisition sans contact, des cylindres de diamètre égal à 28 mm ont été fabriqués. Ils permettent d'avoir un espace vide entre leur surface et les extrémités des fibres sources et détecteurs du système.

Les cylindres simulés ont des propriétés optiques égales à celles des objets tests fabriqués. Les propriétés considérées sont : l'indice de réfraction (n), le coefficient d'absorption (μ_a), le coefficient de diffusion réduite (μ_s'). Dans les cas requis, les propriétés de fluorescence simulées seront le produit de la concentration du fluorophore par son rendement quantique de fluorescence (ηC), et le temps de vie de fluorescence (τ).

Ces propriétés peuvent être homogènes sur la totalité du cylindre. En ce cas, le cylindre C pourra servir d'objet de référence de propriétés homogènes. Des inclusions de propriétés optiques différentes peuvent être ajoutées pour modéliser des milieux hétérogènes. Ces objets simulés seront utilisés pour étudier la propagation de la lumière dans des milieux diffusants contenant des hétérogénéités, évaluer les effets de ces hétérogénéités sur les TPSF et leurs moments, comparer les images reconstruites et vraies de ces objets simulés. La figure 5.1 présente les différents objets cylindriques discutés précédemment.

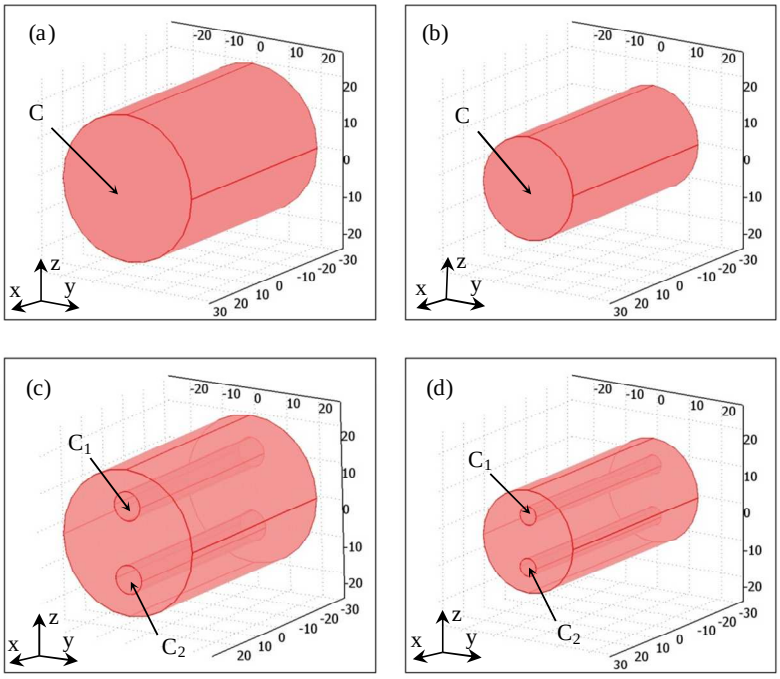


Figure 5.1: Modèles numériques cylindriques: (a,b) homogènes, (c,d) hétérogènes. Objets de 40 mm, illumination et détection en contact (a,c) ; de 28 mm, détection sans contact (b,d,).

5.1.1.1.1 Maillage

L'étape suivant la construction de la géométrie du modèle est son maillage. Notre choix s'est porté sur un maillage tétraédrique. Chacun des éléments de ce maillage est un tétraèdre ayant quatre sommets, appelés *nœuds* du maillage. Les tétraèdres ayant trois de leurs nœuds sur la surface du modèle composent les *éléments tétraédriques de bord*. L'ensemble des éléments triangulaires composés des trois nœuds des éléments tétraédriques de bord représentent les *éléments triangulaires de bord* ou *éléments du maillage de la surface* du modèle.

La figure 5.2 illustre les maillages des cylindres homogènes de 40 et de 28 mm ainsi obtenus (a,b). Les dimensions des différents éléments sont peu dispersées, comme représenté par le code de couleur des figures 5.2 (c,d).

5.1.1.1.2 Sources, détecteurs et amélioration du maillage

Dans la résolution du problème direct, la détermination des nœuds du maillage utilisés comme sources et détecteurs est l'étape suivant le maillage de la géométrie. Dans le cas de l'approximation de la diffusion, les nœuds sources sont les sources de lumière isotrope, situés sous les points d'entrée de la lumière et à partir desquels la lumière est supposée avoir perdu son information directionnelle.

Dans l'ensemble de ce chapitre, les positions des fibres optiques utilisées comme source et comme détecteurs sont celles du tomographe optique résolu en temps décrit dans le chapitre précédent. Seize fibres sont montées, tous les 22,5°, sur un support cylindrique. Leurs extrémités sont situées sur un cercle de rayon 20 mm et elles sont alignées selon des directions radiales. Ce choix permet d'obtenir des données simulées et des images reconstruites qui pourront ensuite être comparées aux résultats expérimentaux, et de préparer les protocoles expérimentaux.

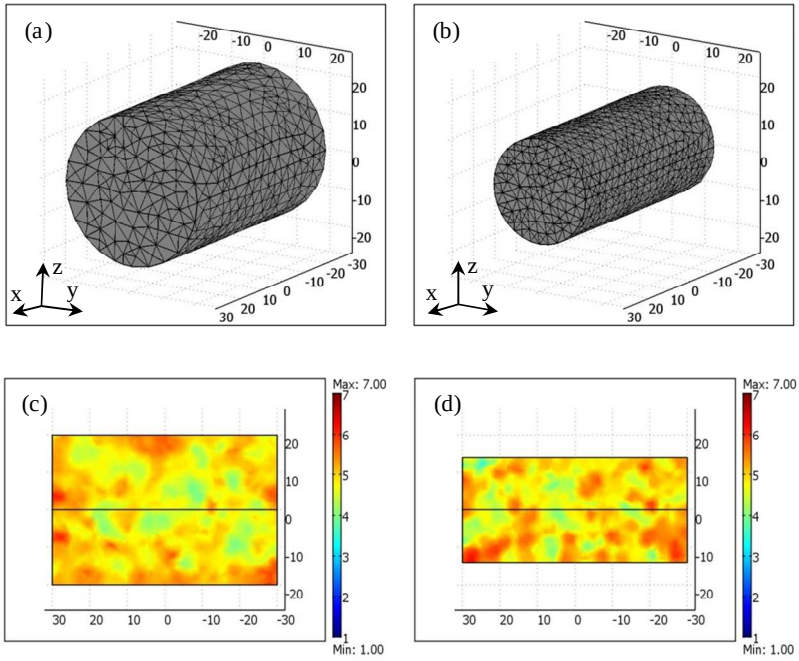


Figure 5.2 : Maillages des géométries utilisées (a,b), coupe axiale XZ présentant la taille des éléments des maillages (c,d). Illumination et détection en contact (a,c), et sans contact (b,d).

Dans la configuration avec contact, les sources correspondent aux nœuds se trouvant à $L_s' = 1/\mu_s'$ en dessous des points de contact de la surface du modèle avec les extrémités des fibres (Figure 5.3 (a,c)).

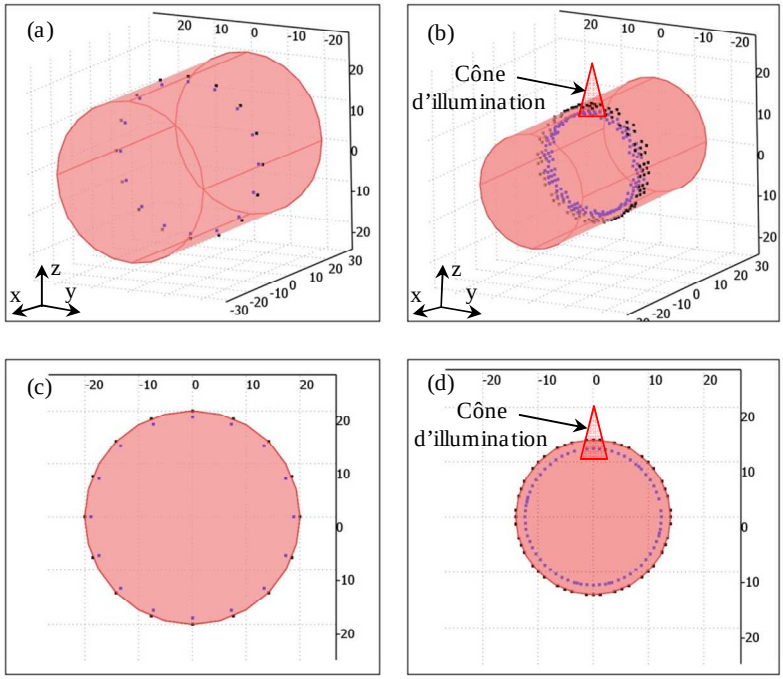


Figure 5.3 : Vue 3D (a,b) et coupe dans le plan des fibres YZ (c,d) montrant les positions des nœuds sources, $1/\mu_s'$ à l'intérieur de l'objet (en bleu) et des nœuds détecteurs sur la surface de l'objet (noir). Configuration en contact (a,c) et sans contact (b,d).

En mode sans contact, il s'agit des nœuds se trouvant à $1/\mu_s$' en dessous de la surface irradiée située dans le cône d'illumination de chacune des fibres sources (Figure 5.3 (b,d)).

Le positionnement des points de détection consiste en la détermination des points de sortie de la lumière à la surface du modèle, collectée par les fibres optiques de détection. En contact, ces points sont les nœuds sur la surface en contact avec les extrémités des fibres détectrices (Figure 5.3 (a,c)). Dans le cas de la détection sans contact, ces nœuds correspondent aux nœuds de la surface contenus dans le cône de détection de chaque fibre détectrice (Figure 5.3 (c,d)).

En pratique, le point source théorique ne correspond pas forcement à un nœud du maillage comme le montre la figure 5.4 (a). Dans ce cas, les méthodes classiques calculent son influence sur les sommets du tétraèdre qui le contient par interpolation. La figure 5.3 (a) présente ce cas sur un maillage 2D. Le point source théorique appartient au triangle ($n_1n_2n_3$). Dans la résolution de l'ED par FEM, l'information est connue uniquement sur les points du maillage. Ainsi, il est nécessaire de calculer l'influence du point source théorique sur les trois nœuds n_1, n_2 et n_3 par interpolation.

Afin de s'affranchir de cette étape d'interpolation, nous avons mis en place une nouvelle méthode permettant de mailler la géométrie utilisée dans la FEM, en tenant compte des positions des sources. Après calcul des positions théoriques des points sources, la méthode employée force le maillage à passer par ces positions. Le maillage ainsi obtenu est présenté en figure 5.4 (b).

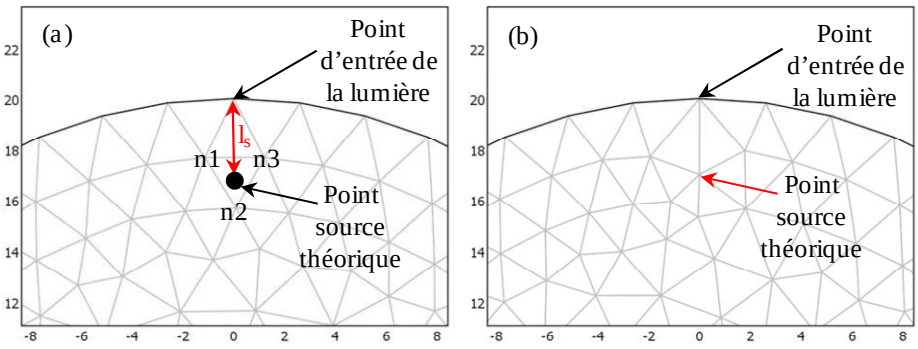


Figure 5.4 : Maillage classique et position de la source théorique (a), nouveau maillage ayant un nœud placé sur la position de la source théorique (b).

Similairement aux points source, les nœuds utilisés comme points de détection ne correspondent pas forcement aux nœuds du maillage. Notre méthode permet de la même façon que pour les points source, de fixer les points de détection et forcer le maillage à passer par leurs positions. Le deuxième avantage de la méthode de maillage calculé en fonction des positions des points sources et détecteurs est que les maillages peuvent être affinés autour de ces points. Ces régions sont très influentes sur la qualité de la simulation. En effet, l'affinement du maillage autour des sources permet d'accélérer le temps de convergence de la simulation (premiers pas de temps). L'affinement du maillage autour des détecteurs permet une meilleure estimation de la densité de photons responsables des profils mesurés.

Un autre cas où l'affinement du maillage autour de régions d'intérêt (ROI) est utilisé, est celui de l'utilisation d'informations structurelles à priori. Cette information est obtenue par segmentation d'images anatomiques (IRM, tomographie X) en plusieurs régions. Une fois les régions définies, cette information est utilisée afin de guider la génération du maillage pour augmenter le nombre d'éléments autour des contours. Cette méthode permet d'améliorer la qualité des images reconstruites en TOD ou en TODF [1-3]. Cet affinement du maillage est utilisé autour des inclusions des objets hétérogènes simulés, afin d'améliorer la qualité des données simulées.

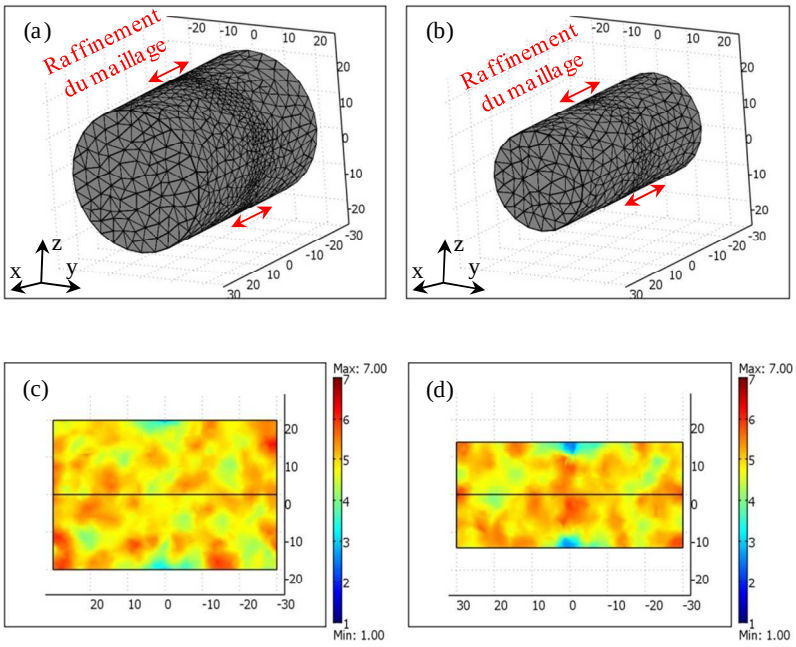


Figure 5.5 : Maillages affinés autour des sources et détecteurs (a,b), coupe XZ présentant la taille des éléments des maillages (c,d). Configuration en contact (a,c), et sans contact (b,d).

La figure 5.5 présente les maillages corrigés obtenus avec les points sources et détecteurs présentés à la figure 5.3, pour les cylindres homogènes de 40 et de 28 mm (a,b). Les dimensions des éléments au voisinage des sources et détecteurs sont réduites, comme représenté par le code de couleur des figures 5.5 (c,d).

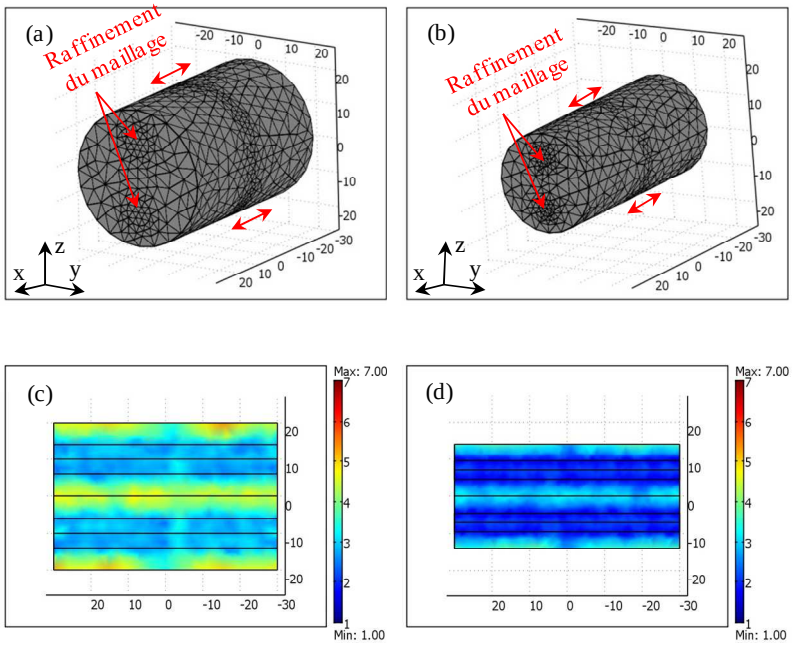


Figure 5.6 : Maillages affinés autour des inclusions, des sources et des détecteurs (a,b) et coupes XZ de la taille des éléments du maillage (c,d). Configuration en contact (a,c), et sans contact (b,d).

Les maillages générés sur les géométries hétérogènes présentées dans la figure 5.1, et affinés en utilisant les sources et détecteurs présentés dans la figure 5.4 sont présentés dans la figure 5.6.

Il est établi que la simulation la plus juste est obtenue en utilisant le maillage le plus fin. Cependant, l'augmentation du nombre de nœuds du maillage augmente considérablement le temps de calcul de la simulation. Le meilleur compromis est de définir une zone sensible autour du plan de détection (le plan des fibres) et d'affiner le maillage uniquement dans ce volume (Figure 5.7). Cette zone est déterminée avant l'étape de reconstruction et n'est pas changée au fur et à mesure de la progression du processus d'inversion [4]. La détermination de la largeur de cette zone sera décrite en section 5.2.3.

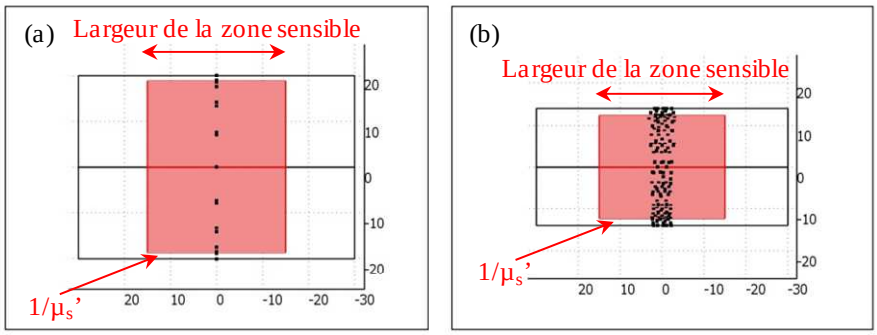


Figure 5.7 : Coupe XZ des géométries montrant les volumes sensibles autour du plan de détection. Configuration en contact (a,c), et sans contact (b,d).

La figure 5.8 présente les maillages obtenus en tenant compte de ces zones sensibles, ainsi que la taille des éléments des maillages obtenus.

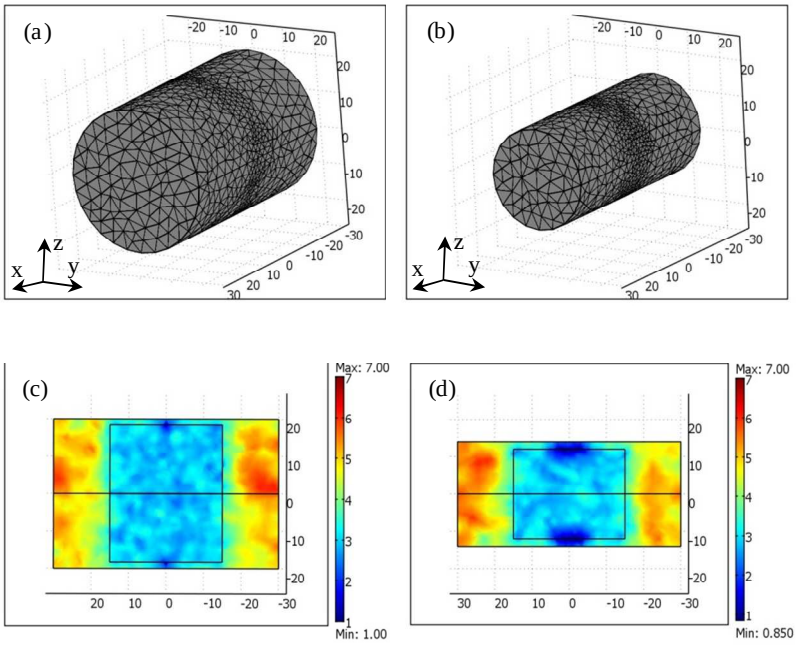


Figure 5.8 : Maillages affinés dans les zones sensibles (a,b,) et coupes XZ de la taille des éléments de maillage (c,d). Configuration en contact (a,c), et sans contact (b,d).

Les maillages présentés sur la figure 5.8 seront utilisés dans la résolution des équations de diffusion par la méthode des éléments finis (MEF).

5.1.1.2 ***Propagation de la lumière***

La dernière étape avant le calcul des profils temporels de photons diffusés ou de fluorescence collectés par les fibres détectrices est la simulation de la propagation de la lumière d'excitation ou de fluorescence à l'intérieur de la géométrie du modèle numérique. Cette étape consiste en pratique à résoudre l'équation de diffusion (ED, Eq. 4.12) ou le système d'équations de diffusion couplées (Eq. 4.70), avec les conditions aux limites de Robin (Eq. 4.15), en éclairant le milieu simulé par une impulsion de lumière en forme de distribution de Dirac à l'instant origine. La méthode de résolution choisie est la méthode des éléments finis (MEF), proposée par Comsol®. Le calcul est effectué pour les temps de propagation compris entre 0 ps et 3500 ps, avec un pas de temps de 10 ps. A l'issue de cette étape, la densité des photons diffusés ou de fluorescence est connue en chaque nœud du maillage et à chaque pas de temps après l'excitation.

5.1.1.2.1 Photons d'excitation

La densité de photons d'excitation est obtenue par résolution de l'ED. Nous présentons ci-dessous les densités de photons diffusés calculées sur les modèles numériques homogènes et hétérogènes présentés sur la figure 5.1.

Le fond C a les caractéristiques suivantes : $\mu_{aC} = 0{,}005\ mm^{-1}$, $\mu_s'_C = 0{,}6\ mm^{-1}$, n=1,54.

L'inclusion C_1 présente une hétérogénéité en diffusion, elle possède un $\mu_s'_{C1} = 5.\mu_s'_C$.

L'inclusion C_2 simule une hétérogénéité en absorption, avec $\mu_{aC2} = 10.\mu_{aC}$.

Les spécifications des maillages obtenus pour les objets homogènes et hétérogènes, et pour les analyses avec et sans contact, sont présentées dans le tableau 5.1.

		Nombre de nœuds	Eléments tétraédriques	Eléments triangulaire de surface
En contact	Homogène	6898	37588	3526
	Hétérogène	8811	47163	6448
Sans contact	Homogène	6106	30927	3584
	Hétérogène	7310	38651	5321

Tableau 5.1 : Maillages utilisés dans les simulations des objets cylindriques.

La figure 5.9 présente les densités de photons d'excitation sur les surfaces des objets homogènes et hétérogènes de 40 mm et de 28 mm de diamètre. Les temps choisis pour les représentations sont t = 1 ns (géométrie avec contact) et t = 600 ps (détection sans contact). Ils correspondent aux temps auxquels la densité de photons est maximale sur la surface de l'objet en regard de la fibre détectrice placée à 180° de la fibre source. Dans le repère de la figure 5.9, la source est positionnée à x = z = 0 mm et y = -20 mm.

On observe une réduction de la densité de photons sur les surfaces des objets hétérogènes, en comparaison avec les objets homogènes. La présence des inclusions C_1 et C_2 de propriétés optiques différentes à l'intérieur des objets hétérogènes doit également induire une dissymétrie des densités de photons sur les surfaces de ces objets.

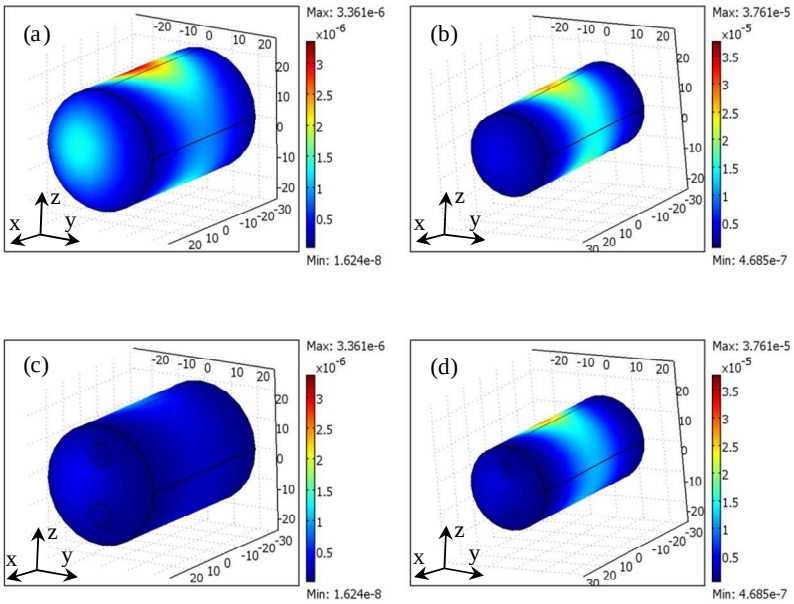


Figure 5.9 : Densités de photons d'excitation sur les surfaces des objets homogènes (a,b), et hétérogènes (c,d). Configuration en contact, t = 1 ns (a,c) ; sans contact, t = 600 ps (b,d).

Cette dissymétrie est mieux visible sur les coupes permettant de visualiser la densité des photons à l'intérieur de l'objet. La figure 5.10 présente la densité de photons diffusés dans le plan de détection, d'abscisse x = 0 mm. On observe en particulier une densité de photons plus élevée au voisinage de l'inclusion plus diffusante C_1 (en haut) que vers l'inclusion plus absorbante C_2.

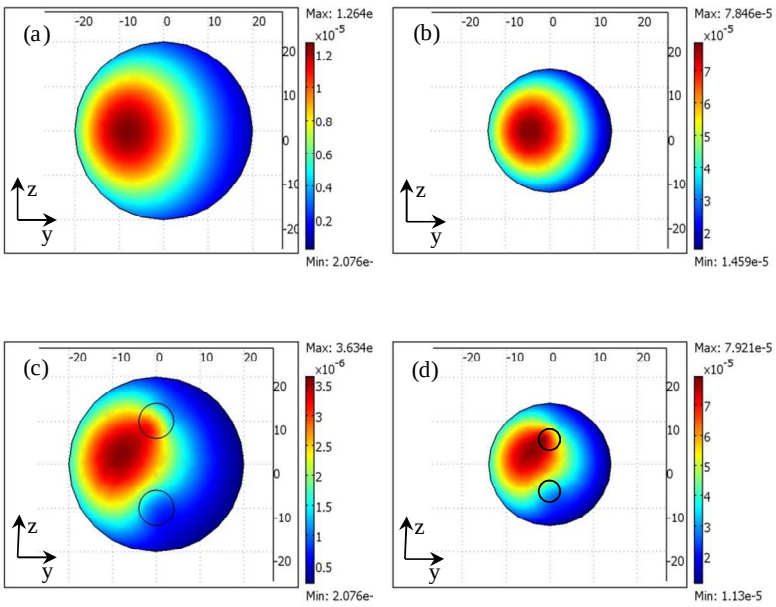


Figure 5.10 : Coupes à x = 0 mm des densités de photons d'excitation dans les objets homogènes et hétérogènes. Configuration en contact à t = 1 ns (a,c) et sans contact à t = 600 ps (b,d).

Ces différences de propagation des photons à travers les objets homogènes et hétérogènes se traduiront par des variations des densités de photons sur les surfaces des objets homogènes et des objets hétérogènes, significatives de la présence et de la nature absorbante ou diffusante de ces hétérogénéités.

5.1.1.2.2 Photons de fluorescence

La densité de photons de fluorescence est obtenue par la résolution des équations de diffusion couplées (Eq. 4.70). Les géométries utilisées pour les simulations de la propagation des photons de fluorescence sont composées des cylindres C représentant le fond et C_2 utilisé comme inclusion fluorescente.

Les simulations ont été effectuées en utilisant les paramètres suivants : $\mu_{ax,m} = 0{,}005$ mm^{-1}, $\mu_s'_{x,m} = 0{,}6$ mm^{-1} et n = 1,54. Ce choix est fait dans le but de mettre en évidence l'émission des photons de fluorescence sans aucune différence en absorption due à la fixation du fluorophore afin de séparer les deux phénomènes. Les valeurs de $\eta = 0{,}016$, $\tau = 560$ ps et $\varepsilon_{778} = 13000$ mm^{-1}.mol^{-1}.L ont été choisies afin de simuler les caractéristiques de l'ICG à la longueur d'onde d'excitation de 778 nm [5,6]. Deux concentrations d'ICG ont été simulées : 5 et 10 µmol.L^{-1}. Il convient de noter que de telles concentrations se traduisent par des coefficients d'absorption de 0,15 et 0,3 mm^{-1} à la longueur d'onde d'excitation, supérieurs au coefficient d'absorption du fond C. Les simulations ont été calculées de 0 ps à 3500 ps avec un pas de temps de 10 ps, avec les caractéristiques de maillage du tableau 5.2.

	Nombre de nœuds	Eléments tétraédriques	Eléments triangulaire de surface
En contact	8811	47163	6448
Sans contact	6106	30927	3584

Tableau 5.2 : Maillages utilisés dans les simulations de fluorescence.

La figure 5.11 présente les densités de photons de fluorescence sur les surfaces des modèles numériques, aux 2 concentrations d'ICG à t = 1250 ps (modèle en contact) et à t = 750 ps (modèle sans contact) après son illumination par une source positionnée à x = z = 0 mm et y = -20 mm. Le point de vue est fixé légèrement en-dessous des objets afin de mieux visualiser la surface en face de l'inclusion fluorescente.

La figure 5.11 montre que la densité de photons de fluorescence sur la surface des objets est maximale en face de l'inclusion. Cette densité de photons n'est pas uniformément répartie à la surface en regard de l'inclusion et est centrée autour du plan de la fibre d'illumination (x = 0 mm). Cette simulation met en évidence le fait que la distribution de la lumière de fluorescence est très sensible à la position des inclusions de fluorophore. Ce résultat est à l'origine du potentiel, et du succès de la TODF préclinique pour réaliser l'imagerie 3D de la distribution de fluorophores tissulaires, alors que l'imagerie 3D des propriétés optiques par TOD reste encore largement à démontrer.

La comparaison des images à 5 et 10 µmol/L montre que la densité de photons de fluorescence à la surface dépend à peu près linéairement de la concentration en fluorophore. La discussion de la quantification des cartes de fluorophore sera abordée lors de la comparaison des profils temporels.

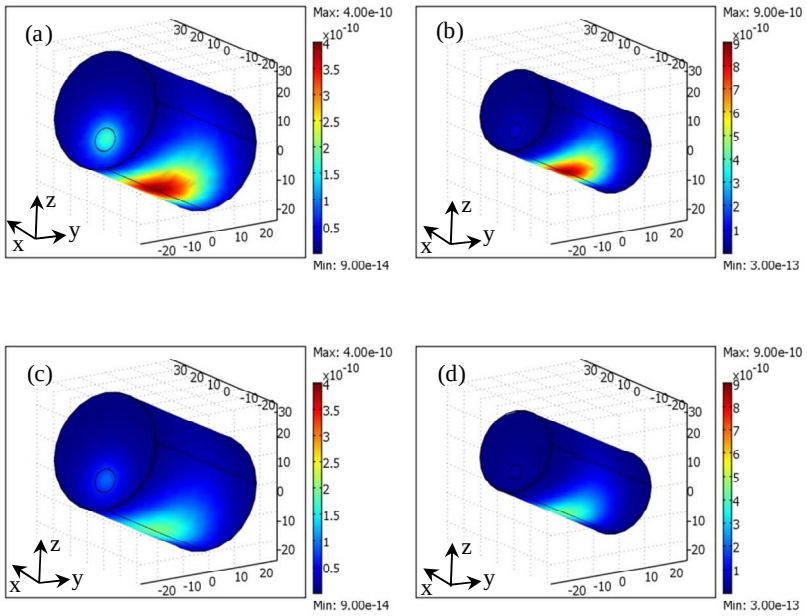


Figure 5.11 : Densités de photons de fluorescence sur les surfaces des objets avec une inclusion fluorescente : ICG 10 µmol/L (a,b) et 5 µmol/L (c,d). Détection en contact, t = 1250 ps (a,c) et sans contact, t = 750 ps (b,d). Source d'excitation à x = z = 0 mm et y = -20 mm.

La figure 5.12 présente les densités de photons de fluorescence sur la coupe transversale passant par le plan de détection à x = 0 mm. On note clairement l'origine des photons de fluorescence.

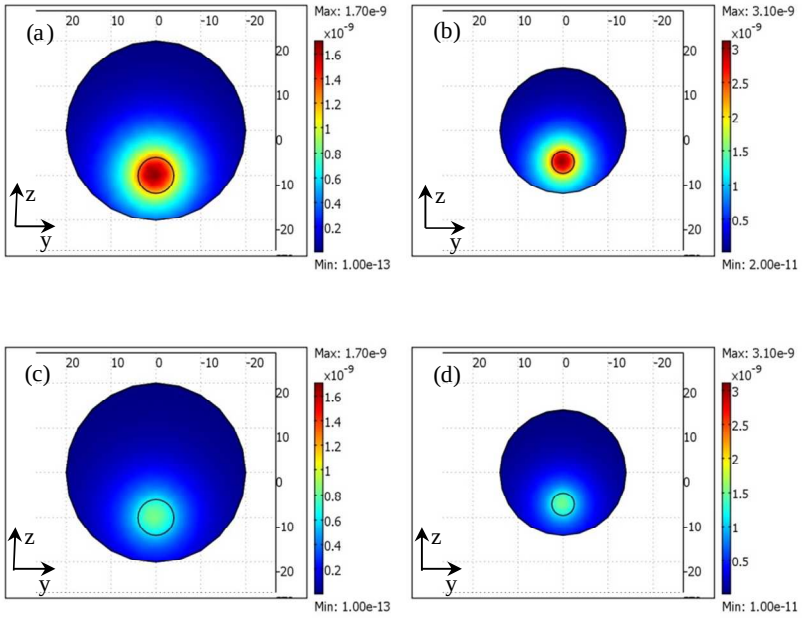


Figure 5.12 : Coupes à x = 0 mm des densités de photons de fluorescence. Configuration en contact à t = 1250 ps (a,c) ; sans contact à t = 750 ps (b,d). Source à x = z = 0 mm et y = -20 mm.

5.1.1.3 Profils temporels

Dans la configuration en contact, les profils temporels des photons diffusés ($TPSF_x$) et de fluorescence ($TPSF_m$) correspondent aux densités de photons sur les nœuds du maillage de surface situés aux points de contact des fibres détectrices avec la surface de l'objet (Eq. 4.18).

Dans le mode sans contact, les TPSF sont calculées par la méthode décrite dans la section 2.2 , en fonction de la position des détecteurs, de la géométrie et de l'orientation de la surface du modèle numérique et de la densité de photons calculée sur les nœuds utilisés comme détecteurs, c'est-à-dire vus par la fibre détectrice. La figure 5.13 illustre la position de trois des sept détecteurs du dispositif expérimental, d_2, d_4 et d_6, se trouvant respectivement à +135°, 180° et -135° de la fibre source et pour lesquelles les TPSF seront présentées dans la suite de ce paragraphe.

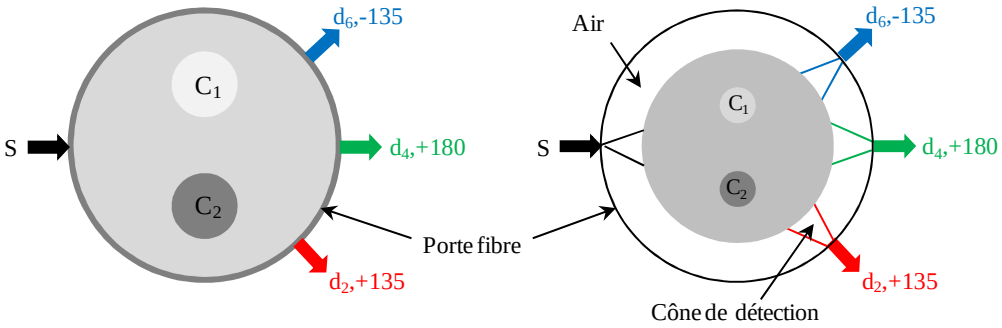


Figure 5.13 : Position des fibres détectrices d_2, d_4 et d_6 autour des objets en contact (gauche), et sans contact (droite) lors de l'illimitation par la fibre source S.

Le détecteur d_6 est positionné en regard de l'inclusion plus diffusante. Le détecteur d_2 est positionné en face de l'inclusion plus absorbante. Enfin, le détecteur d_4 est positionné en face d'une zone homogène, symétrique par rapports aux deux inclusions. Cette configuration est choisie afin de comparer trois profils de photons spécifiques. De plus, la symétrie entre les détecteurs d_2 et d_6 permet d'attribuer la différence entre les TPSF détectées par ces détecteurs à une différence de propriétés internes. Cette hypothèse est possible car les distances source – détecteurs, S - d_2 et S – d_6 sont égales.

5.1.1.3.1 Photons d'excitation

La figure 5.14 présente une comparaison des $TPSF_x$ détectées par les fibres détectrices illustrées en figure 5.13, sur des objets homogènes $TPSF_{homo}$ (lignes continues) et hétérogènes $TPSF_{hetero}$ (lignes discontinues).

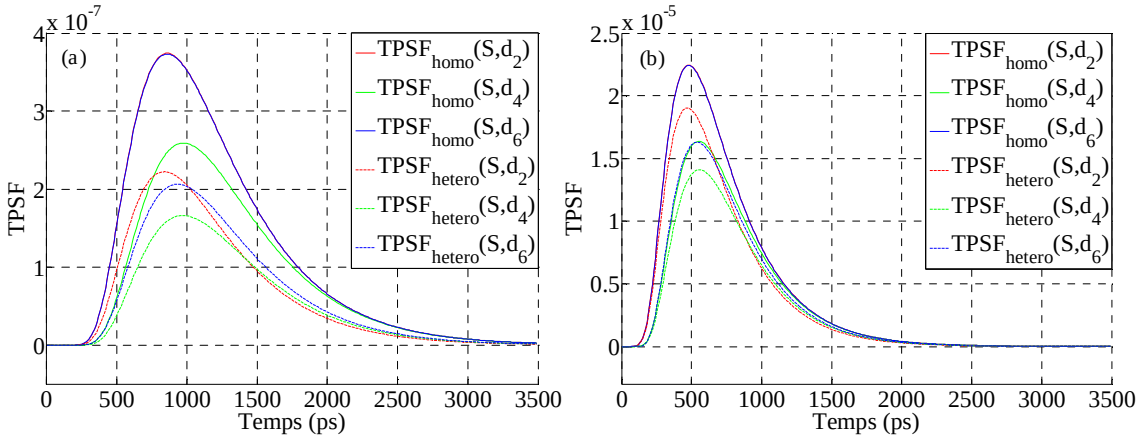


Figure 5.14 : $TPSF_x$ d'objets homogènes (lignes continues) et hétérogènes (lignes discontinues), pour 3 couples source – détecteur. Configuration en contact (a), et sans contact (b).

Comme nous l'avons observé dans le paragraphe 5.1.1.2, les densités de photons sur la surface des objets hétérogènes est différente de celles à la surface des objets homogènes. Cela se traduit par des

modifications des profils temporels calculés, visibles sur la figure 5.14. Nous avons chiffré ces différences et exprimé les écarts entre les moments des $TPSF_{homo}$ et $TPSF_{hetero}$. Les deux premiers moments, E : intensité globale, TM : temps moyen, sont comparés. Les écarts en intensité globale ec_E et en temps moyen ec_{TM} sont calculés selon les équations (5.1) :

$$\begin{cases} ec_E = 100 * \left(E_{hetero} - E_{homo} \right) / E_{homo} \\ ec_{TM} = TM_{hetero} - TM_{homo} \end{cases} \quad (5.1)$$

		d_6	d_4	d_2
Contact	E_{homo} (ua)	$3{,}90.10^{-4}$	$2{,}88.10^{-4}$	$3{,}90.10^{-4}$
	ec_E (%)	-43,5	-36,9	-42,8
	TM_{homo} (ps)	1171,3	1276,9	1171,3
	ec_{TM} (ps)	58,6	-10,7	-29,9
Sans contact	E_{homo} (ua)	$1{,}52.10^{-2}$	$1{,}18.10^{-2}$	$1{,}52.10^{-2}$
	ec_E (%)	-24,9	-13,9	-17,7
	TM_{homo} (ps)	712,2	780,1	712,2
	ec_{TM} (ps)	49,3	-2,7	-16,8

Tableau 5.3 : Comparaison des premiers moments des $TPSF_{homo}$ et $TPSF_{hetero}$ pour 3 couples source – détecteur. Configurations avec et sans contact.

Bien entendu, les $TPSF_{homo}$ des couples (S,d_2) et (S,d_6) sont égales, pour des raisons de symétrie, dans les deux configurations, avec et sans contact. Au contraire, les $TPSF_{hetero}$ de ces deux couples sont différentes. Ces différences s'expliquent aisément.

Les photons atteignant le détecteur d_6 ont probablement traversé l'inclusion plus diffusante C_1. La longueur de leur trajectoire a augmenté et la $TPSF_{hetero}$ du couple (S,d_6) a une intensité plus faible et un temps moyen plus élevé que la $TPSF_{homo}$ correspondante : $E_{hetero}(S,d_6) < E_{homo}(S,d_6)$ et $TM_{hetero}(S,d_6) > TM_{homo}(S,d_6)$.

Les photons atteignant le détecteur d_2 se sont probablement propagés à travers l'inclusion plus absorbante C_2. La proportion de photons détectés a donc diminué, et ce d'autant plus que les trajectoires de ces photons sont longues. On observe ainsi une diminution de l'intensité globale, mais aussi une légère diminution du temps moyen des TPSF correspondantes : $E_{hetero}(S,d_2) < E_{homo}(S,d_2)$ et $TM_{hetero}(S,d_2) < TM_{homo}(S,d_2)$.

Ces résultats de simulations démontrent que les inclusions plus absorbante C_1 et plus diffusante C_2 sont toutes deux responsables d'une baisse d'intensité globale des TPSF. Cependant, les influences des inclusions C_1 et C_2 sur les temps moyen des TPSF sont opposées. La présence de l'inclusion plus diffusante se traduit par une augmentation du temps moyen alors que l'inclusion plus absorbante est responsable de sa diminution. Ainsi les méthodes optiques résolues en temps sont capables de distinguer entre inclusions absorbantes et diffusantes, ce que les méthodes continues ne peuvent réaliser.

5.1.1.3.2 Photons de fluorescence

Les profils temporels des photons de fluorescence $TPSF_m$ sont calculés dans les configurations en contact et sans contact à partir des densités de photons de fluorescence à la surface (figure 5.11). Ils sont représentés sur la figure 5.15.

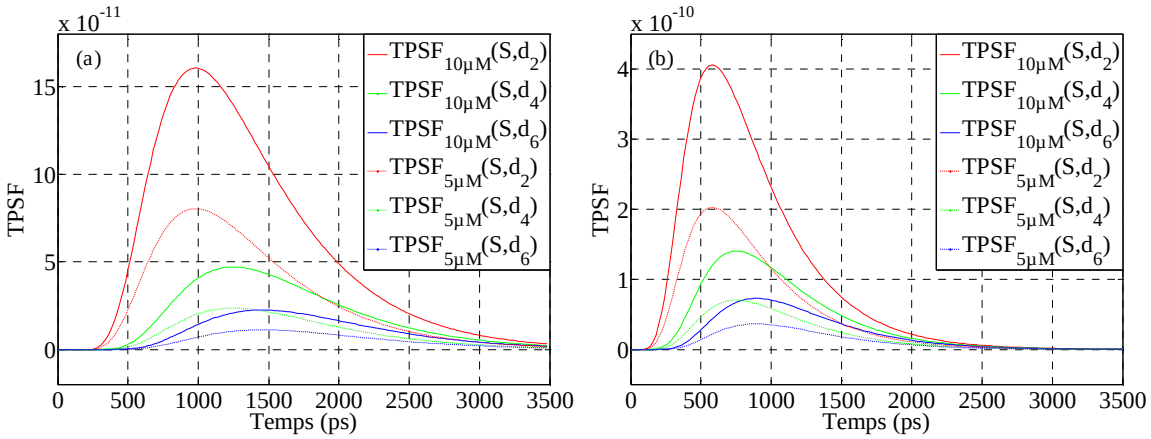


Figure 5.15 : $TPSF_m$ des photons de fluorescence, ICG 10 µmol/L (lignes continues) et 5 µmol/L (lignes discontinues), pour 3 détecteurs. Configuration en contact (a), sans contact (b).

Les $TPSF_m$ présentées en figure 5.15 sont très sensibles à la position de l'inclusion fluorescente, située en regard de d_2. Pour un détecteur donné, leurs intensités sont déterminées par les concentrations du fluorophore recherché.

Le tableau 5.4 ci-dessous présente une comparaison entre les $TPSF_{10\mu M}$ et $TPSF_{5\mu M}$ sous forme d'écarts entre leurs premiers moments (E, TM). Les écarts en intensité globale ec_E et en temps moyen ec_{TM} sont calculés en utilisant l'équation 5.1.

		d_6	d_4	d_2
Contact	$E_{10\mu M}$	$3{,}37.10^{-8}$	$6{,}57.10^{-8}$	$19{,}64.10^{-8}$
	ec_E (%)	-50	-50	-50
	$TM_{10\mu M}$ (ps)	1782	1605	1349
	ec_{TM} (ps)	0	0	0
Sans contact	$E_{10\mu M}$	$7{,}70.10^{-8}$	$13{,}64.10^{-8}$	$33.96.10^{-8}$
	err_E (%)	-50	-50	-50
	$TM_{10\mu M}$ (ps)	1175	1038	859
	err_{TM} (ps)	0	0	0

Tableau 5.4 : Comparaison des premiers moments des $TPSF_{m10\mu M}$ et $TPSF_{m5\mu M}$ pour 3 couples source – détecteur. Configurations avec et sans contact.

Dans les deux modes, avec et sans contact, nous observons que le détecteur d_2 placé en face de l'inclusion fluorescente reçoit une quantité de lumière plus importante que celles détectées par d_4 et d_2. L'intensité totale $E_m(S,d_2)$ de la $TPSF_m(S,d_2)$ est approximativement 3 fois plus grande que $E_m(S,d_4)$ et 6 fois plus grande que $E_m(S,d_6)$. Ces résultats sont justifiés par le fait que la densité de photons décroit exponentiellement avec la distance parcourue [7]. Afin d'atteindre le détecteur d_2, les photons de fluorescence émis par l'inclusion parcourent respectivement des distances 1,5 fois et 1,9 fois plus petites que celles nécessaires pour atteindre les détecteurs d_4 et d_6.

La comparaison des temps moyens des 3 TPSF, pour chacune des géométries, montre qu'ils sont proportionnels aux distances parcourues par les photons avant d'atteindre les fibres détectrices.

Les écarts relatifs en intensité totale montrent que la diminution de la concentration de moitié engendre une diminution de la quantité de la lumière de moitié. Cette linéarité est due à notre modèle, pour lequel les coefficients d'absorption des tissus ne sont pas modifiés par la présence du fluorophore. Cette linéarité ne sera pas retrouvée aux concentrations élevées, à cause de l'absorption optique du fluorophore aux longueurs d'onde d'excitation et de fluorescence [8].

On observe enfin que la diminution de concentration du fluorophore ne change pas les temps moyens des TPSF détectées sur les 3 fibres détectrices.

Ces résultats sont à l'origine d'une méthode d'imagerie de fluorescence relativement simple. Les variations des temps moyens des profils temporels en fonction des positions des paires source - détecteur permettent de localiser les sources de fluorescence dans l'objet. Les intensités globales des TPSF contiennent l'information sur la quantité de fluorophore. Une telle méthode d'analyse et de reconstruction en TODF a été proposée par Hall *et al* [9] et est utilisée dans le dispositif développé par la société ART [8].

5.1.2 Optimisation du maillage et du pas de temps

Les profils temporels simulés seront comparés aux profils mesurés, lors de la reconstruction des images. Il est donc essentiel de valider ces profils simulés. La résolution de l'équation de diffusion par la MEF dépend très fortement de la qualité du maillage et de la finesse du pas de temps. C'est la raison pour laquelle, après avoir décrit ces premiers résultats de simulation obtenus sur des objets simulés cylindriques, nous revenons sur le choix du maillage et du pas de temps.

Dans cette partie, nous présenterons une étude mettant en évidence l'influence de ces deux paramètres sur la qualité des résultats obtenus. Les simulations présentées ont été effectuées en contact sur l'objet homogène de 40 mm. Toutes les comparaisons sont menées sur les profils correspondant à la fibre de détection d_4, positionnée à 180° de la fibre source. Les profils, $TPSF_{\Delta t}$, ont été simulés avec un pas de temps Δt, sur l'objet homogène de propriétés : μ_a=0,005mm^{-1}, μ_s'=0,6 mm^{-1} et n=1,54. L'étude a porté sur la comparaison des résultats de combinaison de trois maillages et huit pas temporels différents.

Les simulations ont été réalisées pour les pas de temps suivants : 8,557, 10, 12,207, 15, 20, 25, 30 et 35 ps. Le plus petit pas temporel correspond au temps mis par un photon pour traverser le libre parcours moyen de diffusion $L_s' = 1/\mu_s' = 1{,}667$ mm. Le 3ème pas de temps est égal à la résolution temporelle expérimentale des cartes de comptage de photons utilisées dans notre dispositif expérimental.

Le tableau 5.5 présente les quatre maillages utilisés dans cette étude. Ils sont caractérisés par leurs nombre de nœuds, nombre d'éléments tétraèdraux et leur taille maximale des arêtes des tétraèdres. Nous avons observé la présence d'une erreur entre la taille des éléments spécifiée dans le logiciel Comsol® et la taille maximale réelle des éléments du maillage généré. Les différents maillages et les erreurs entre ces tailles maximales sont présentés dans le tableau 5.5.

	Nombre de nœuds	Nombre d'éléments	Taille maximale idéale des éléments (mm)	Taille maximale calculée des éléments (mm)	Erreurs entre taille idéale et calculée (%)
Maillage_ref	6889	37588	3,33	3,62	8,7
Maillage_1	5170	26641	3,66	4,03	10,1
Maillage_2	3402	16774	4,33	4,88	12,7
Maillage_3	2825	13793	4,66	5,24	12,4

Tableau 5.5 : Caractéristiques des maillages utilisés pour les simulations.

La $TPSF_{ref}$ utilisée comme référence correspond au maillage Maillage_ref. Les $TPSF_{ref_\Delta t}$ simulées avec les huit pas de temps sélectionnés sont représentées en figure 5.16 (a).

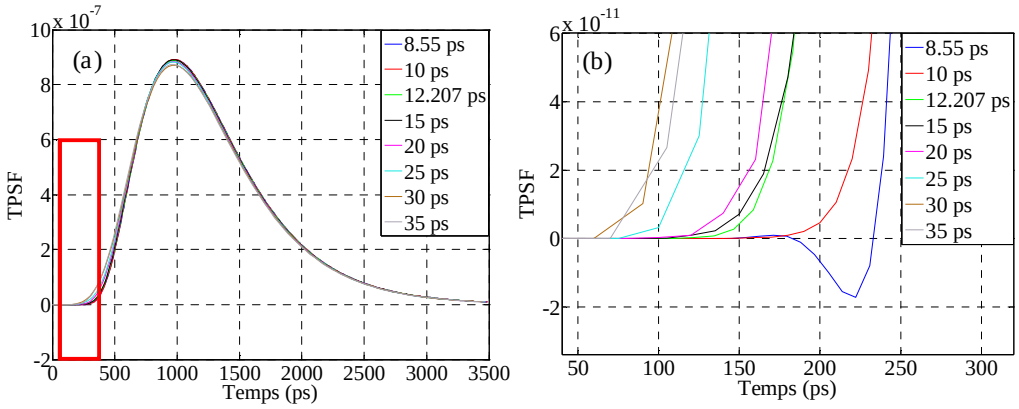


Figure 5.16 : $TPSF_{ref_\Delta t}$ simulées en utilisant Maillage_ref avec les huit pas de temps (a), agrandissement de la zone rouge montrant les pieds des fronts montants des $TPSF_{ref_\Delta t}$.(b).

Il est généralement admis que la simulation la plus précise est obtenue avec le maillage le plus fin et le pas de temps le plus court. Nous avons cependant observé (Figure 5.16 (b) des valeurs négatives du pied de la $TPSF_{ref_8.55}$ (bleue) calculée avec le pas de temps le plus court. Ainsi, la $TPSF_{ref_10}$ (rouge) au pas de temps 10 ps a été choisie comme référence $TPSF_{ref}$ pour la comparaison des résultats de toutes les simulations. Ce choix sera détaillé plus loin dans cette section.

En plus de la précision des résultats, l'autre critère de choix du maillage et du pas de temps est le temps de calcul requis. Le tableau 5.6 présente les temps de calcul (TC) et les écarts en intensité totale ($ec_{E_\Delta t}$), et en temps moyen ($ec_{TM_\Delta t}$) calculés sur toutes les TPSF par rapport à la $TPSF_{ref}$. Les résultats pour cette $TPSF_{ref}$ sont les suivants : TC = 25,57 s, E_{ref} = 9,8917.10^{-4} ua, TM_{ref} = 1,281 ns. Les écarts en intensité totale sont relatifs, ceux en temps moyen sont absolus. Ils ont été calculés en utilisant l'équation (5.2) :

$$\begin{cases} ec_{E_\Delta t} = 100 * \left(E_{mail_\Delta t} - E_{ref} \right) / E_{ref} \\ ec_{TM_\Delta t} = TM_{mail_\Delta t} - TM_{ref} \end{cases} \qquad (5.2)$$

Δt (ps)		8,55	10	12,207	15	20	25	30	35
Maillage_1	TC (s) ec_E (%) ec_{TM} (ps)	20,32 -0,03 5,93	23,54 -0,028 4,57	14,37 0,03 -2,16	18,76 0,12 -0,47	11,20 0,23 -5,39	14,90 1,20 -8,.36	11,00 1,25 -14,90	7,7 1,52 -19,59
Maillage_2	TC (s) ec_E (%) ec_{TM} (ps)	15,00 -0,82 5,44	13,30 -1,20 4,08	10,64 -0,81 1,67	8,7 -0,77 -1,05	7,6 0,57 -5,90	8,84 0,02 -10,21	5,7 0,39 -15,47	7,6 1,84 -13,93
Maillage_3	TC (s) ec_E (%) ec_{TM} (ps)	10,65 -1,16 9,58	9,54 -1,61 8,24	8,40 -1,22 5,82	6,50 -1,12 3,09	5,70 -0,85 -1,77	5,40 -0,47 -6,66	4,80 0,82 -8,16	3,80 1,05 -15,18

Tableau 5.6 : Temps de calcul, écarts des intensités et des temps moyens des TPSF calculées pour différents maillages et pas de temps.

Les résultats présentés dans le tableau 5.6 montrent qu'il n'existe pas une méthode optimale pour choisir le type de maillage ou le pas de temps de simulation. On peut cependant noter que les résultats qui s'écartent le plus des valeurs de référence sont obtenus avec un maillage fin et des pas de temps élevés. Un écart inférieur à 1 % en intensité et à 12 ps (soit 1% de la valeur de référence et un pas de temps expérimental) peut être obtenu en un temps de calcul de 4,8 s, avec le Maillage_3 et Δt = 30 ps, soit une réduction par 5,3 du temps de calcul.

Gao *et al* ont proposé une méthode de détermination du pas de temps optimal pour un maillage

donné [10]. Dans cette méthode, des TPSF sont calculées pour différent pas de temps, en commençant par un pas long. Le pas de temps défini comme optimal correspond à celui où la différence entre deux TPSF successives devient négligeable. L'inconvénient majeur de cette méthode est qu'elle est adaptée à un problème 2D, pour lequel le temps de calcul d'une TPSF est relativement court. De plus, cette méthode ne prend pas en compte le pas de temps critique, à partir duquel le pied de la TPSF présente des valeurs négatives, comme observé dans la figure 5.16 (b), mais aussi pour d'autres pas de temps inférieurs à 8,55 ps.

Selon le critère d'arrêt de la méthode de Gao *et al*, le pas de temps optimal pour la simulation de la $TPSF_{sim_ref}$ est de 15 ps car la différence entre $TPSF_{sim_15}$ et $TPSF_{sim_12,207}$ est négligeable et plus petite que celle entre $TPSF_{sim_12,207}$ et $TPSF_{sim_8,55}$. Cependant, la figure 5.16 (b) montre que le pas de temps optimal est de 10 ps. Les écarts en intensité totale ec_E présentées dans le tableau 5.6 augmentent avec le pas de temps, contrairement aux écarts en temps moyen ec_{TM} qui diminuent lorsque le pas de temps augmente. Ces écarts sont nuls pour les valeurs du pas de temps $t_{err_E=0}$ et $t_{err_TM=0}$ présentées dans le tableau 5.7.

	$t_{err_E=0}$ (ps)	$t_{err_TM=0}$ (ps)
Maillage_1	12,00	14,49
Maillage_2	17,85	13,71
Maillage_3	26,80	18,18

Tableau 5.7 : Pas de temps pour lesquels les écarts estimés sont nuls. Ecarts calculés entre les maillages évalués et le maillage de référence, avec un pas de temps de 10 ps.

Les résultats du tableau 5.7 montrent que plus le maillage est grossier plus l'écart entre les pas de temps « optimisés » pour les intensités et pour les temps moyens est grand. Ainsi, nous avons dû faire un compromis afin de choisir un pas de temps optimal en se basant sur ces écarts.

5.1.2.1 Pas de temps optimal

Nous proposons une méthode empirique de détermination du pas de temps optimal pour un maillage donné. Le pas de temps optimal est exprimé à partir des distances entre les nœuds connexes et la vitesse de la lumière dans le milieu. Pour un maillage i, le pas de temps optimal Δt_{opt_i} est calculé en fonction de la longueur des arêtes et de c, la vitesse de la lumière dans le milieu :

$$\Delta t_{opt_i} = moy\left(\left[min\left(DIST_i\right), median\left(DIST_i\right)\right]\right)\Big/c \qquad (5.3)$$

$DIST_i$ est le vecteur contenant les distances entre les nœuds connexes, c'est à dire les longueurs des arêtes. Les termes moy, min et median se rapportent aux valeurs moyenne, minimale et médiane de ce vecteur.

Le tableau 5.8 présente les erreurs en intensité et en temps moyen et les temps de calcul des simulations obtenues en utilisant les pas de temps Δt_{opt_i}.

	Δt_{opt_i} (ps)	ec_E (%)	ec_{TM} (ps)	TC (s)
Maillage_ref	10,00	0,00	0,00	25,57
Maillage_1	10,80	0,14	3,76	19,95
Maillage_2	11,99	-1,16	1,91	11,70
Maillage_3	12,58	-1,56	5,66	7,54

Tableau 5.8 : Pas de temps optimaux, écarts en intensité et en temps moyen et temps de calcul. Ecarts calculés par rapport au maillage de référence, avec un pas de temps de 10 ps.

Afin de valider la méthode proposée, les TPSF simulées avec les 3 maillages et les pas de temps optima ainsi déterminés sont comparées à la $TPSF_{ref}$. Les résultats sont présentés sur la figure 5.17.

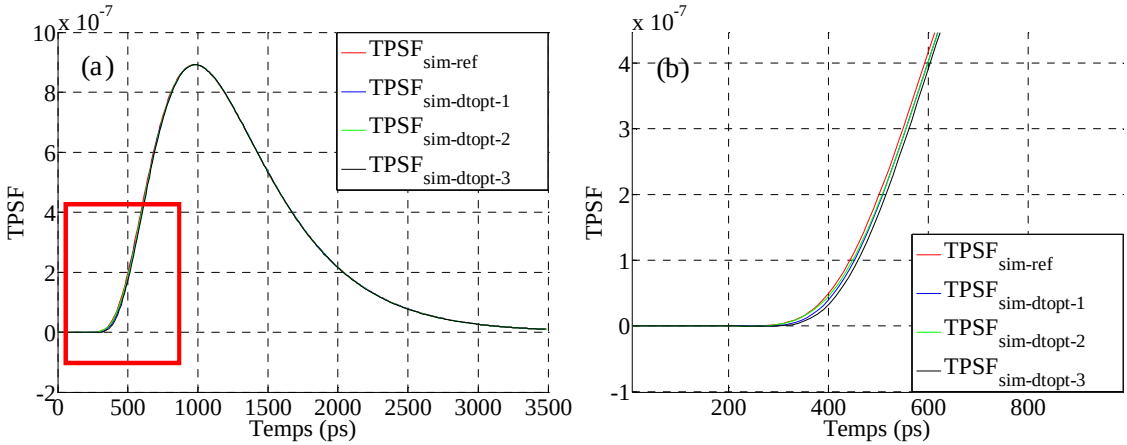


Figure 5.17 : Comparaison des $TPSF_{\Delta t\text{-}opt}$ avec la $TPSF_{ref}$ de référence (rouge). Profils normalisés (a), agrandissement de la zone rouge montrant les pieds des fronts montants des TPSF (b).

La figure 5.17 montre que les écarts entre les quatre TPSF sont très faibles, malgré les différences importantes entre les maillages utilisés pour leur génération. La méthode proposée a permis le calcul d'un pas de temps optimal pour un maillage donné. Les pas de temps ainsi obtenus permettent la génération de résultats de simulation très proches lors de l'utilisation de maillages différents.

5.1.2.2 *Maillage optimal*

Le choix du maillage dans la résolution du problème direct et inverse en TOD par des approches numériques nécessite un compromis entre le temps de calcul et la qualité des images reconstruites. Ce compromis est la conséquence directe de la discrétisation de ces deux problèmes et de la taille importante des matrices utilisées [11,12].

Le choix du type du maillage utilisé dépend de la complexité de la géométrie et de la distribution des propriétés optiques du milieu. En se basant sur les résultats présentés dans le tableau 5.6, nous remarquons qu'il est possible de faire un compromis entre les écarts de résultats et le temps de calcul pour choisir le maillage. Cependant, il est important de rappeler que ces résultats ont été obtenus sur des objets de propriétés optiques homogènes.

Le tableau 5.9 présente les écarts en intensité totale et temps moyen ainsi que le temps de calcul des simulations sur l'objet hétérogène décrit en section 1.1.1.2.1 utilisant les mêmes maillages et les pas de temps optimaux présentés dans le tableau 5.8.

	Δt_{opt_i} (ps)	ec_E (%)	ec_{TM} (ps)	TC (s)
Maillage_ref	10,00	0,00	0,00	52,53
Maillage_1	10,80	-1,4	-4,56	38,40
Maillage_2	11,98	-1,59	-5,81	28,57
Maillage_3	12,58	-2,03	-7,41	18,61

Tableau 5.9 : Pas de temps optimaux, écarts en intensité et en temps moyen et temps de calcul. Simulations d'un objet hétérogène.

Nous observons que la convergence des simulations est plus lente lors de l'utilisation d'objets hétérogènes. De plus, les erreurs obtenues sont plus élevées que celles obtenues sur les objets homogènes, et que la finesse du maillage est un critère essentiel pour la précision du calcul des TPSF

dans un objet hétérogène. Les résultats présentés dans le tableau 5.9 montrent que nous sommes dans l'obligation de faire un compromis entre le temps de calcul et la qualité de la simulation. Dans les études portant sur des objets cylindriques, nous utiliserons des maillages ayant un nombre de nœud compris entre celui de Maillage_1 et celui de Maillage_2.

5.1.3 Fantôme de souris

Pour tester nos méthodes de reconstruction d'images sur des données simulant un animal de laboratoire, nous avons réalisé un fantôme de souris. Pour rester aussi proche de la réalité que possible, nous avons construit cet objet simulé à partir de la géométrie de la surface d'une souris, enregistrée à l'aide du dispositif conoscopique décrit dans le chapitre 3.

5.1.3.1 Image de surface

Les miroirs permettant le balayage de la surface de l'animal par le dispositif de mesure de surface (Figure 3.1) sont fixés au-dessus de l'animal et permettent l'enregistrement de sa surface supérieure seulement. La figure 5.18 (a) montre l'image obtenue lors d'un enregistrement conoscopique avec une souris positionnée sur son support. Elle consiste en un rectangle de 40 x 30 mm acquis avec une résolution de 64 points dans les deux directions x et y. Cette image couvre la partie de l'animal comprise entre son museau et une coupe transversale à 35 mm de ce dernier, située au niveau abdominal.

La construction de la géométrie utilisée dans la résolution du problème direct nécessite une connaissance de la totalité du contour de la zone analysée. Pour fermer la surface de la géométrie étudiée, nous utilisons un deuxième enregistrement conoscopique : celui de la surface du lit du tomographe (Figure 5.18 (b)). Ce choix est justifié par le fait que le corps mou de l'animal s'étale sur le lit et prend approximativement sa forme.

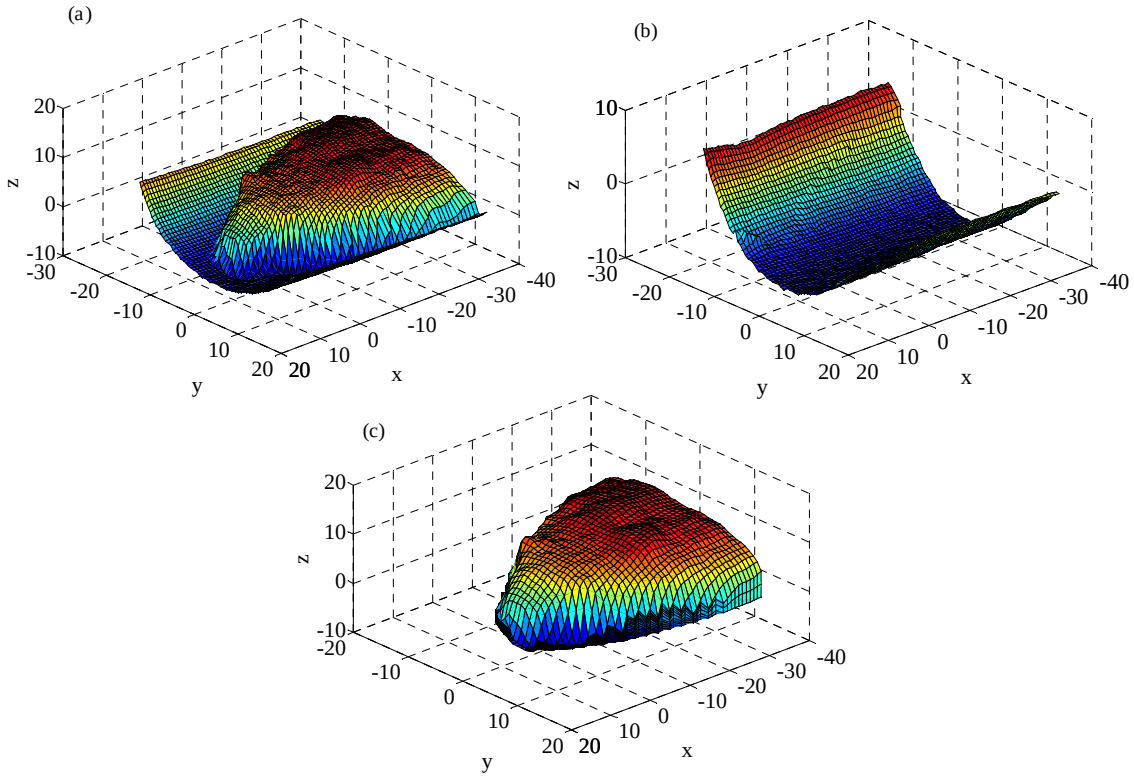


Figure 5.18 : Image conoscopique de la souris sur son support (a), image de la surface du lit (b) et contour fermé de l'animal (c).

La fusion des deux images de surface acquises est ensuite réalisée en deux étapes. La première consiste à éliminer la partie du lit qui dépasse de la projection de la souris. La seconde consiste à fermer la surface finale, en comblant l'écart entre les deux images. Cet écart est situé sur les bords de l'animal, non accessibles au conoscope, soit parce que la normale à la surface fait un angle supérieur à 85° avec le faisceau laser, soit parce que situés à l'ombre de parties supérieures de l'animal. Cet écart est comblé par une interpolation linéaire entre les points des bords de la surface de l'animal et leurs projections sur la surface du lit (Figure 5.18 (c)). La partie basse de l'animal est fermée par une surface plane à x = - 35 mm.

5.1.3.2 Construction du modèle

L'étape suivant l'obtention du contour fermé contenant la partie de l'animal étudiée, dans cet exemple la tête, consiste en la construction du modèle numérique solide correspondant. Ce modèle sera utilisé comme géométrie lors de la résolution du problème direct par MEF. La figure 5.19 (a) présente la géométrie construite à partir du contour présenté en figure 5.18 (c).

Pour la simulation d'hétérogénéités dans le milieu, deux cylindres C_1 et C_2 ont été ajoutés à la géométrie fermée de l'animal. Ces cylindres ont un diamètre de 5 mm et une hauteur de 10 mm. Les coordonnées du centre du cylindre C_1 sont [- 25, -8, 4] (mm). Celles du centre de C_2 sont [-25, 9,5, -1] (mm) (Figure 5.19 (b)). Les propriétés optiques de ces inclusions peuvent être modifiées afin de simuler une hétérogénéité en absorption, en diffusion, ou la présence d'un fluorophore.

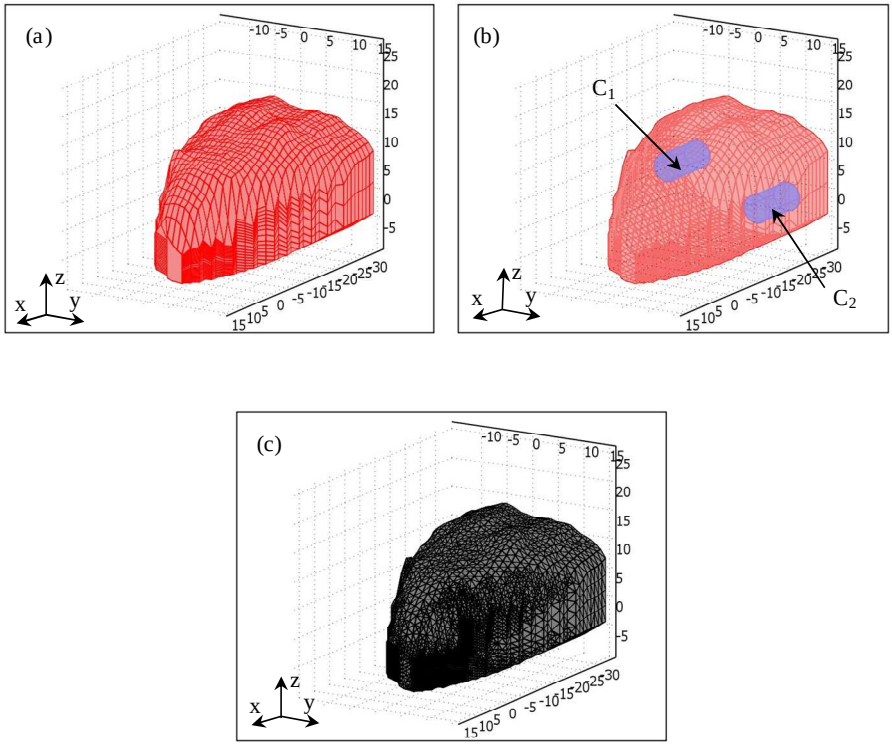


Figure 5.19 : Géométrie du fantôme souris homogène (a), géométrie du fantôme souris hétérogène (b), maillage 3D de la géométrie hétérogène (c).

Le maillage 3D de la géométrie présenté en figure 5.19 (c) contient 22154 nœuds et 121085 éléments tétraédriques. Ce grand nombre de nœuds est causé par les irrégularités de la surface de l'animal, en particulier vers son museau.

Le calcul des densités de photons et des TPSF est effectué en utilisant la méthode de détection sans contact présentée en section 2.2.2. Les extrémités des fibres optiques d'émission et de réception sont situées à 20 mm du centre de la géométrie (Figure 5.20).

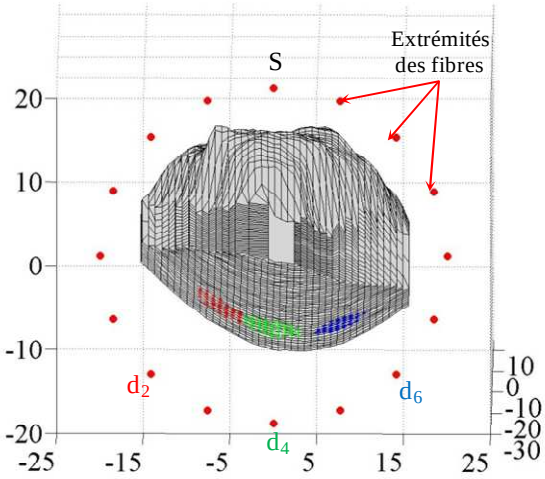


Figure 5.20 : Position des fibres optiques autour de l'animal. Fibre source S et fibres détectrices d_2, d_4 et d_6 placés respectivement à +135°, 180° et -135° de la fibre source.

Les positions des nœuds sources et détectés sont calculées selon la méthode décrite précédemment. Les TPSF dépendent de la géométrie des détecteurs, l'orientation de la surface du modèle numérique et la densité de photons calculée sur les nœuds appartenant aux cônes de détection des fibres. La figure 5.20 illustre la position de trois des sept fibres détectrices. Les détecteurs d_2, d_4 et d_6 sont respectivement placés à +135°, 180° et -135° de la fibre source S. Les résultats des TPSF simulées correspondant à ces trois fibres seront présentés dans la suite.

Lors de la simulation de la propagation des photons d'excitation, le détecteur d_2 est placé en face de l'inclusion plus diffusante C_1. Le détecteur d_6 est positionné en face de l'inclusion plus absorbante C_2. Enfin, le détecteur d_4 est positionné en face de la zone entre les deux inclusions. Pour la détection des photons de fluorescence, le détecteur d_6 est le proche de l'inclusion fluorescente C_2. Théoriquement, cette position lui permet de détecter une quantité de photons de fluorescence plus grande que celles détectées par les autres détecteurs.

5.1.3.3 ***Propagation des photons***

La propagation des photons d'excitation et de fluorescence a été calculée entre 0 et 2500 ps avec un pas de temps de 10 ps. Les conditions aux limites ont été appliquées à toute l'enveloppe extérieure de la géométrie sauf le bord correspondant à la coupe transversale de l'animal à x = - 35 mm, surface sur laquelle le coefficient de réflexion est considéré nul.

5.1.3.3.1 Photons d'excitation

La simulation de la propagation des photons d'excitation est obtenue par résolution de l'équation de diffusion. La géométrie compte trois milieux : l'inclusion C_1, l'inclusion C_2 et le reste de la géométrie qu'on appellera le fond. Différentes propriétés optiques été attribuées à ces trois milieux. Les coefficients d'absorption μ_a et de diffusion réduit μ_s' attribués au fond sont respectivement égaux à 0,005 mm^{-1} et 0,6 mm^{-1}. L'inclusion C_1 a le même coefficient d'absorption que celui du fond et un coefficient de diffusion réduit supérieur, $\mu_s'_{C1} = 1{,}25.\mu_s'$. L'inclusion C_2 simule une hétérogénéité en absorption. Son coefficient de diffusion réduit est égal à celui du fond et son coefficient d'absorption est égal au double de celui du fond : $\mu_{aC2} = 2.\mu_a$.

La figure 5.21 (gauche) présente la densité de photons d'excitation à 100 ps, 420 ps et 850 ps après l'illumination du modèle depuis une fibre optique positionnée à x = y = 0 mm et z = 20 mm, (Figure 5.20). Le point de vue est fixé en face du museau de l'animal. Il est situé au-dessus de la

surface supérieure de l'animal pour la figure au temps t = 100 ps afin de montrer le point d'entrée de la lumière. Pour les figures aux temps t = 420 ps et 850 ps, ce point est placé au dessous de la surface du lit afin de mettre en évidence les points de sortie de la lumière du coté opposé au point d'entrée.

La figure 5.21 (droite) présente les vues en coupe des densités de photons, dans le plan x = - 25 mm. L'emplacement des inclusions C_1 et C_2 est délimité par des cercles en trait discontinu. Les densités de photons sur la surface à t = 420 ps et 850 ps sont représentées avec la même échelle de couleur, sur les images de surface et en coupe.

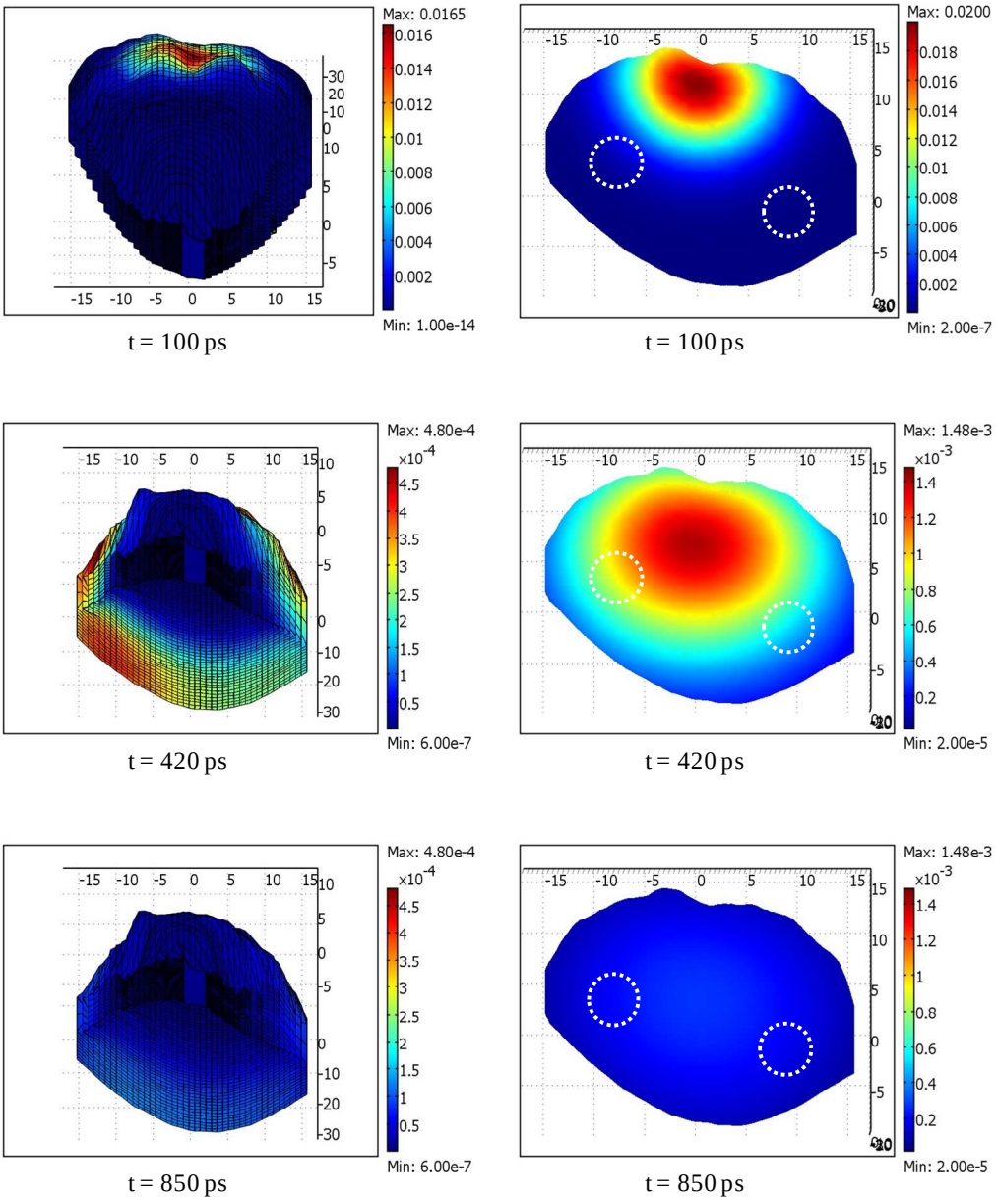


Figure 5.21 : Densité de photons d'excitation sur la surface du fantôme de souris (gauche), et sur des coupes transversales (x = -25 mm) (droite). Temps de vol = 100 ps, 420 ps et 850 ps.

Le temps de vol de 420 ps correspond au maximum du flux de photons d'excitation sur le détecteur d_4 positionné à 180° de la source (Figure 5.20). Le temps t = 850 ps correspond approximativement à une réduction de 50% du flux de photons sur ce détecteur. La densité de photons

atteignant la surface du modèle en regard de l'inclusion C_2 est inférieure à celle en face de l'inclusion C_1. Ce fait est dû à la différence des propriétés optiques des deux inclusions. Il est mieux perçu sur la figure 5.20 à t = 420 ps.

5.1.3.3.2 Photons de fluorescence

La simulation de la propagation des photons de fluorescence est obtenue par résolution des ED couplées. Le fond, l'inclusion C_1 et l'inclusion C_2 ont les mêmes coefficients d'absorption et de diffusion réduit aux deux longueurs d'onde d'excitation et d'émission. Les valeurs choisies sont celles utilisées dans le cas des photons d'excitation. Ce choix a été fait pour s'approcher des méthodes de reconstruction d'images de fluorescence les plus utilisées, notamment la méthode de la lumière totale, et pour mettre en évidence l'émission des photons de fluorescence. En particulier, la fixation de la sonde fluorescente n'induit aucune augmentation de l'absorption optique.

Seule l'inclusion C_2 est utilisée pour simuler la fixation d'un fluorophore. La figure 5.22 présente les résultats de simulation, avec une inclusion C_2 contenant de l'ICG avec une concentration de 5 µM. Les valeurs η = 0,016, ε_{778} = 13000 $mm^{-1}.mol^{-1}.L$ et τ = 560 ps ont été employées.

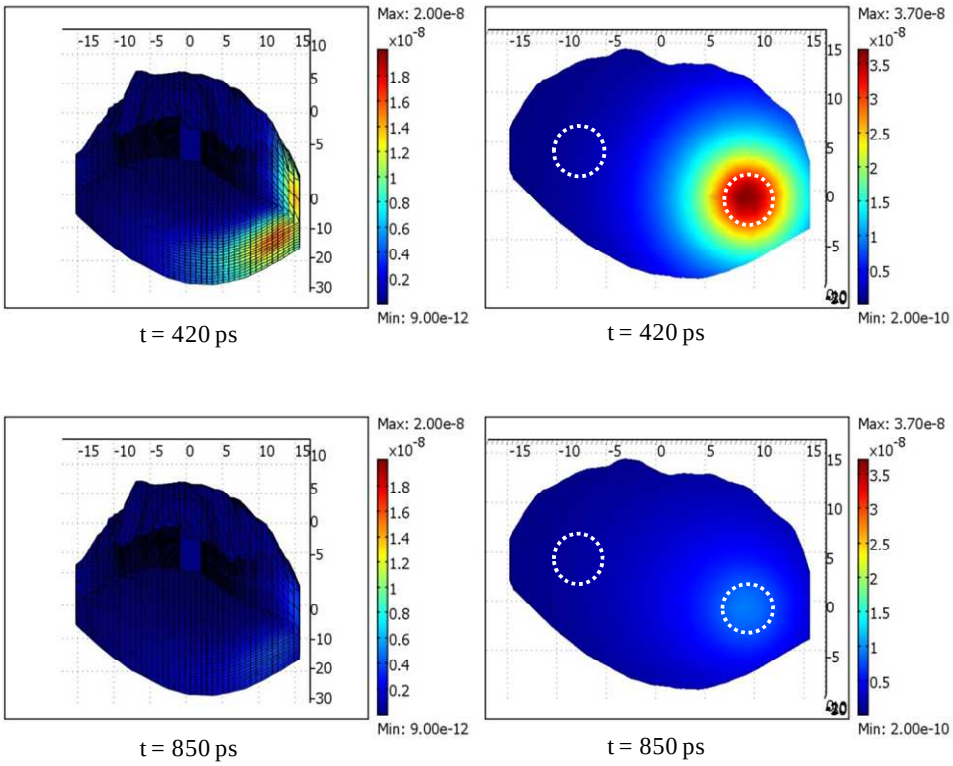


Figure 5.22 : Densité de photons de fluorescence sur la surface du modèle (gauche), et vue en coupe transversale à x = -25 mm (droite). Temps de vol 720 ps et 1250 ps.

Les densités de photons à t = 720 ps et à t = 1250 ps sont représentées avec la même échelle de couleur. Le temps t = 720 ps correspond au maximum du flux de photons de fluorescence sur le détecteur d_4 à 180° de la source (Figure 5.22). Le temps t = 1250 ps correspond approximativement à une réduction de 50% du flux sur le même détecteur. Le temps correspond au flux de photons de fluorescence maximum est plus long que celui observé avec les photons d'excitation, à cause du temps du temps de vie de fluorescence, mais aussi par la trajectoire moyenne des photons qui ont du transiter de la source au détecteur en passant par l'inclusion C_2. Bien entendu, la densité de photons de fluorescence atteignant la surface du modèle est maximale en face de l'inclusion C_2.

*5.1.3.4 **Profils temporels***

La figure 5.23 présente les profils temporels des photons d'excitation $TPSF_x$ (gauche) et de fluorescence $TPSF_m$ (droite), détectées par les fibres d_2, d_4 et d_6. Rappelons que le détecteur d_6 est placé de manière à être le détecteur le proche de l'inclusion fluorescente C_2.

La figure 5.23 (a) montre que le profil mesuré par le détecteur d_2 à la longueur d'onde d'excitation, $TPSF_x(S,d_2)$, a la plus grande amplitude. Deux raisons expliquent ce résultat. La première est que le détecteur d_2 est placé en face de l'inclusion plus diffusante C_1, à l'opposé de l'inclusion absorbante C_2. La seconde vient du fait que les photons parcourent moins de distance de la source S au détecteur d_2 qu'aux détecteurs d_4 et d_6, à cause d'une dissymétrie du positionnement de l'animal sur le lit. L'amplitude de $TPSF_x(S,d_6)$ est inférieure à l'amplitude de $TPSF_x(S,d_4)$. Ceci est dû au fait que d_6 est positionné en face de l'inclusion plus absorbante C_2, et ce bien que la distance parcourue par les photons entre S et d_2 soit plus petite que celle entre S et d_4.

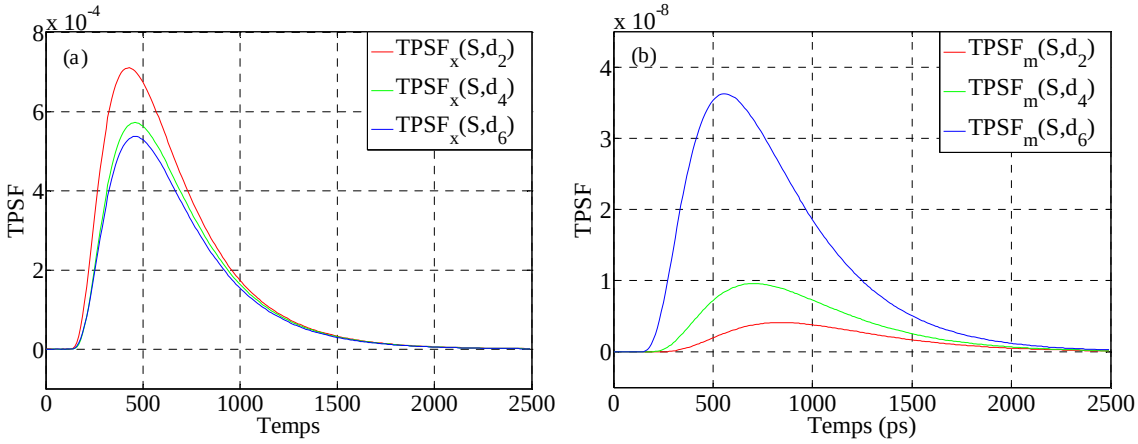


Figure 5.23 : Profils temporels d'excitation $TPSF_x$ (a) et de fluorescence $TPSF_m$ (b), détectés par les fibres d_2, d_4 et d_6 placées au voisinage du fantôme souris.

Concernant les profils temporels des photons de fluorescence, la figure 5.23 (b) montre que l'amplitude de $TPSF_m(S,d_6)$ est nettement plus importante que celles de $TPSF_m(S,d_4)$ et $TPSF_m(S,d_2)$. Cela est dû à la faible distance séparant le détecteur d_6 de l'inclusion fluorescente C_2. Nous observons que la $TPSF_m$ du détecteur d_2, le plus éloigné de C_2 à l'amplitude la plus faible.

Ces résultats montrent que les mesures des flux de photons de fluorescence sur la surface d'un modèle dépendent fortement des positions des points d'illumination et de détection. Ces variations des données recueillies par fluorescence sont supérieures aux variations des données acquises sur les photons diffusés. Ajouté à l'intérêt des techniques de marquage par des sondes fluorescentes, cette caractéristique explique le transfert progressif des efforts de recherche de la TOD vers la TODF.

5.2 Reconstruction d'images

Dans cette section, nous présentons les résultats de reconstruction d'images, obtenues en utilisant les données calculées selon les méthodes et les objets simulés décrits dans le paragraphe précédent.

Les conclusions tirées de ces travaux, menés avec les configurations avec et sans contact, sont similaires. C'est pour cette raison que nous avons choisi de ne présenter que les résultats obtenus sans contact. Ces derniers simulent le plus fidèlement les situations expérimentales en tomographie optique préclinique qui seront rencontrées sur le tomographe du laboratoire.

5.2.1 Fantômes cylindriques

5.2.1.1 Profils temporels simulés

Les données simulées ont été générées en résolvant l'ED par MEF en utilisant le simulateur Comsol®, selon les procédures décrites ci dessus. Les profils temporels sont simulés de 0 à 3000 ps, avec un pas de temps de 10 ps et le maillage de référence.

Les objets utilisés pour la génération des données simulées ont la même géométrie que les objets hétérogènes décrits dans la section 5.1.1.1, pour la configuration de mesure sans contact. Ce sont des cylindres de diamètre 28 mm et de longueur 60 mm. Leur cylindre C représentant le fond des objets possède les propriétés optiques suivantes : μ_a = 0,005 mm^{-1}, μ_s' = 0,6 mm^{-1} et n =1,54.

Un premier objet, objet_1, présente une hétérogénéité en absorption uniquement. Les inclusions C_1 et C_2 ont le même μ_s' que celui du fond et un μ_a respectivement égal à 1,5 fois et 2 fois celui du fond.

Le deuxième objet, objet_2, contient une hétérogénéité en absorption et une autre en diffusion. Son inclusion C_1 a le même μ_a que le fond et un μ_s' égal à 1,25 fois celui du fond. Son inclusion C_2 a le même μ_s' que celui du fond et un μ_a égal au double de celui du fond.

Les TPSF simulées sont ensuite normalisées sur les TPSF expérimentales acquises avec notre système dans des conditions usuelles. Le taux de comptage maximum utilisé est de l'ordre de 10^5 photons par seconde, sur l'ensemble des pas de temps. Un bruit de Poisson est ajouté aux TPSF simulées. Pour chaque pas de temps, il est égal à la racine carrée du nombre de photons détectés. Ce bruit permet de simuler le bruit de comptage présent dans les TPSF expérimentales et de tester la robustesse des algorithmes sur des données bruitées.

5.2.1.2 Types de données utilisées

Nous présentons dans cette partie une comparaison entre les résultats de reconstruction obtenus en utilisant les trois types de données présentées en section 3.3.2. Nous appellerons méthode_1 la méthode qui utilise les moments des TPSF, méthode_2 la méthode qui utilise la totalité des points des TPSF (FT) et finalement méthode_3 la méthode qui utilise une sélection de points des TPSF (PS).

Afin de réduire le temps de la reconstruction, la résolution du problème direct durant le processus itératif d'inversion est effectuée avec un pas de temps de 15 ps et un maillage dont le nombre de nœuds est compris entre ceux de Maillage_1 et de Maillage_2 (selon la section 5.1.2). Le nombre de nœuds final est déterminé par l'étape d'affinement autour des points sources.

Le critère d'arrêt du processus d'inversion est défini comme suit. L'algorithme est arrêté si l'erreur globale de reconstruction calculée à trois itérations successives (i+1, i+2, i+3) après l'itération (i) est plus grande que celle calculée à l'itération (i). Si cette condition est satisfaite, le processus est arrêté et la meilleure reconstruction est attribuée à l'itération (i). Sinon le processus est stoppé après un nombre maximum d'itérations fixé arbitrairement à 25.

5.2.1.2.1 Reconstructions de l'objet_1

La méthode_2, totalité des points des TPSF, utilise la plus grande quantité d'information. Elle est donc supposée fournir les images de meilleure précision, en comparaison avec la méthode_1 ou la méthode_3 [13,14]. En réalité, cette hypothèse est satisfaite uniquement si le milieu a un coefficient de diffusion uniforme et si le vecteur de mise à jour $\Delta\mu_s$' est maintenu nul à toutes les itérations i (μ_s'(i+1)= μ_s'(i)). Cette hypothèse n'est pas satisfaite dans le cas des tissus biologiques qui présentent des hétérogénéités de diffusion. Par conséquent le vecteur de mise à jour du coefficient de diffusion réduit doit être estimé à toutes les itérations i : (μ_s'(i+1)= μ_s'(i)+$\Delta\mu_s$').

La figure 5.24 montre le résultat de reconstruction du modèle numérique objet_1 contenant uniquement une hétérogénéité en absorption en utilisant la méthode_2 avec $\Delta\mu_s' \neq 0$. Les objets étant de symétrie cylindrique, seules les coupes transverses dans le plan des fibres sont présentées.

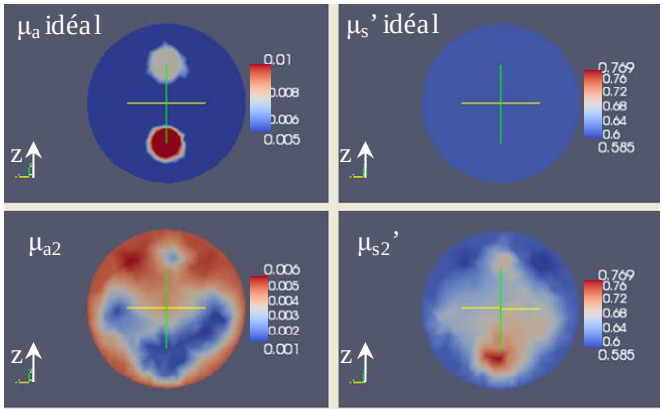


Figure 5.24 : Images d'absorption (gauche) et de diffusion (droite) de l'objet_1. Objet simulé (haut) et objet reconstruit (bas). Reconstruction selon la méthode_2 et $\Delta\mu_s' \neq 0$.

L'algorithme de reconstruction ne converge pas vers la solution recherchée. Le fait de tenter d'estimer le vecteur $\Delta\mu_s'$, qui est en réalité nul, fausse totalement le calcul de l'image μ_s' impliquant une reconstruction erronée de l'image d'absorption. L'image μ_s' reconstruite montre que l'algorithme est capable de localiser les deux inclusions mais qu'il n'est pas en mesure d'estimer les valeurs correctes du coefficient de diffusion. L'atténuation de la lumière n'est pas seulement interprétée comme due à une augmentation d'absorption mais aussi comme provenant d'une augmentation de diffusion réduite. Les valeurs de μ_s' reconstruites sont comprises entre 0,58 mm^{-1} et 0,76 mm^{-1}. Ce phénomène est connu sous le nom de diaphonie (crosstalk). Il fausse la reconstruction des images μ_a. Afin de supprimer cette diaphonie, le vecteur de mise à jour $\Delta\mu_s'$ peut être fixé à zéro lors de la reconstruction d'objets supposés ne contenir que des hétérogénéités en absorption.

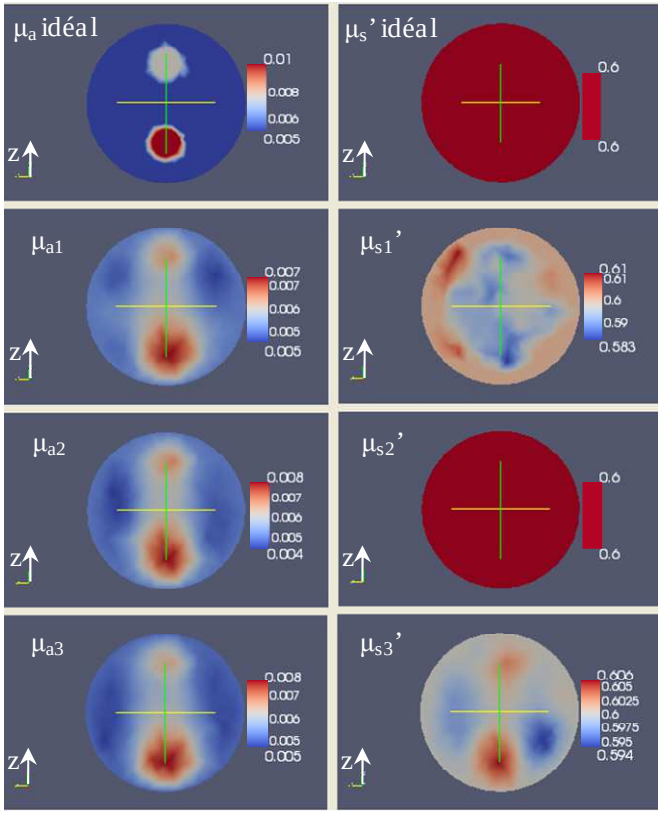


Figure 5.25 : Images d'absorption (gauche) et de diffusion (droite) de l'objet_1. Objet simulé et objet reconstruit selon méthode_1, méthode 2 avec $\Delta\mu_s' = 0$ et méthode 3 (de haut en bas).

La figure 5.25 présente les résultats de reconstruction des images μ_a et μ_s' en utilisant les trois méthodes présentées précédemment. Le vecteur de mise à jour $\Delta\mu_s$' a été fixé à zéro, afin d'obtenir des résultats admissibles, lors de l'utilisation de méthode_2.

Selon les images de diffusion réduite (Figure 5.25, droite), la méthode_1 ($0,58 < \mu_{s1}' < 0,61$) et la méthode_3 ($0,59 < \mu_{s3}' < 0,6$) sont stables en μ_s'. Les images d'absorption (Figure 5.25, gauche) montrent que les trois méthodes fournissent approximativement les mêmes images de μ_a. Nous rappelons que la méthode_3 permet d'obtenir ces résultats en n'utilisant que 7 points de la TPSF. Cette approche permet de réduire le temps de reconstruction d'approximativement 67 % par rapport à la méthode_2 qui utilise 38 points de la TPSF.

Nous introduisons le paramètre err dans le but de quantifier et comparer les trois méthodes. Ce paramètre est exprimé sous forme d'erreur entre les valeurs idéales et celles reconstruites. Pour le coefficient d (d = μ_a, μ_s'), le paramètre err_d s'écrit :

$$err_d\left(ZI\right) = \frac{100}{P}\sum_{ZI}\frac{d_{idéale}(i) - d_{reco}(i)}{d_{idéale}(i)} \tag{5.4}$$

P est le nombre de pixels dans la région d'intérêt (ZI). $d_{idéale}$ est la valeur « idéale » du coefficient d, à savoir celle utilisée pour générer les TPSF. d_{reco} est la valeur du coefficient dans l'image reconstruite. La ZI peut être le fond, une zone cible ou une zone de diaphonie. Pour l'image d'un coefficient donné, la cible est définie comme étant l'ensemble des inclusions ayant ce coefficient différent de celui du fond. La figure 5.24 (μ_a idéal) présente un exemple où les inclusions correspondent aux cibles dans l'image μ_a. La figure 5.24 (μ_{s2}') est un bon exemple de diaphonie, puisque l'algorithme a reconstruit deux inclusions inexistantes en μ_s' sur des localisations proches des hétérogénéités d'absorption.

Nous appelons le paramètre err_d l'erreur de reconstruction du coefficient d quand il est calculé sur le fond ou les cibles et diaphonie quand il est calculé sur une zone de diaphonie.

Concernant l'objet_1, les deux inclusions C_1 et C_2 sont considérées comme étant les cibles dans les images μ_a. Le fond de l'objet_1 est défini comme étant le reste du cylindre $C-(C_1+C_2)$. Le tableau 5.10 présente les erreurs de reconstruction et la diaphonie utilisées pour la comparaison des performances des trois méthodes de reconstruction utilisées dans cette étude.

	μ_a			μ_s'
Méthode	Erreur sur la cible (%)	Erreur sur le fond (%)	Diaphonie (%)	Erreur sur le fond (%)
Méthode_1	17,44	7,33	1,41	0,52
Méthode_2 ($\Delta\mu_s' = 0$)	15,57	7,80	0	0
Méthode_2 ($\Delta\mu_s' \neq 0$)	58,02	25,39	14,22	5,51
Méthode_3	16,76	7,86	0,35	0,18

Tableau 5.10 : Erreurs et diaphonie de reconstruction sur les images d'absorption μ_a et de diffusion réduite μ_s' reconstruites. Coupe x = 0 mm, objet_1.

Les performances des trois méthodes sont relativement équivalentes lors de la reconstruction de l'image d'absorption μ_a. Cependant, les trois méthodes présentent des résultats différents lors de la reconstruction de l'image de diffusion μ_s'. En effet, méthode_2 n'est pas en mesure de reconstruire les images de μ_s'. De plus, les erreurs calculées sur les images obtenues par méthode_3 sont inférieures à celles obtenues avec méthode_1.

La figure 5.26 présente les profils le long de l'axe z des images d'absorption μ_a et de diffusion réduite μ_s' reconstruites en utilisant les trois méthodes et présentées sur les coupes de la figure 5.25.

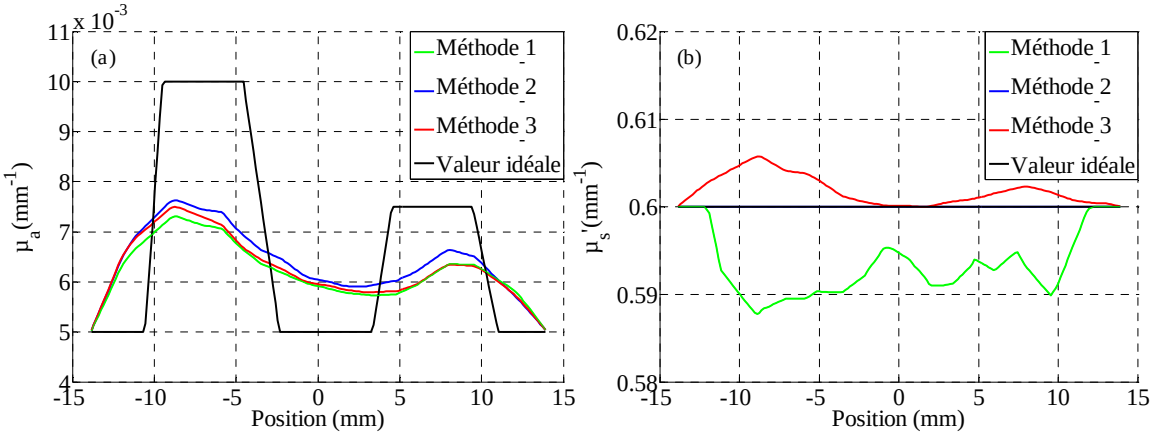


Figure 5.26 : Profils des valeurs reconstruites des coefficients μ_a (a) et μ_s' (b) le long de l'axe z de l'objet_1, selon les trois méthodes de reconstruction.

La figure 5.26 (a) montre que, lors de la reconstruction d'objet homogène en diffusion, les trois méthodes sont à peu près équivalentes pour l'image de μ_a. Elles différent nettement pour la reconstruction de l'image μ_s'. La méthode_3 présente une meilleure stabilité que la méthode_1. La méthode_2 n'est pas applicable sans imposer le coefficient de diffusion. Les profils des μ_s' obtenus par la méthode_3 ne s'écartent de la valeur exacte que sur les zones plus absorbantes (diaphonie) et s'en écartent faiblement. Les μ_s' calculés par la méthode_1 sont faux sur tous les points du profil, avec une erreur plus importante.

Sur l'objet_1, qui ne présente que des inclusions absorbantes, la méthode_3, exploitant des points sélectionnés sur les TPSF, est la plus performante des méthodes testées.

5.2.1.2.2 Reconstructions de l'objet_2

L'objet_2 contient une inclusion plus absorbante et une plus diffusante. Il permet de simuler l'hétérogénéité des deux coefficients, comme rencontré dans les tissus vivants. Bien entendu, le vecteur $\Delta\mu_s$' est estimé à chaque itération lors de la reconstruction des images μ_s' de cet objet, en utilisant la méthode_2. La figure 5.27 présente les images reconstruites de μ_a et μ_s' en utilisant les trois méthodes.

Concernant l'objet_2, l'inclusion diffusante C_1 est considérée comme la cible dans l'image μ_s' et comme zone de diaphonie dans l'image μ_a. Inversement, l'inclusion absorbante C_2 est considérée comme la cible dans l'image μ_a et comme zone de diaphonie dans l'image μ_s'. Le fond de l'objet_2 est défini comme le reste du cylindre C-(C_1+C_2).

Les images d'absorption μ_a et de diffusion μ_s' présentées en figure 5.27 montrent clairement que la méthode_1 et la méthode_2 ne sont pas en mesure de séparer les deux inclusions présentant deux hétérogénéités de natures différentes.

Au contraire, la méthode_3 a permis une distinction claire entre inclusions absorbantes diffusantes. Les deux inclusions sont bien retrouvées sur les images associées, elles sont absentes des images de l'autre paramètre. De plus, cette méthode_3 montre une grande stabilité des images du fond du fantôme, sur les images μ_a et sur les images μ_s'.

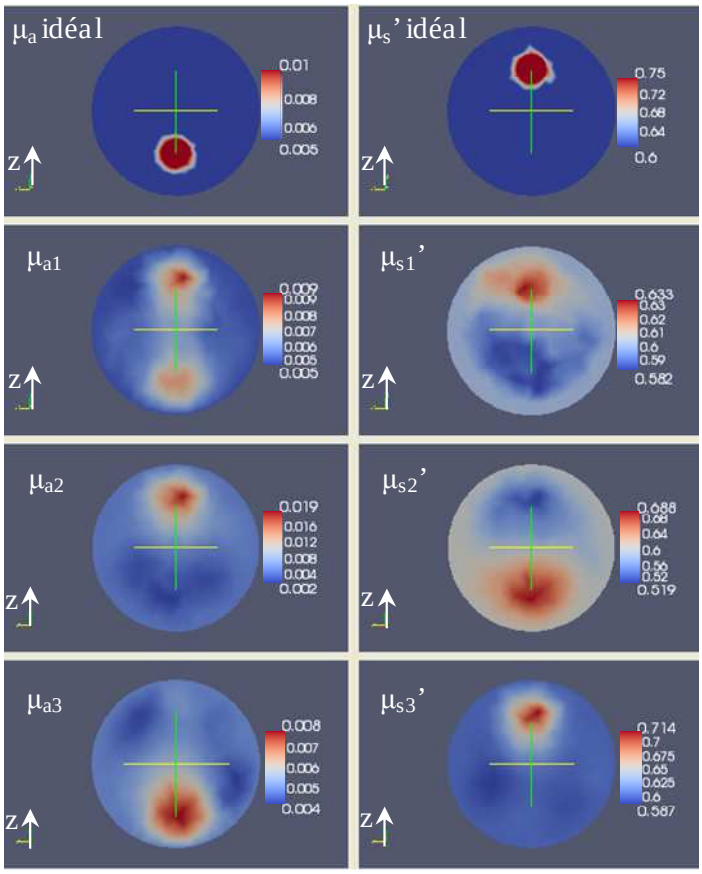


Figure 5.27 : Images d'absorption (gauche) et de diffusion réduite (droite) de l'objet_2. Objet simulé (haut) et objet reconstruit selon méthode_1, méthode 2 et méthode 3 (de haut en bas).

Les erreurs et la diaphonie utilisées pour la comparaison des trois méthodes sont listées dans le tableau 5.11.

	μ_a			μ_s'		
Méthodes	Erreur sur la cible (%)	Diaphonie (%)	Erreur sur le fond (%)	Erreur sur la cible (%)	Diaphonie (%)	Erreur sur le fond (%)
Méthode_1	19,13	47,39	11,51	11,62	2,51	0,82
Méthode_2 ($\Delta\mu_s'\neq0$)	60,46	158,97	23,12	22,55	11,00	2,94
Méthode_3	19,33	2,29	6,91	6,60	0,16	1,07

Tableau 5.11 : Erreurs et diaphonie de reconstruction sur les images d'absorption μ_a et de diffusion réduite μ_s' reconstruites. Coupe x = 0 mm, objet_2.

La figure 5.28 montre les profils le long de l'axe z des images μ_a et μ_s' reconstruites selon les 3 méthodes et présentées sur la figure 5.27. Ces profils montrent la supériorité de la qualité des images reconstruites en utilisant la méthode_3.

Dès la première itération, la méthode_2 a attribué l'atténuation de la lumière à une augmentation de l'absorption dans les deux inclusions C_1 et C_2. Aux itérations suivantes, l'algorithme utilisant la méthode_2 a tenté en vain de rattraper cette erreur d'estimation des deux paramètres, induisant une grande diaphonie entre eux.

Les profils des valeurs reconstruites de μ_a et μ_s' présentés en figure 5.28 montrent que la méthode_3 permet d'effectuer une distinction claire entre les deux inclusions C_1 et C_2. De plus les valeurs reconstruites des coefficients du fond sont stables, dans les deux images de μ_a et μ_s'.

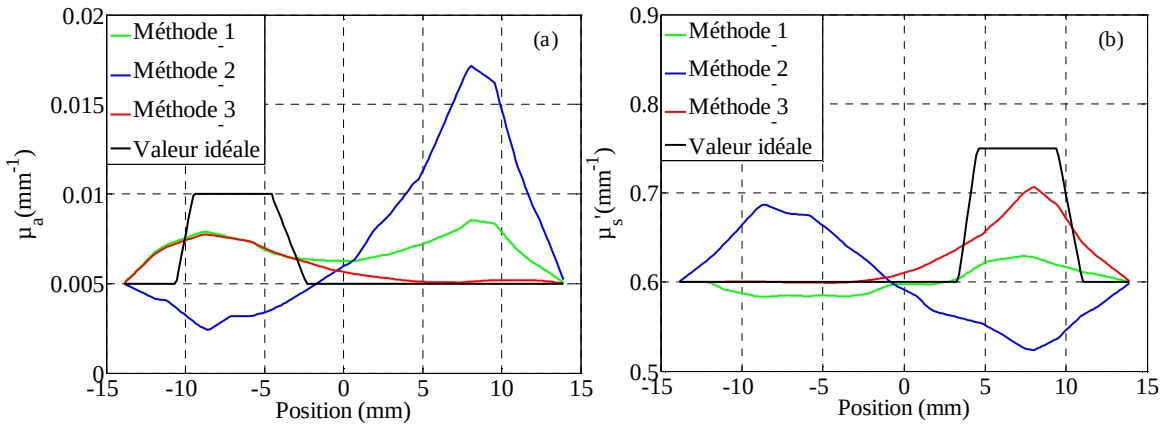


Figure 5.28 : Profils des valeurs reconstruites des coefficients μ_a (a) et μ_s' (b) le long de l'axe z de l'objet_2, selon les trois méthodes de reconstruction.

5.2.1.3 Sensibilité selon l'axe du tomographe

Les résultats de reconstruction exposés ci-dessus sont présentés sous forme de coupe transversale en x = 0 mm. Par la suite, nous discuterons la qualité des images reconstruites selon l'axe du tomographe. Cette discussion est une première approche car les objets simulés ont une symétrie cylindrique. De plus, nous n'avons simulé que des TPSF acquises avec des fibres source et détecteur situées dans un seul plan de coupe. Mais cette approche fournira des informations sur les pas de déplacement longitudinal des animaux étudiés selon plusieurs plans de coupe.

Les méthodes de reconstructions en TOD ont une sensibilité limitée le long de l'axe longitudinal (x) du tomographe, perpendiculaire au plan des fibres optiques. La probabilité que les photons, émis par une source et collectés par un détecteur placés dans le même plan d'analyse, ont d'explorer des tissus hors du plan diminue en effet avec la distance à ce dernier. Cette évolution peut être visualisée sur les cartes de sensibilité, définie au paragraphe 4.3.1.1, calculées sur un objet homogène et présentées sur la figure 5.29.

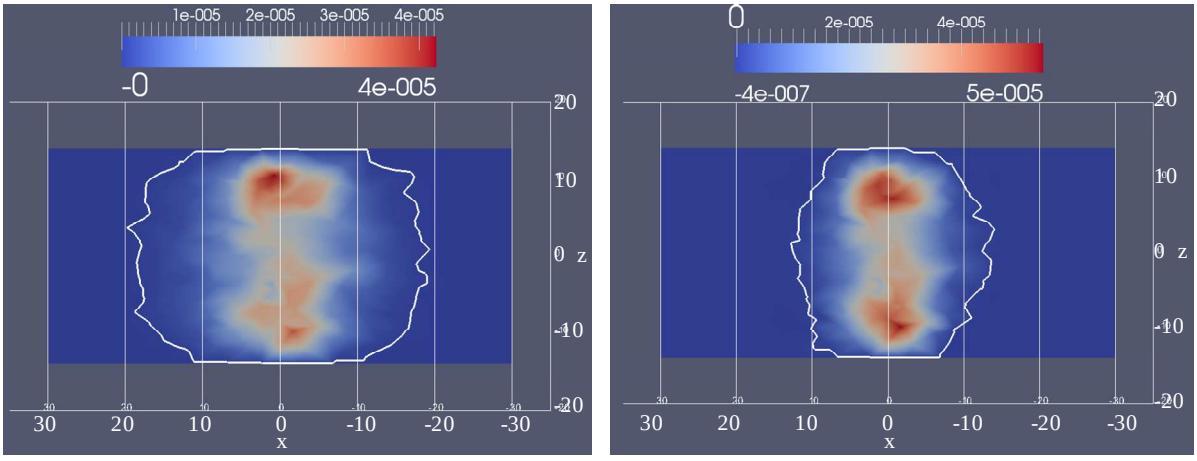


Figure 5.29 : Cartes de sensibilité (y = 0 mm) dans le cylindre homogène, en μ_a (gauche) et κ (droite). Coordonnées fibre source [0, 0, -20] mm, coordonnées fibre détecteur [0, 0, 20] mm.

Les lignes blanches sur la figure 5.29 correspondent au seuil de segmentation égal à 1% de la valeur maximale du coefficient reconstruit.

Concernant la carte de sensibilité en μ_a, nous observons que la sensibilité est égale à 1% de sa valeur maximale à environ 20 mm du plan de détection. Cette limite de 20 mm, de part et d'autre du plan de détection, a été utilisée pour délimiter la zone sensible dans laquelle le maillage a été raffiné, comme décrit en section 5.1.1.1. Pour la carte de sensibilité en κ, cette limite à 1 % est à environ 12 mm du plan de détection.

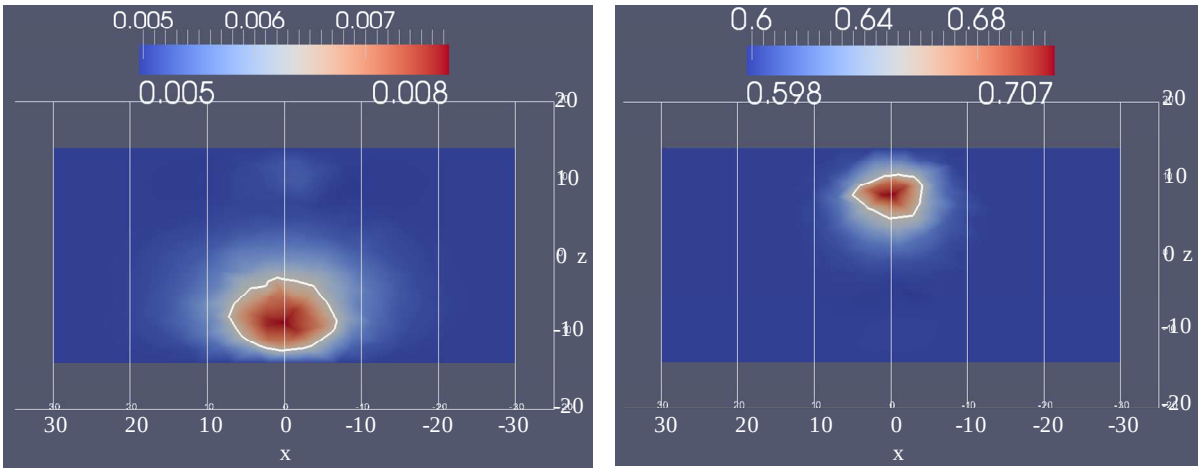


Figure 5.30 : Cartes d'absorption (gauche) et de diffusion réduite (droite) de l'objet_2. Plan de coupe y = 0.

La figure 5.30 présente une coupe de l'objet_2 dans le plan y = 0 mm, des images d'absorption μ_a et de diffusion réduite μ_s'. Elles permettent de visualiser l'extension des images des inclusions selon l'axe du tomographe. La ligne blanche correspond au seuil de segmentation égal à la moitié de la valeur maximale du coefficient reconstruit. Ce seuil est égal à $6{,}375.10^{-3}$ mm^{-1} pour l'image μ_a. Il est égal à $6{,}537.10^{-1}$ mm^{-1} pour l'image μ_s'.

Une segmentation à mi-hauteur des maxima des coefficients μ_a et μ_s' correspond à une limitation des images des inclusions diffusantes C_1 et absorbantes C_2 respectivement égales à 5 mm et à 8 mm, de part et d'autre du plan de détection.

Deux solutions permettent de reconstruire des images 3D sur des épaisseurs supérieures, et de lever cette limitation. La première consiste à placer des fibres optiques sur plusieurs plans d'analyse perpendiculaire à l'axe du tomographe [15]. Cette solution induit une évolution lourde et couteuse du tomographe. La seconde solution consiste à déplacer l'objet ou l'animal imagé selon l'axe du tomographe et d'effectuer plusieurs acquisitions successives. Cette solution est beaucoup plus simple à mettre en œuvre. Le tomographe actuel permet cette évolution. Quelle que soit la solution retenue, il est nécessaire d'acquérir une plus grande quantité d'information. Cela implique un temps d'acquisition et de reconstruction plus long. Cependant, une telle méthode de reconstruction 3D restera plus précise qu'une reconstruction multi-coupes 2D [16].

5.2.1.4 Reconstruction avec information a priori

Nous présentons ici les résultats de reconstruction de l'objet_2, ayant utilisé une information à priori sur sa structure. Cette information structurelle à priori est utilisée dans deux étapes du processus de reconstruction. La première consiste en son utilisation pour la génération du maillage utilisé dans le processus d'inversion du problème comme décrit en section 5.1.1.1**.** La seconde consiste en l'utilisation de cette information à priori dans la régularisation de l'équation (4.42) permettant de calculer le vecteur de mise à jour des coefficients μ_a et μ_s'.

Les images d'absorption et de diffusion reconstruites avec cette approche en utilisant la méthode_1 (moments des TPSF) et la méthode_3 (sélection de points sur la TPSF) sont présentées figure 5.31 et comparées ci dessous.

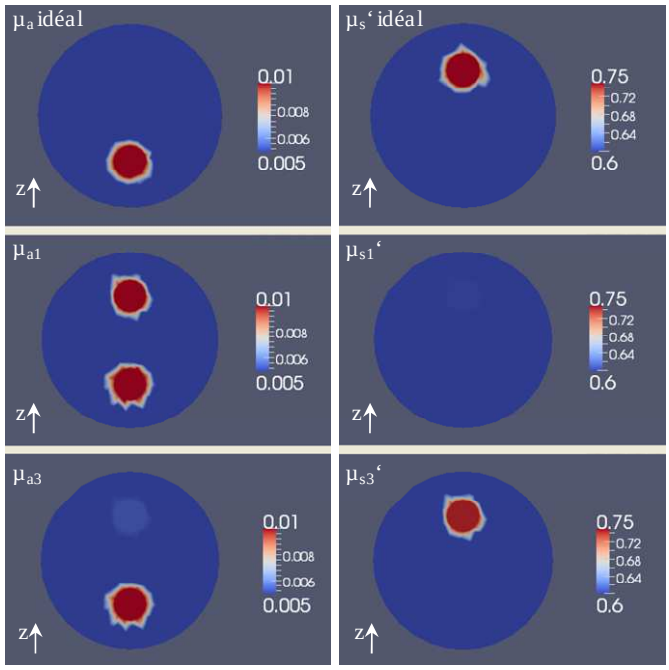


Figure 5.31 : Images d'absorption (gauche) et de diffusion réduite (droite) de l'objet_2. Objet simulé (haut) et objet reconstruit selon méthode_1, et méthode 3 (de haut en bas) en utilisant les positions des inclusions en information à priori.

L'information structurelle à priori annule toute erreur de localisation des régions. La méthode_1 n'est pas en mesure de séparer les inclusions diffusantes et absorbantes et fournit une mauvaise estimation des coefficients μ_a et μ_s'. Nous observons en fait une image avec deux inclusions absorbantes. Au contraire, la méthode_3 a permis de reconstruire des d'absorption et de diffusion de bonne qualité, avec une erreur de diaphonie visible sur l'image d'absorption.

La figure 5.32 montre les profils, le long de l'axe z, des images d'absorption et de diffusion présentées en figure 5.31.

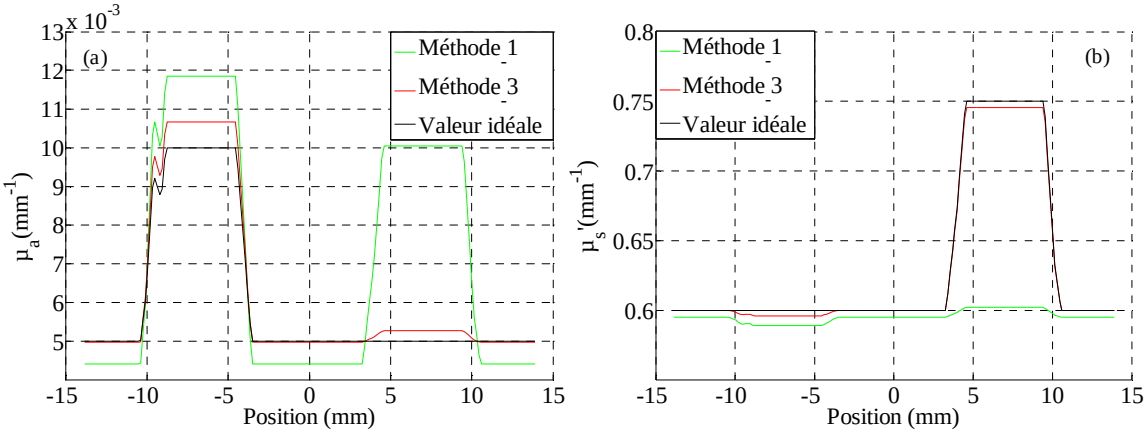


Figure 5.32 : Profils des valeurs reconstruites des coefficients μ_a (a) et μ_s' (b) le long de l'axe z de l'objet_2, avec information à priori, selon les deux méthodes de reconstruction.

La figure 5.32 (b) montre que méthode_1 a très largement sous estimé le coefficient μ_s' dans l'inclusion diffusante C_1. En corollaire, l'atténuation de la lumière est attribuée à une augmentation de l'absorption dans les deux inclusions C_1 et C_2, engendrant ainsi une grande erreur de diaphonie. De plus, le coefficient μ_a du fond a été sous estimé dans cette méthode. Le profil des valeurs reconstruites de μ_s' montre que la méthode_3 a parfaitement reconstruit le fond et a légèrement sous estimé μ_s' dans les deux inclusions. Ce qui est compensé par une légère erreur de diaphonie dans l'inclusion C_1 et une surestimation de μ_a dans l'inclusion C_2. Les résultats obtenus par la méthode_3 peuvent être

considérés comme très précis. L'information a priori a permis de localiser les inclusions, rendant ainsi l'imagerie optique d'absorption et de diffusion quantitative.

Les erreurs et les valeurs de diaphonie permettant de comparer les deux méthodes et d'apprécier la précision de la méthode_3 sont listées dans le tableau 5.12. Il est intéressant de comparer ces résultats et ceux du tableau 5.11. Les erreurs de reconstruction avec la méthode 3 sont divisées par 3 (μ_a) et par 10 (μ_s') environ. Mais la diaphonie sur l'image d'absorption est plus importante, démontrant que ce problème est sans doute le plus difficile à résoudre en TOD.

	μ_a			μ_s'		
Méthodes	Erreur sur la cible (%)	Diaphonie (%)	Erreur sur le fond (%)	Erreur sur la cible (%)	Diaphonie (%)	Erreur sur le fond (%)
Méthode_1	-18,51	-100,99	11,72	19,73	0,84	1,81
Méthode_3	-6,71	-5,48	0,69	0,58	-0,01	0,64

Tableau 5.12 : Erreurs et diaphonie de reconstruction sur les images d'absorption μ_a et de diffusion réduite μ_s' reconstruites avec information à priori. Coupe x = 0 mm, objet_2.

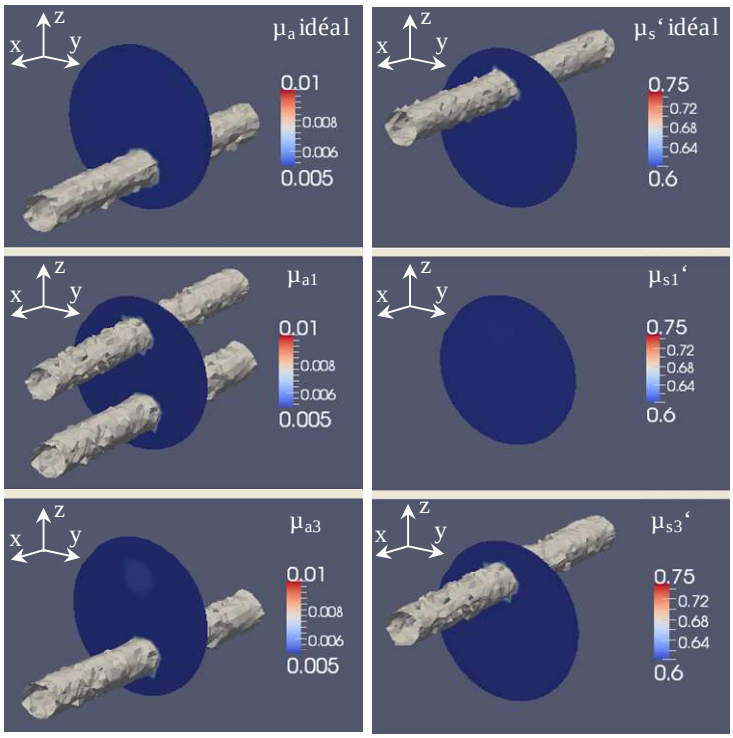


Figure 5.33 : Images 3D d'absorption (gauche) et de diffusion réduite (droite) de l'objet_2. Objet simulé (haut) et objet reconstruit selon méthode_1, et méthode 3 (de haut en bas) en utilisant les positions des inclusions en information à priori.

La figure 5.33 montre les volumes obtenus par segmentation des images μ_a et μ_s'. Le seuil choisi pour cette segmentation est égal à la moitié de la valeur maximale du coefficient dans les inclusions idéales. Les seuils utilisés pour segmenter les images μ_a et μ_s' sont respectivement égaux à 0,0075 mm^{-1} et 0,675mm^{-1}. On observe les deux inclusions dans l'image μ_a Reconstruite avec la méthode_1. Aucune inclusion n'est observée sur l'image de diffusion. La méthode_3 fournit des images très proches de l'objet simulé. La faible valeur de la diaphonie dans l'image μ_a permet de ne pas détecter l'inclusion C_1, qui est restée sous le seuil de segmentation.

Les résultats de reconstruction obtenus en utilisant ou non l'information à priori, permettent de confirmer la supériorité de la méthode_3.

5.2.2 Fantôme souris

5.2.2.1 Génération des profils temporels

Les profils temporels ont été générés, ici encore, en résolvant l'ED par la MEF. La génération des données simulées est effectuée entre 0 ps et 2500 ps avec un pas de 5 ps et un maillage fin. La géométrie du fantôme souris est composée de trois milieux de propriétés optiques différentes (Figure 5.19). Les coefficients d'absorption μ_a et de diffusion réduit μ_s', attribuées au fond sont respectivement égaux à 0,005 mm^{-1} et 0,6 mm^{-1}. L'inclusion C_1 a le même coefficient d'absorption que celui du fond et un coefficient de diffusion réduit égal au double de celui du fond. L'inclusion C_2 simule une hétérogénéité en absorption. Son coefficient de diffusion réduit est égal à celui du fond et son coefficient d'absorption est égal à 5 fois celui du fond.

Un bruit de Poisson a été ajouté aux TPSF simulées après les avoir normalisées sur les TPSF expérimentales. Le taux de comptage maximum utilisé est de l'ordre de 10^5 photons. Ce bruit permet de simuler le bruit de comptage présent dans les TPSF expérimentales et de tester la robustesse des algorithmes sur des données bruitées.

5.2.2.2 Reconstruction du fantôme souris

Les résultats de reconstruction du fantôme souris présentés dans cette partie sont obtenus en utilisant la méthode_3, à partir de points sélectionnés sur les TPSF (PS). Le pas de temps de résolution du problème direct est fixé à 12 ps durant le processus itératif d'inversion du problème afin de réduire le temps de calcul. Le maillage utilisé dans la résolution du problème inverse contient 17374 nœuds et 79337 éléments tétraédriques. Le grand nombre de nœuds est dû à la nature accidentée de la surface du fantôme.

La figure 5.34 montre les images μ_a et μ_s' reconstruites sur le fantôme souris en utilisant la méthode_3. Les lignes violettes correspondent au contour des inclusions de l'objet fantôme. Les lignes blanches correspondent à la segmentation des inclusions dans les images reconstruites. Le seuil de segmentation est égal à la moitié de la valeur maximale du coefficient reconstruit.

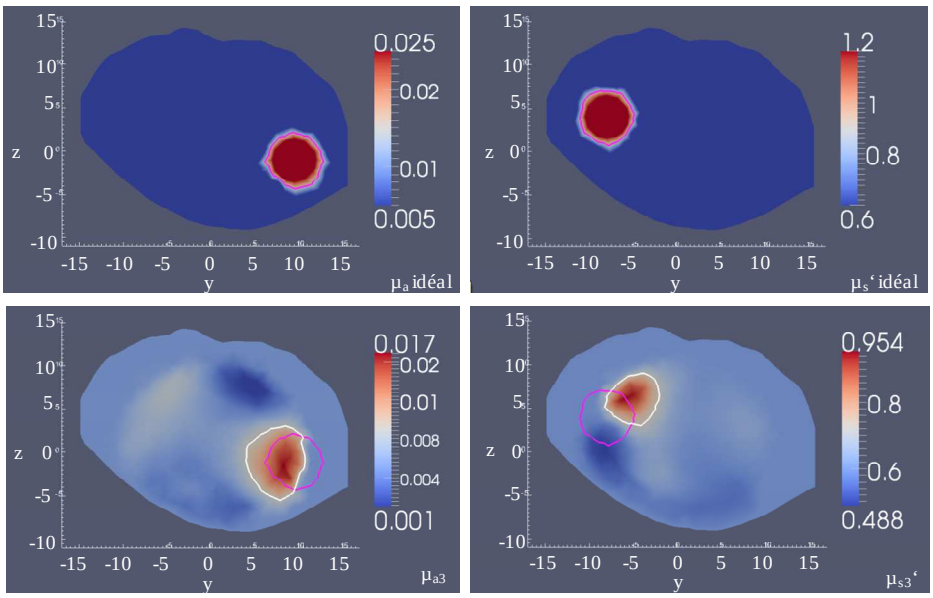


Figure 5.34 : Images d'absorption (gauche) et de diffusion réduite (droite) du fantôme souris. Objet simulé et objet reconstruit selon la méthode 3 (de haut en bas). Coupe à x = -25 mm.

Lors de la reconstruction du coefficient μ_a, l'inclusion C_2 est la zone hétérogène à reconstruire. L'image μ_a reconstruite montre que cette inclusion est détectée. Cependant, nous observons une légère diaphonie au niveau de l'inclusion C_1. Cette diaphonie est compensée par une diminution de μ_a de 0,004 mm^{-1} dans une zone au dessus de l'inclusion C_2. L'inclusion C_1 est retrouvée lors de la reconstruction du coefficient μ_s'. Aucune diaphonie n'est observée.

Les images des deux coefficients montrent que cette méthode est en mesure de localiser et de séparer les inclusions C_1 et C_2. Cependant, une erreur de positionnement des inclusions reconstruites est observée. Ce décalage sera discuté dans la suite.

La figure 5.35 montre des vues 3D des inclusions réelles et reconstruites, des images μ_a et μ_s'. Ces volumes sont obtenus par seuillage en utilisant un seuil égal à la moitié de la valeur maximale du coefficient reconstruit. Le seuil utilisé pour obtenir l'inclusion dans l'image de μ_a est égal à $9{,}02.10^{-3}$ mm^{-1}. Celui utilisé pour obtenir l'inclusion reconstruite dans l'image μ_s' est égal à $7{,}82.10^{-1}$ mm^{-1}. La partie gauche situe les inclusions de l'objet simulé. La partie droite de la figure visualise les images 3D des inclusions reconstruites, superposées aux inclusions « réelles ».

Les inclusions C_1 et C_2, reconstruites et réelles, ne se superposent pas exactement. Les volumes de ces inclusions, reconstruites et réelles, sont comparés pour évaluer la qualité des images reconstruites.

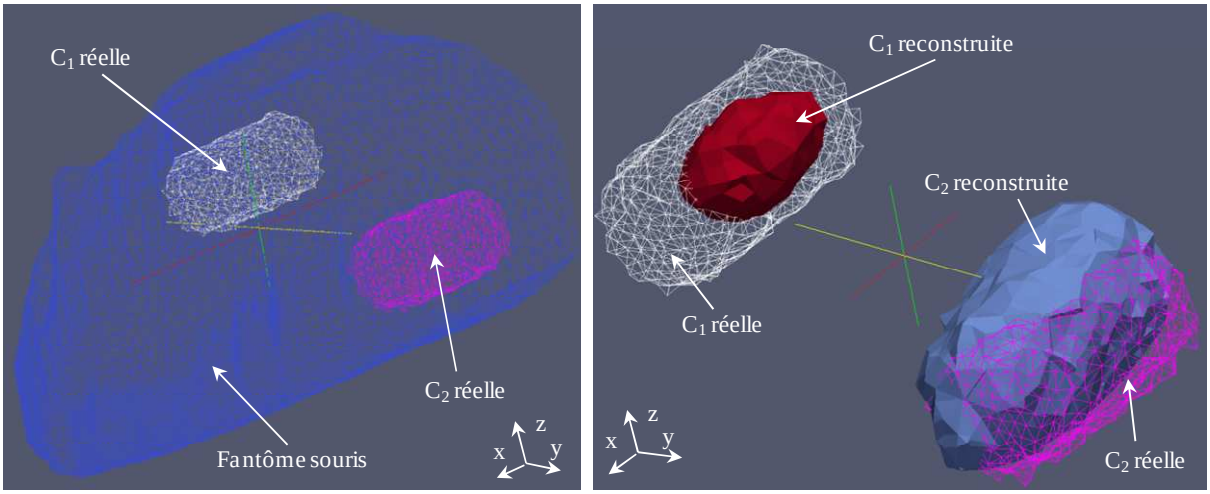


Figure 5.35 : Fantôme souris et position des inclusions diffusante C_1 et absorbante C_2 (gauche). Inclusions réelles et reconstruites C_1 (rouge) et C_2 (bleu) (droite).

Nous observons que l'inclusion C_1 reconstruite est excentrée par rapport à C_1 réelle. De plus, nous remarquons que leur intersection (*overlap*) représente 40% de C_1 reconstruite et seulement 12% de C_1 réelle. Concernant l'image μ_a, nous remarquons que le décalage entre C_2 reconstruite et C_2 réelle est moins important. En effet, l'intersection entre C_2 réelle et C_2 reconstruite représente 45% du volume de cette dernière et 60% de l'inclusion C_2 réelle.

Un autre paramètre peut être utilisé pour quantifier le décalage entre inclusions réelles et reconstruites. Il s'agit de la distance entre les centres de gravité des inclusions réelles et reconstruites. Ce décalage est de 2,49 mm pour l'image μ_a et de 3,70 mm pour l'image μ_s'.

Les résultats de reconstruction présentés ci dessus montrent que la méthode_3 permet de reconstruire des images de bonne qualité sur une géométrie complexe. Ajoutés aux résultats de reconstruction obtenus sur le fantôme cylindrique, ces données montrent que contrairement aux autres méthodes, la méthode_3 permet de reconstruire des images d'absorption et de diffusion de bonne qualité et de réduire les problèmes de diaphonie. Ces résultats sont encourageants et nous permettent d'envisager l'obtention d'images TOD 3D sur des rongeurs anesthésiés.

5.2.3 Images de fluorescence

5.2.3.1 Génération des profils temporels

En utilisant l'approche dite en lumière totale présentée en 4.3.5.2., les densités de photons Φ_x et Φ_m^* sont obtenues en utilisant le système d'équations couplées (4.72). La densité de photons de la lumière totale Φ_t est obtenue par résolution de l'équation (4.73). Les profils temporels associés des photons d'excitation $TPSF_x$, $TPSF_t$ et $TPSF_m^*$ sont obtenus à partir de ces densités de photons, via les conditions aux limites et en utilisant la méthode de détection sans contact décrite en section 2.2.2 [17]. Les $TPSF_m$ peuvent être obtenues par deux méthodes. La première consiste en la résolution des équations couplées (4.70). La seconde méthode, en lumière totale, consiste en la convolution des $TPSF_m^*$ par la fonction exponentielle de décroissance de la fluorescence selon l'équation (4.75).

Le fantôme utilisé dans cette section à la géométrie de l'objet_2. Le cylindre de fond contient une inclusion absorbante et fluorescente C_2 et une hétérogénéité en diffusion C_1. Nous présentons ci-dessous les images de la concentration du fluorophore dans C_2, reconstruites avec la méthode de lumière totale sur deux fantômes contenant deux concentrations différentes du fluorophore.

L'inclusion C_2 du premier fantôme objet_1µM contient une concentration $\langle ICG \rangle$ égale à 1/ln(10) µmol/L. L'inclusion C_2 du deuxième fantôme objet_5µM contient une concentration 5 fois plus élevée. Enfin, l'objet appelé objet_2 et décrit en section 5.2.1.1 est utilisé comme fantôme non fluorescent. Désormais, ce fantôme sera appelé objet_0µM.

		μ_a (mm^{-1})	$\langle ICG \rangle$ (µmol/L)	μ_{at} (mm^{-1})	μ_s' (mm^{-1})
Fond		0,005	0	0,005	0,6
Objet_1µM	C_1	0,005	0	0,005	0,75
	C_2	0,01	0,4343	0,023	0,6
Objet_5µM	C_1	0,005	0	0,005	0,75
	C_2	0,01	2,1715	0,075	0,6

Tableau 5.13 : Propriétés optiques du fond et des inclusions et concentrations du fluorophore dans les fantômes objet_1µM et objet_5µM.

Les propriétés optiques du fond, aux longueurs d'onde d'excitation et de fluorescence, sont égales à : $\mu_a = 0{,}005\ mm^{-1}$, $\mu_s' = 0{,}6\ mm^{-1}$, n = 1,54. Les caractéristiques du fluorophore $\eta = 0{,}016$, $\tau = 560$ ps et $\varepsilon_{778} = 13000\ mm^{-1}mol^{-1}L$ ont été choisies afin de simuler l'ICG pour les longueurs d'onde d'excitation/d'émission de 778 nm/830 nm [5,6]. L'augmentation du coefficient d'absorption de l'inclusion C_2, dû à la présence du fluorophore, est égale à $0{,}013\ mm^{-1}$ pour l'objet_1µM et à $0{,}065\ mm^{-1}$ pour l'objet_5µM. Les propriétés optiques des deux fantômes sont résumées dans le tableau 5.13.

Les simulations sont calculées pour les temps de vol compris entre 0 ps et 3500 ps, avec un pas de temps de 10 ps. La figure 5.36 (droite) présente les profils temporels $TPSF_x$, $TPSF_t$, $TPSF_m^*$, et $TPSF_m$, calculés sur le fantôme objet_5µM, pour le détecteur d_4, situé à 180° de la source S. Source et détecteur sont placés dans l'axe des inclusions (Figure 5.36, gauche). On observe que le profil des photons d'excitation $TPSF_x$ est le plus court. Le profil des photons de fluorescence $TPSF_m$ est essentiellement allongé par la durée de vie de l'état excité du fluorophore.

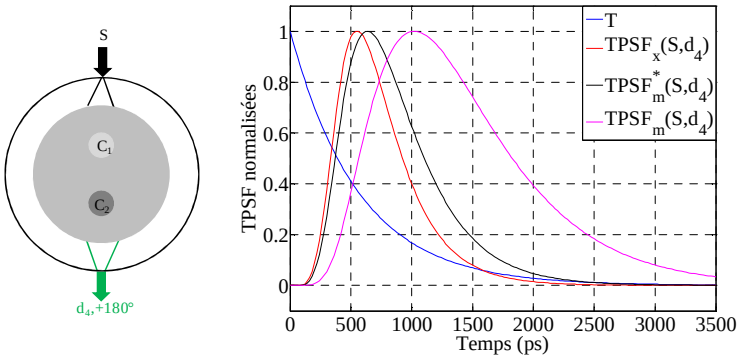


Figure 5.36 : Géométrie des fantômes objet_1µM et objet_5µM et positions de la source S et du détecteur d_4 (gauche). Profils temporels $TPSF_x$, $TPSF_m^*$, $TPSF_m$ et déclin de fluorescence (T) calculés sur le fantôme objet_5µM, pour le détecteur d_4 lors de l'utilisation de la source S.

La figure 5.37 présente les densités de photons d'excitation $\Phi_x\left(\langle ICG\rangle \mu M\right)$, de fluorescence déconvoluée, ou correspondant à un temps de vie nul, $\Phi_m^*\left(\langle ICG\rangle \mu M\right)$ et de la lumière totale $\Phi_t\left(\langle ICG\rangle \mu M\right)$, calculées pour les objets objet_1µM et objet_5µM.

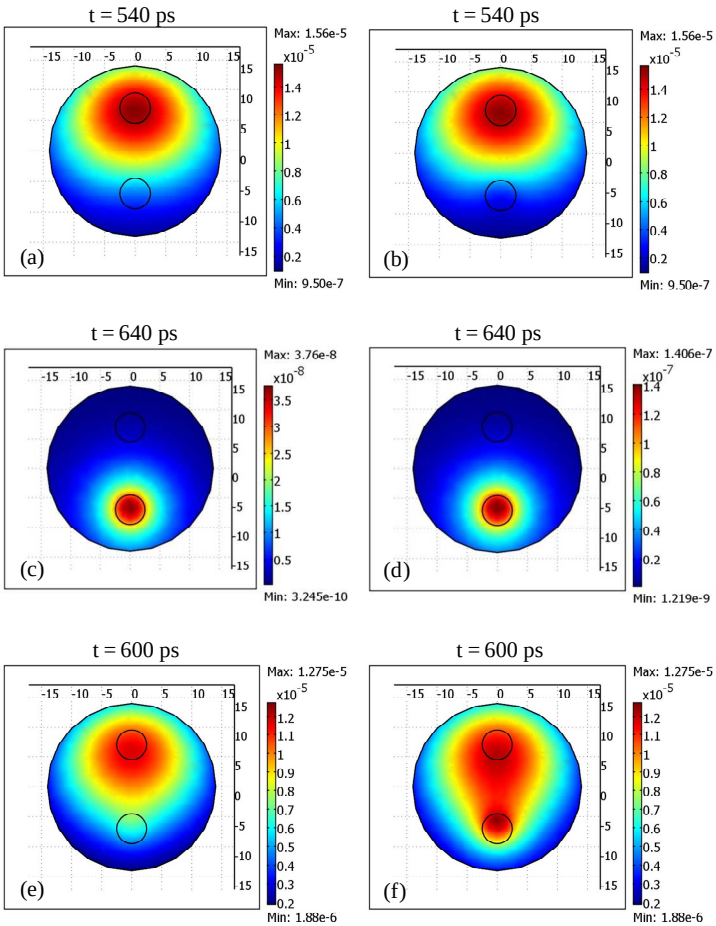


Figure 5.37 : Cartes des densités de photons d'excitation $\Phi_x\left(1\mu M\right)$ (a), $\Phi_x\left(5\mu M\right)$ (b), de fluorescence avec temps de vie zéro $\Phi_m^*\left(1\mu M\right)$ (c), $\Phi_m^*\left(5\mu M\right)$ (d) et de lumière totale $\Phi_t\left(1\mu M\right)$ (e) et $\Phi_t\left(5\mu M\right)$ (f) aux temps correspondant à leurs maxima sur le détecteur d_4.

Le maximum de la densité de photons d'excitation est observé 540 ps après l'impulsion lumineuse. Le maximum de la densité de photons de fluorescence déconvoluée de la durée de vie de fluorescence est obtenu au temps t = 640 ps. Le maximum de densité des photons en lumière totale, calculé par l'équation (4.73), est enregistré à t = 600 ps.

Les profils des photons d'excitation $TPSF_x(1\mu M)$ et $TPSF_x(5\mu M)$ ont des maxima respectivement égaux à $1{,}3.10^{-6}$ et 1.10^{-6} (ua). Les maxima des profils de fluorescence, avec un temps de vie zéro $TPSF_m^*(1\mu M)$ et $TPSF_m^*(5\mu M)$, sont de $9{,}6.10^{-9}$ et $3{,}6.10^{-8}$ (ua). Les maxima des profils de lumière totale $TPSF_t(1\mu M)$ et $TPSF_t(5\mu M)$ sont de $1{,}88.10^{-6}$ et $3{,}21.10^{-6}$ (ua). Les profils de fluorescence sont nettement inférieurs aux autres profils, ils ne seront plus présentés avec ces derniers.

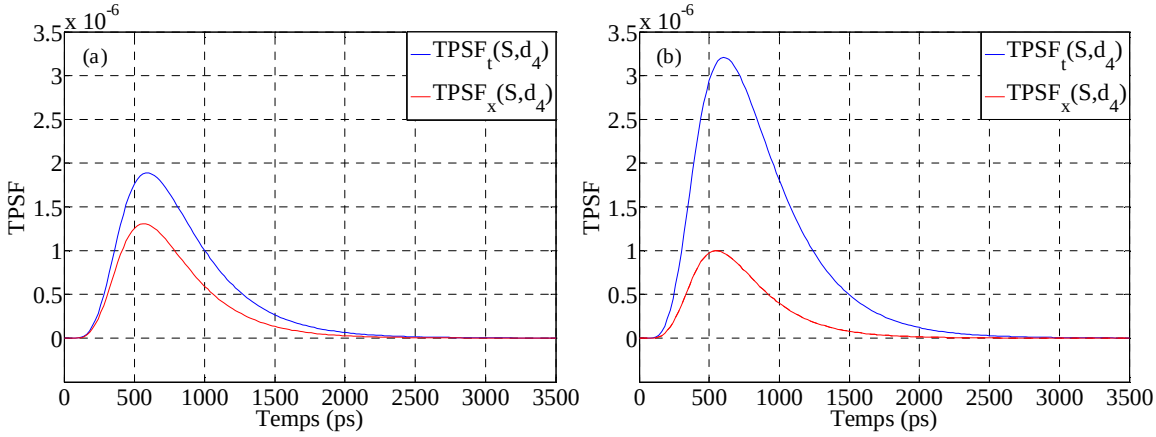


Figure 5.38 : Profils temporels d'excitation et de lumière totale obtenus sur le fantôme objet_1µM (a), et sur le fantôme objet_5µM (b). Source S, détecteur d_4.

La figure 5.38 présente les profils temporels d'excitation $TPSF_x(S,d_4)$ et $TPSF_t(S,d_4)$ obtenus sur le détecteur d_4 après illumination des fantômes objet_1µM et objet_5µM avec la source S (Figure 5.36 (gauche)). On notera la diminution du profil d'excitation (rouge) associée à l'augmentation du coefficient d'absorption μ_a, lorsque la concentration en fluorophore est augmentée de 1/ln(10) à 5/ln(10) µmol/L. On note l'élévation parallèle de la fluorescence et donc de la lumière totale, produite par l'augmentation de la concentration d'ICG.

L'ensemble des profils temporels simulés seront utilisés comme données de base pour la reconstruction des deux fantômes objet_1µM et objet_5µM.

5.2.3.2 *Reconstruction d'images en lumière totale*

Dans cette partie nous présentons les résultats de reconstruction obtenus sur les fantômes objet_0µM, objet_1µM et objet_5µM. Les images reconstruites sont les images d'absorption μ_a, de diffusion réduite μ_s' et de concentration de fluorophore $\langle ICG \rangle$.

Les images de μ_s' ne seront pas présentées car elles sont pratiquement identiques à celles présentées dans la section 5.2.1.2.2.

Les images d'absorption des trois objets avec les concentrations de fluorophore égales à 0, 1/ln(10) et 5/ln(10) ont été reconstruites en utilisant les méthode_1 (moments des TPSF) et méthode_3 (points sélectionnés sur les TPSF). La figure 5.39 présente les images μ_a et μ_{at} pour les 3 concentrations d'ICG.

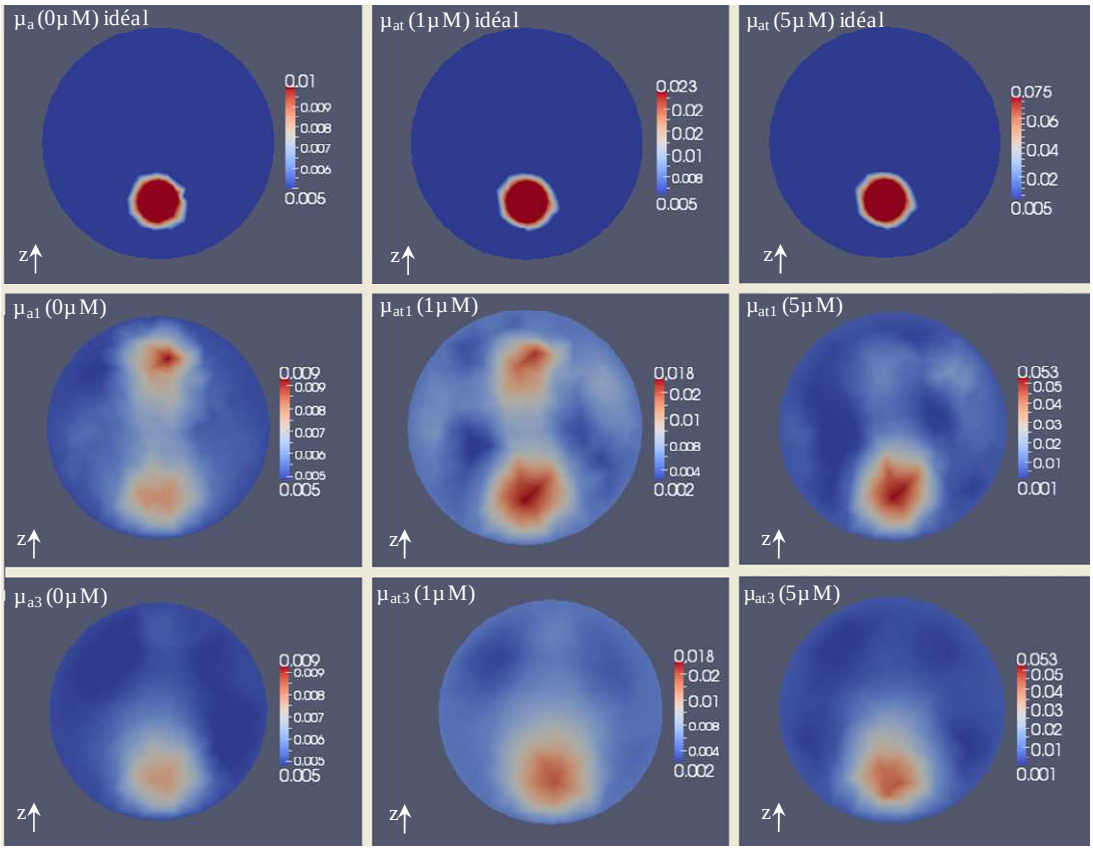


Figure 5.39 : Images d'absorption μ_a, d'absorption totale μ_{at} à 1/ln(10) et à 5/ln(10) µmol/L (de gauche à droite). Objet simulé, objet reconstruit selon méthode_1, et méthode 3 (de haut en bas)

Pour faciliter la comparaison des images, les échelles de couleur des images reconstruites selon les 2 méthodes sont identiques.

Nous observons encore une diaphonie très importante sur toutes les images reconstruites avec méthode_1. Cette diaphonie est cependant plus faible sur l'image à 5/ln(10) µmol/L. Ce résultat s'explique par la très forte absorption de l'inclusion C_2. Nous introduisons le paramètre d'influence $r_{d/a}$ défini comme étant le rapport entre μ_s' dans l'inclusion C_1 et le coefficient d'absorption μ_a dans l'inclusion C_2. Dans le fantôme objet_5µM, ce paramètre est égal à 8. Pour les fantômes objet_1µM et objet_2, ce paramètre est respectivement égal à 26 et 60.

Les images reconstruites avec la méthode_3 ne présente pas l'erreur de diaphonie, pour les 3 coefficients d'absorption de l'inclusion C_2, et donc quel que soit le paramètre d'influence $r_{d/a}$.

La figure 5.40 présente les profils, selon l'axe z, des images μ_a et μ_{at} aux 3 concentrations d'ICG, des images idéales (objet simulé) et reconstruites avec les méthode_1 et méthode_3.

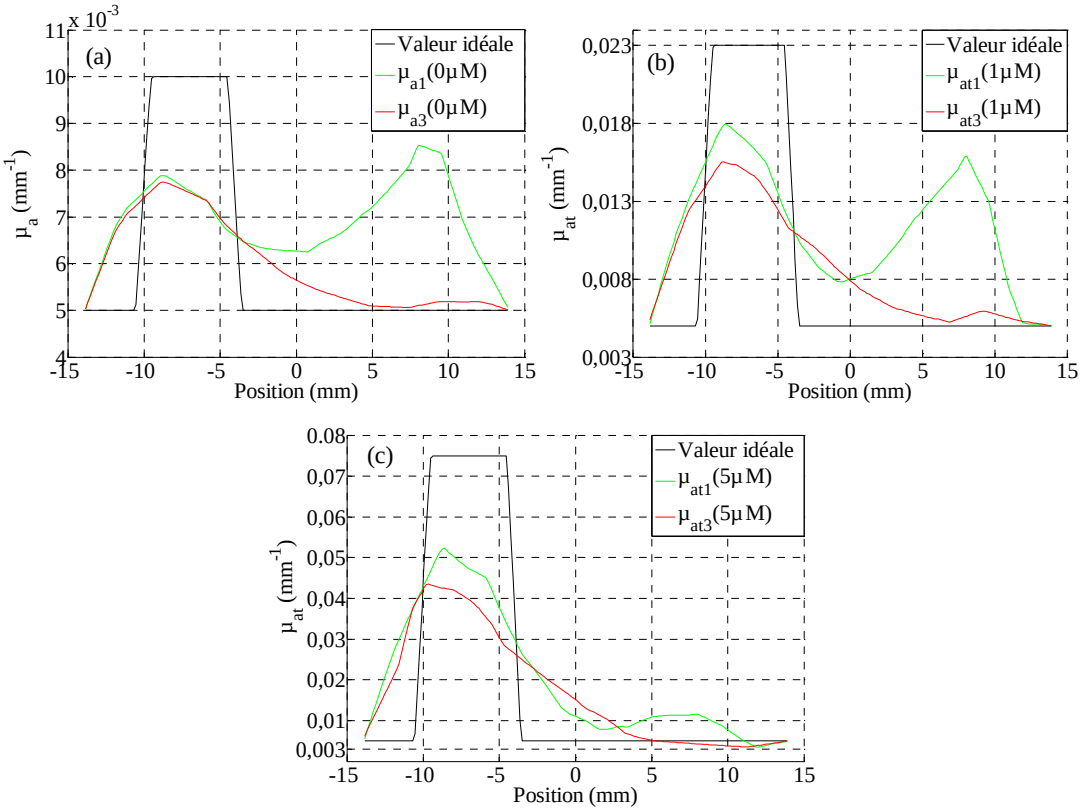


Figure 5.40 : Profils des valeurs reconstruites des coefficients μ_a (a), μ_{at} à 1/ln(10) µmol/L (b) et μ_{at} à 5/ln(10) µmol/L (c) le long de l'axe z, selon les deux méthodes de reconstruction.

L'effet du paramètre d'influence sur l'apparition de la diaphonie est visible dans les deux méthodes de reconstruction. L'augmentation de l'absorption dans l'inclusion C_2 est proportionnelle à la concentration du fluorophore [18,19], et le paramètre d'influence varie en sens inverse. Nous avons quantifié la diaphonie sur les profils des images obtenues par la méthode_1, en comparant les amplitudes du maximum d'absorption sur l'inclusion diffusante à son amplitude au niveau de l'inclusion absorbante. Ce rapport diminue de 122 % dans l'image μ_a(0µM) à 84 % dans l'image de μ_{at} à 1/ln(10) µmol/L et à 13,9 % dans l'image de μ_{at} à 5/ln(10) µmol/L.

Concernant les images reconstruites en utilisant méthode_3, ce rapport est respectivement égal à 7,0% et 7,8% sur les images μ_a et μ_{at} à 1/ln(10) µmol/L. Ces maximas ne sont pas centrés sur l'inclusion C_1, nous ne sommes pas en mesure d'affirmer avec certitude qu'il s'agit de diaphonie. Il n'est pas possible d'observer un tel pic sur le profil de l'image μ_{at} à 5/ln(10) µmol/L.

L'intérêt premier de la méthode en lumière totale est de conduire à la génération d'images de fluorescence, à partir des images d'absorption précédentes. La concentration du fluorophore est exprimée par l'équation (4.77). La figure 5.41 présente les images des concentrations reconstruites sur les fantômes objet_1µM et objet_5µM en utilisant les méthode_1 et méthode_3.

Bien entendu, la diaphonie dans les images de concentration calculées par la méthode_1 est observée. Elle est d'autant plus importante que l'absorption optique du fluorophore est faible, c'est à dire que le coefficient $r_{d/a}$ augmente.

Les images reconstruites par la méthode_3 mettent clairement en évidence l'inclusion C_2 qui contient la sonde fluorescente. Une analyse quantitative des images est nécessaire pour apprécier la qualité de la reconstruction. On observe en particulier que les concentrations recherchées, 1/ln(10) et 5/ln(10) µmol/L, ne sont pas retrouvées sur les images de fluorescence.

Nous définissons C_2 comme cible, C_1 comme zone de diaphonie et le reste de la coupe comme le fond de l'objet. Les erreurs de reconstruction sont calculées par l'équation (5.4) sur l'ensemble des pixels de la zone évaluée. La valeur de la concentration théorique dans la zone de diaphonie et le fond

étant nulle, cette équation ne peut être utilisée pour calculer les erreurs dans ces régions. Nous avons alors choisi de présenter les résultats dans ces zones par la moyenne $\langle ICG \rangle$ et l'écart type σ des concentrations reconstruites.

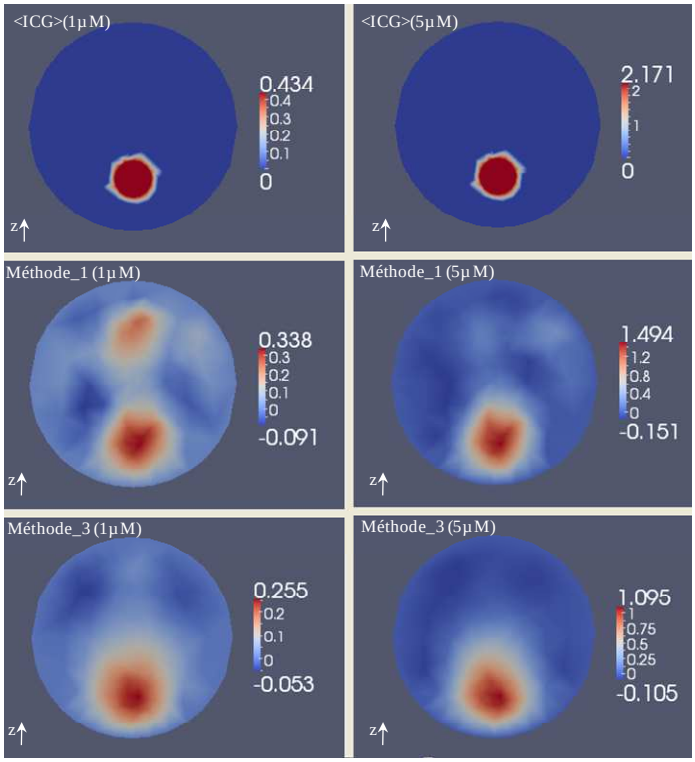


Figure 5.41 : Images de concentration du fluorophore à 1/ln(10) et à 5/ln(10) µmol/L (de gauche à droite). Objet simulé, objet reconstruit selon méthode_1, et méthode 3 (de haut en bas).

Le tableau 5.14 présente les erreurs des concentrations calculées dans la zone cible C_2 et les moyennes et écarts types dans la zone de diaphonie C_1 et sur le fonf de l'objet. Il permet la comparaison des performances de la méthode_1 et de la méthode_3.

	1/ln(10) µmol/L					5/ln(10) µmol/L				
	Erreur cible (%)	Diaphonie		Fond		Erreur cible (%)	Diaphonie		Fond	
		$\langle ICG \rangle$ µmol/L	σ µmol/L	$\langle ICG \rangle$ µmol/L	σ µmol/L		µmol/L $\langle ICG \rangle$	σ µmol/L	$\langle ICG \rangle$ µmol/L	σ µmol/L
Méthode_1	34,41	0,173	0,034	0,017	0,052	41,29	0,009	0,052	0,06	0,195
Méthode_3	44,8	0,008	0,004	0,017	0,043	53,73	0,002	0,021	0,05	0,178

Tableau 5.14 : Erreurs de reconstruction sur les images de concentration de fluorophore. Coupe x = 0 mm, fantômes avec 1/ln(10) et 5/ln(10) µmol/L dans la zone cible.

Le tableau 5.14 montre que les erreurs de concentrations obtenues lors de l'utilisation de la méthode_3 sont 1,3 fois plus élevées que celles obtenues en utilisant la méthode_1, ce que laissait voir les profils de la figure 5.40.

Les concentrations moyennes de fluorophore mesurées sur le fond sont du même ordre de grandeur dans les 2 méthodes, inférieures à 10 % des concentrations mesurées dans la cible. Par contre, les concentrations moyennes mesurées dans la zone de diaphonie sont nettement inférieures

avec la méthode_3 qu'avec la méthode_1. Le rapport de ces concentrations est égal à 21 sur l'objet à 1/ln(10) µmol/L, et de 4,5 sur l'objet à 5/ln(10) µmol/L.

La figure 5.42 présente les profils le long de l'axe z des images de concentration des objets avec les 2 concentrations de fluorophore, correspondant aux images présentées en figure 5.41.

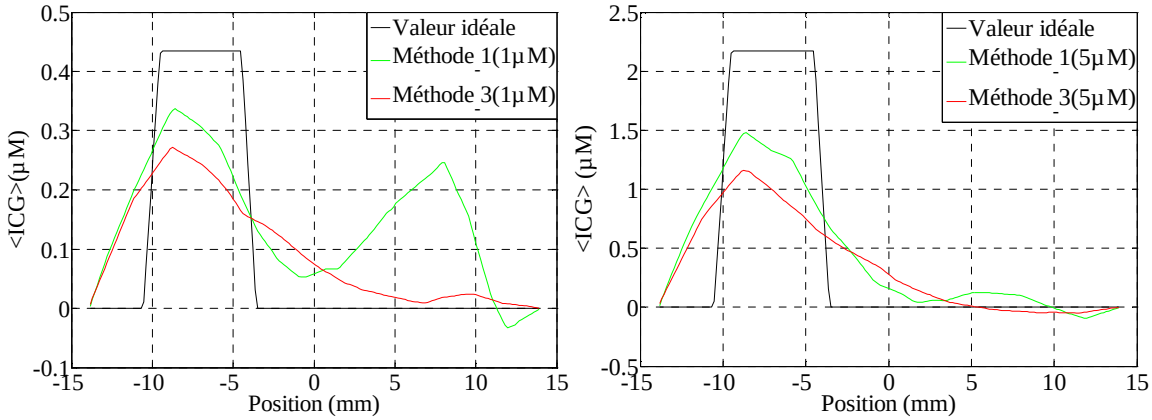


Figure 5.42 : Profils des concentrations reconstruites pour les objets à 1/ln(10) µmol/L (a) et μ_{at} à 5/ln(10) µmol/L (b) le long de l'axe z, selon les deux méthodes de reconstruction.

Ces profils montrent clairement la qualité supérieure des images reconstruites avec la méthode_3, par rapport à celle des images reconstruites avec la méthode_1, pour la plus faible concentration de fluorophore testée, égale à 1/ln(10) µmol/L.

Il est important de rappeler que la méthode_1, basée sur les moments des profils temporels, n'est pas à écarter car elle présente plusieurs avantages reconnus et signalés dans le chapitre 4.3.2. Elle est en particulier robuste au bruit, aux fluctuations des sources et aux erreurs du modèle et nécessite des temps de calcul nettement inférieurs à ceux de la méthode_3. Elle peut donc être proposée pour la reconstruction d'images sur des objets présentant une faible hétérogénéité en diffusion et un faible paramètre d'influence $r_{d/a}$.

L'utilisation de l'approche en lumière totale, combinée à la méthode de reconstruction utilisant une sélection de points sur la TPSF a permis de reconstruire des images de concentration de fluorophore de bonne qualité. Cette approche réduit le temps de calcul à 10% du temps requis pour la résolution des ED couplées. Ce gain en temps est essentiellement obtenu car l'étape de convolution n'est effectuée qu'une seule fois, avant le processus itératif d'optimisation.

Enfin, il est important de rappeler que l'approche en lumière totale reste basée sur l'hypothèse que les coefficients d'absorption et de diffusion sont égaux aux deux longueurs d'onde d'excitation et d'émission. Cette hypothèse n'est certainement pas vérifiée dans les tissus biologiques. Elle implique également que l'absorption optique du fluorophore soit nulle dans la bande d'émission détectée, ce qui est rarement observé avec les fluorophores usuels. Enfin, l'absorption optique du fluorophore doit être significative, par rapport à celle des tissus, à la longueur d'onde d'excitation, ce qui exige une concentration élevée et réduit considérablement l'intérêt des méthodes de fluorescence. Nishimura *et al* ont cependant obtenus des premiers résultats démontrant la faisabilité de cette approche sur petit animal *in-vivo* [20].

5.3 Références

[1] Pogue B. W., Paulsen K. D., *"High resolution near infrared tomographic imaging simulations of rat cranium using a priori MRI structural information"*, Opt. Lett., **23**, 1716-1718, (1998).

[2] Chance B., Luo Q., Nioka S., Alsop D. C., Detre J. A., *"Optical investigations of physiology: a study of intrinsic and extrinsic biomedical contrast"*, Phil. Trans. R. Soc. Lond. B., **352**, 707-716, (1997).

[3] Torregrossa M., Zint C. V., Poulet P., *"The use of MRI information to initialise the first stage of the image reconstruction algorithm in optical tomography"*, Proc. SPIE, **4255**, 264-272, (2003).

[4] Soloviev V. Y., Krasnosselskaia L. V., *"Dynamically adaptive mesh refinement technique for image reconstruction in optical tomography"*, Appl. Opt., **45**, 2828-2837, (2006).

[5] Marjono A., Akira Y., Okawa S., Gao F., Yamada Y., *"Total light approach of time-domain fluorescence diffuse optical tomography"*, Opt. Express, **16**, 15268-15285, (2008).

[6] Sevick-Muraca M., Godavarty A., Houston J., Thompson A., Roy R., *"Near-infrared imaging with fluorescent contrast agents"*, in *Handbook of Biomedical Fluorescence*, M. Mycek and W. Pogue, eds. (Marcel Dekker 2003), 445–528, (2003).

[7] Tagirov R. B., Tagirov L. P., *"Lambert formula-Bouguer absorption law?"*, Russian Physics Journal, **40**, 664-669, (1997).

[8] General Electric, "*Fluorescence Imaging* principles and methods", handbook, 63-0035-28, Rev.B, (2002-10).

[9] Hall D., Ma G., Lesage F., Wang Y., *"Simple time-domain optical method for estimating the depth and concentration of a fluorescent inclusion in a turbid medium"*, Opt. Lett., **29**, 2258-2260, (2004).

[10] Gao F., Zhao H., Yamada Y., *"Improvement of Image Quality in Diffuse Optical Tomography by use of Full Time-Resolved Data"*, Appl. Opt., **41**, 778-791, (2002).

[11] Guven M., Yazici B., Kwon K., Giladi E., Intes X., *"Effect of discretization error and adaptive mesh generation in diffuse optical absorption imaging: I"*, Inv. Prob., **23**, 1115–1133, (2007).

[12] Guven M., Yazici B., Giladi E., *"Adaptive mesh generation for diffuse optical tomography"*, Biomedical Imaging: From Nano to Macro, ISBI, (2007).

[13] Gao F., Zhao H., Yamada Y., *"Improvement of image quality in diffuse optical tomography by use of full time-resolved data"*, Appl. Opt., **41**, 778-791, (2002).

[14] Gao F., Zhao H., Zhang L., Tanikawa Y., Marjono A., Yamada Y., *"A self-normalized, full time-resolved method for fluorescence diffuse optical tomography"*, Opt. Express, **16**, 13104-13121, (2008).

[15] Yates T., Hebden J. C., Gibson A., Everdell N., Arridge S. R., Douek M., *"Optical tomography of the breast using a multi-channel time-resolved imager"*, Phys. Med. Biol., **50**, 2503, (2005).

[16] Hillman E. M. C.**,** *"Experimental and theoretical investigations of near infrared tomographic imaging methods and clinical applications"*, Université de Londres, (2002).

[17] Nouizi F., Chabrier R., Torregrossa M., Poulet P., *"3D modeling for solving forward model of no-contact Fluorescence Diffuse Optical Tomography method"*, Proc. SPIE, **7369**, 0C, (2009).

[18] Schulz R., Peter J., Semmler W., Bangerth W., *"Independent modeling of fluorescence excitation and emission with the finite element method"*, in OSA Biomedical Optics Topical Meeting, Technical Digest, **ThF24**, OSA, (2004).

[19] Farrel T., Patterson M., *"Diffusion modelling of fluorescence in tissue"*, in *Handbook of Biomedical Fluorescence*, M. Mycek and W. Pogue, eds., (Marcel Dekker, 2003), 29–60, (2003).

[20] Nishimura G., Awasthi K., Locharoenrat K., Okawa S., Yamada Y., *"Time-domain fluorescence diffuse optical tomography for living animals by total-light algorithm"*, Proc. SPIE, **7896**, 2Q, (2011).

6 Résultats : données expérimentales

Le tomographe optique résolu en temps, permettant les mesures des profils temporels des photons diffusés et de fluorescence, assemblé dans le laboratoire a été décrit dans le chapitre 3. La modélisation des acquisitions réalisées sans contact entre les fibres optiques et l'objet/animal étudié a été exposée au chapitre 2. Le chapitre 5 a permis de valider les méthodes de calcul des profils temporels enregistrés dans la configuration sans contact et les méthodes de reconstruction d'images d'absorption, de diffusion réduite et de fluorescence à partir des moments ou de points spécifiques des profils temporels. Le chapitre 6 présente les résultats expérimentaux et les premières images obtenues par reconstruction 3D obtenues avec le tomographe du laboratoire.

Les données résolues en temps acquises avec notre système nécessitent une étape de traitement avant leur utilisation dans la reconstruction des images TOD/TODF. La première partie de ce chapitre est consacrée à la caractérisation du tomographe et à la spécification des différentes sources de bruit ou de déformation du signal qui dégradent les mesures réalisées avec ce tomographe. Ce travail est un complément de la caractérisation de l'appareil présentée dans la thèse de Montcel [1].

Le prétraitement des données expérimentales préalable à la reconstruction des images constitue seconde partie de ce chapitre. Les premières images reconstruites avec les outils élaborés durant cette thèse sont présentées dans la dernière partie de ce chapitre.

6.1 Caractérisation du tomographe

6.1.1 Perturbations du signal

Plusieurs sources de perturbations viennent modifier les profils temporels mesurés avec notre système. Certaines sont aléatoires, ce sont les bruits de mesure. D'autres sont des parasites qui peuvent être déterminés et corrigés. Enfin, le signal mesuré est la convolution du signal étudié par la réponse impulsionnelle de l'appareil de mesure. Il est donc nécessaire de connaitre ces différentes composantes :

- Réponse impulsionnelle (RI) du système. Chaque couple source – détecteur a sa propre RI.
- Sources de parasites
    - Réflexions entre les interfaces des fibres optiques
    - Diaphonie dans le photomultiplicateur multi-anodes
- Sources de bruit
    - Fluctuations des diodes laser
    - Bruit de comptage de photons
    - Bruit d'obscurité du détecteur
    - Gigue électronique

La figure 6.1 illustre ces différentes sources de perturbations. La figure 6.1 (a) présente une TPSF mesurée, en rouge, sur un cylindre remplissant l'espace entre les sources et les détecteurs (Ø = 40mm, μ_a = 0,005 mm^{-1}, μ_s' = 0,6 mm^{-1}, n = 1,54). La TPSF simulée sur un modèle de même géométrie et de même propriétés optiques est également représentée, en vert, sur cette figure. Le profil mesuré a été recalé selon l'axe des temps, pour que les deux fronts montants des signaux soient synchrones.

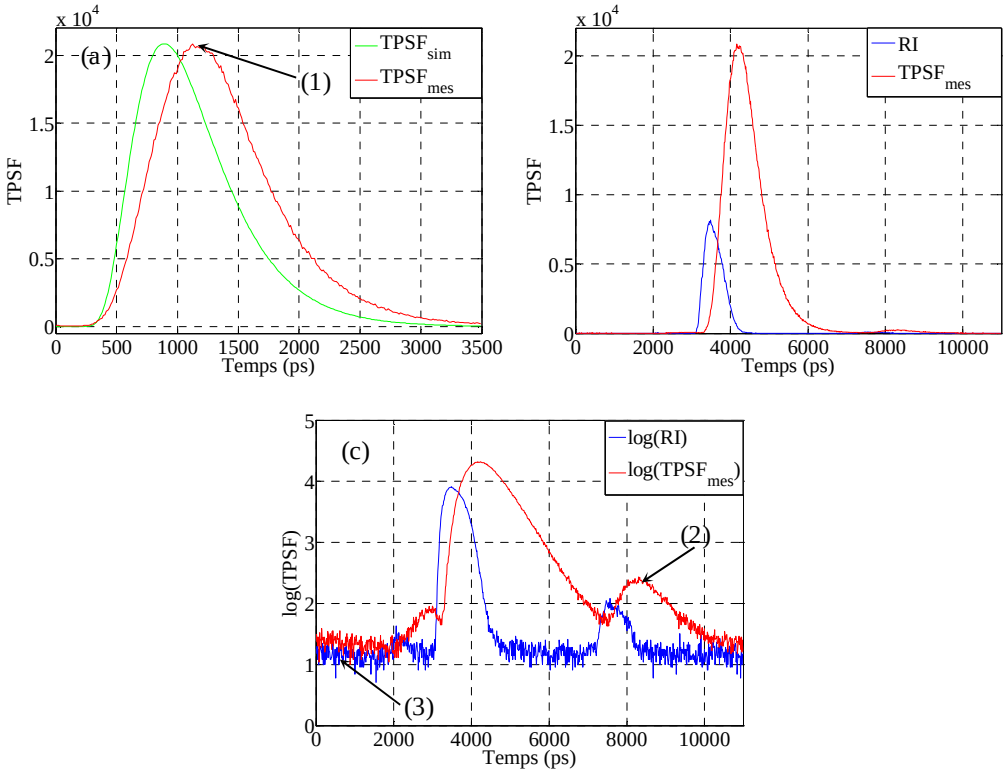


Figure 6.1 : Signaux et perturbations des mesures. (a) TPSF mesurée et simulée, (b) TPSF mesurée et réponse impulsionnelle pour un couple source-détecteur donné, échelle linéaire, (c) TPSF et RI présentées en (b), échelle logarithmique.

Différentes sources de perturbations sont indiquées par des flèches dans la figure 6.1. Ces termes, (1), (2) et (3) seront développés dans la suite de cette partie.

6.1.2 Réponse impulsionnelle

La réponse impulsionnelle (RI) d'un système physique est le signal mesuré à sa sortie si une impulsion de Dirac est appliquée à son entrée. Cette RI caractérise le système, elle fournit l'information sur la dégradation d'une mesure effectuée en utilisant ce système physique. La théorie de traitement du signal exprime le signal de sortie comme le produit de convolution du signal d'entrée (la grandeur physique que l'on désire connaître) par la RI du système de mesure. Ainsi, l'entrée peut être calculée par déconvolution du signal de sortie par la RI.

Les différents éléments du tomographe ont une bande passante limitée et le signal de sortie a une distribution temporelle qui dépend de tous ces éléments. Pour notre tomographe, nous citerons dans l'ordre de propagation des photons et des électrons : les diodes laser, les fibres optiques qui transportent la lumière des diodes jusqu'au point d'illumination de l'objet analysé, les fibres optiques qui conduisent la lumière de l'objet à la photocathode du tube photomultiplicateur (MCP-PMT), le tube MCP-PMT et les composants électroniques: câbles, préamplificateur et cartes de comptage de photons résolus en temps (TCSPC). La RI globale du dispositif doit être mesurée régulièrement, avant une utilisation du tomographe, afin de prendre en compte les variations des conditions expérimentales et des performances du système.

En théorie, la détermination de la RI consiste à mesurer la réponse du système à une impulsion de Dirac, en absence d'échantillon diffusant. En pratique, il n'est pas possible d'injecter une distribution de Dirac optique. La RI globale du tomographe peut être mesurée en plaçant le détecteur en contact direct avec la source. Ainsi, les contributions de tous les éléments sont mesurées simultanément. Cependant, la sensibilité du MCP-PMT impose l'utilisation d'un atténuateur entre la source et le détecteur.

La RI devant être mesurée avec la disposition des fibres utilisée lors des mesures des TPSF, nous avons choisi d'atténuer le faisceau en plaçant un milieu absorbant, d'indice de réfraction connu, et non diffusant dans le tomographe, entre les fibres source et détecteur. Il sera ainsi possible de calculer le temps de vol des photons, en ligne droite dans ce milieu, et de décaler la RI mesurée de ce retard, pour obtenir la RI du dispositif.

La mesure est effectuée ainsi. L'espace utile du tomographe est rempli par un tube en verre contenant de l'encre de Chine diluée dans de l'eau. Le diamètre extérieur du tube, 40 mm, est égal à celui du cylindre de détection. Le tube est en contact direct avec les sources et les détecteurs. La concentration d'encre de Chine permet d'ajuster l'atténuation de la lumière.

Le système expérimental décrit dans le chapitre 3 est conçu pour effectuer 7 mesures simultanées pour chaque position de la source. Pour assurer la mesure des 7 RI correspondantes, la lumière doit atteindre les 7 fibres détectrices et pas seulement celle en face de la fibre source. A cette fin, le tube a été recouvert avec un papier blanc faisant office de paroi diffusante. Ce papier diffuse la lumière avant sa pénétration dans le tube et permet l'enregistrement des 7 RI simultanément, toutes les fibres étant en position de mesure. Cette feuille de papier offre une solution à un autre problème, qui est celui de la dispersion de mode dans les fibres réceptrices.

La RI d'un couple source – détecteur donné de notre système est présentée figure 6.1 (b,c). Sa largeur à mi hauteur est de l'ordre de 260 ps. Elle varie peu d'un couple source-détecteur à l'autre. Les principales causes de cette largeur sont les diodes laser (55 ps, figure 3.8), l'ensemble MCP-PMT / TCSPC (55 à 65 ps selon la voie, [2]) dont les caractéristiques à mi-hauteur ne peuvent être dissociées [3], et surtout la dispersion modale dans les fibres optiques de détection (225 ps, [1]).

La figure 6.1(c) présente la RI d'un couple source – détecteur, avec ce dernier en face de la source, avec une échelle verticale logarithmique. Cette RI comporte deux pics secondaires, avant et après le pic principal. Le premier pic peut être d'origine électrique, il peut être supprimé facilement car situé avant le début de la période de mesure utile. Le deuxième pic a une intensité plus importante et il se situe 4 ns environ après la RI. Ce pic secondaire peut se superposer à une TPSF d'un milieu diffusant, comme montré sur la figure 6.1(c). Il est dû à des réflexions sur des extrémités d'une fibre, comme décrit ci après.

6.1.3 Signaux parasites

6.1.3.1 Réflexions sur les fibres

Le premier signal parasite à considérer est le pic secondaire observé sur la figure 6.1(c), noté (2). Il apparait environ 4000 ps après le pic principal. Ce temps correspond au temps nécessaire à un parcours de 80 cm dans un milieu d'indice de réfraction 1,5. Cette distance est égale à un trajet aller-retour dans la fibre HCP1500 reliant le multiplexeur au faisceau de fibre Hamamatsu (paragraphe 3.23) qui sont une longueur de 40 cm. Des réflexions sur les extrémités des autres fibres ne sont pas exclues. Si elles apparaissent à des temps plus longs, elles n'en sont pas moins à considérer, car elles peuvent se superposer à des TPSF générées par d'autres diodes laser fonctionnant en mode séquentiel. Ce type de parasite n'a cependant pas été observé.

6.1.3.2 Diaphonie dans le photomultiplicateur

La diaphonie dans le MCP-PMT multi-anodes est une source de signaux parasites supplémentaires. La photocathode du tube est commune aux 8 canaux et la séparation entre eux n'est pas parfaite, des photoélectrons émis par la cathode en regard d'une anode donnée peuvent être collectés sur une anode voisine. Pour mesurer cette diaphonie, nous avons éclairé une seule voie de mesure et nous avons enregistré les TPSF obtenues sur les 8 voies de détection.

La diaphonie est calculée comme le rapport du nombre de photons détectés sur la voie non éclairée rapporté au nombre de photons détectés sur la voie éclairée. Le tableau 6.1 présente les nombres de photons détectés sur la voie éclairée ainsi que les deux plus importantes diaphonies enregistrées sur les voies non éclairées. On observe que les diaphonies les plus élevées ne sont pas nécessairement observées entre deux voies contigües.

	Voie éclairée							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Nb photons	$1{,}34.10^6$	$1{,}24.10^6$	$1{,}06.10^6$	$1{,}16.10^6$	$1{,}06.10^6$	$1{,}03.10^6$	$1{,}23.10^6$	$1{,}14.10^6$
Diaphonie 1 (%)	Voie 2 0,14	Voie 1 0,12	Voie 2 0,12	Voie 5 0,07	Voie 4 0,07	Voie 3 0,49	Voie 3 2,31	Voie 7 0,37
Diaphonie 2 (%)	Voie 5 0,01	Voie 3 0,07	Voie 4 0,06	Voie 3 0,06	Voie 1 0,03	Voie 5 0,07	Voie 6 0,15	Voie 1 0,09

Tableau 6.1 : Diaphonie entre voies dans le MCP-PMT.

Hormis la diaphonie importante de 2,3% entre les voies 3 et 7, tous les résultats sont inférieurs à 1%. La diaphonie sera négligée dans les traitements des données mesurées.

Après les sources de signaux parasites, nous considérons les sources de bruit de mesure. Comme observé par Montcel [1], les intensités lumineuses des diodes laser sont stables et les précautions opératoires, consistant à utiliser une voie de référence pour la stabilité temporelle, et à mesurer la RI sur chaque couple source – détecteur avant toute mesure, permettent de corriger pratiquement totalement les mesures de ces variations. Les sources principales de bruit proviennent de la détection des photons et sont de 2 types.

6.1.4 Bruits de mesure

6.1.4.1 Bruit d'obscurité du détecteur

Les TCSPC enregistrent l'arrivé de photons dès que le MCP-PMT est mis sous tension, en absence d'illumination, et en présence d'un objet dans l'espace de mesure du tomographe. Ce bruit, appelé bruit d'obscurité, est dû à la génération thermique de porteurs de charges à l'intérieur du MCP-PMT. Il varie linéairement avec le temps d'accumulation et un ajustement linéaire de ce bruit pour des temps d'accumulation de 1 à 100 s a donné une valeur de 0,45 photons par canal par seconde ($ph.can^{-1}.s^{-1}$). Ce bruit peut être réduit en refroidissant la photocathode du MCP-PMT. Il est cependant suffisamment faible, figure 6.1 flèche (3) et cette solution n'a pas été mise en œuvre.

Ce bruit est réduit en optimisant le seuil de détection des TCSPC afin de séparer les électrons d'origine thermique des photoélectrons, générés par effet photoélectrique.

6.1.4.2 Bruit de comptage de photons

L'effet de ce bruit de comptage sur la TPSF est présenté dans la figure 6.1(a), flèche (1). Il est proportionnel à la racine carrée du nombre de photons détectés. Le bruit de comptage ne pas être décorrélé temporellement d'une TPSF car sa valeur est propre à chaque canal de la TCSPC. Les données extraites de la TPSF, pour la reconstruction d'images sont affectées différemment par ce bruit. Hebden *et al* ont démontré que les variations des moments de la TPSF dues à ce bruit sont inférieures à 0,2% pour une TPSF contenant 10^6 photons [4].

Le bruit d'obscurité et le bruit de comptage s'ajoutent quadratiquement aux signaux. Dans une expérience usuelle, le bruit de comptage domine largement le bruit d'obscurité, sauf aux extrémités des TPSF.

6.1.4.3 Gigue électronique

Ce phénomène n'est pas un bruit. Mais il introduit des fluctuations des TPSF qui s'apparentent à un bruit. Les caractéristiques des TPSF mesurées varient dans le temps. Si les variations d'intensité totale sont dues au bruit et à des dérives, les variations des temps moyens sont dominées par des problèmes de gigue. La correction de l'erreur induite par cette gigue est importante uniquement si nous avons à analyser des données mesurées sur un grand intervalle de temps. Cette erreur est principalement engendrée par les variations des délais entre la génération du signal de synchronisation et l'émission de l'impulsion laser.

Deux méthodes de correction de la gigue ont été comparées dans les travaux de Montcel [1]. La première est basée sur l'utilisation d'une partie de l'impulsion laser comme référence. La deuxième consiste à utiliser un autre laser comme référence. Il a été observé que le temps moyen d'une TPSF subissait une dérive de 200 ps sur une période de deux heures. Après une période de chauffe de 30 minutes, les deux méthodes ont permis de compenser cette dérive et de réduire les fluctuations du temps moyen mesuré de 30 ps à moins de 5 ps.

Le choix d'utiliser la deuxième méthode de correction a été pris car sa mise en œuvre est plus simple. Elle se justifie par le fait que l'ensemble des lasers est piloté par le même signal de base.

6.2 Calibration des données

Notre système permet l'illumination et l'acquisition de données séquentielles, à plusieurs longueurs d'onde. Lors de l'illumination séquentielle de l'animal étudié par trois diodes laser de longueurs d'onde différentes, chacun des sept détecteurs enregistre trois TPSF successives.

Ainsi la représentation graphique des TPSF des 8 cartes de comptage TCSPC fait apparaître trois groupes de TPSF, séparés selon l'axe du temps (Figure 6.2). Chaque groupe est caractéristique d'une longueur d'onde donnée et comporte les 7 TPSF des 7 détecteurs du tomographe optique. La 8° voie est utilisée comme voie de référence pour la correction de la gigue temporelle.

La figure 6.2 présente les TPSF non traitées des photons d'excitation, acquises avec notre système. Les mesures ont été effectuées en contact de la surface d'un objet homogène (Ø = 40 mm, μ_a = 0,0095 mm^{-1}, μ_s' = 0,6 mm^{-1}, n = 1,54. Les trois longueurs d'onde utilisées sont successivement : λ_1 = 785 nm, λ_2 = 690 nm et λ_3 = 830 nm. L'origine de l'échelle de temps est arbitraire.

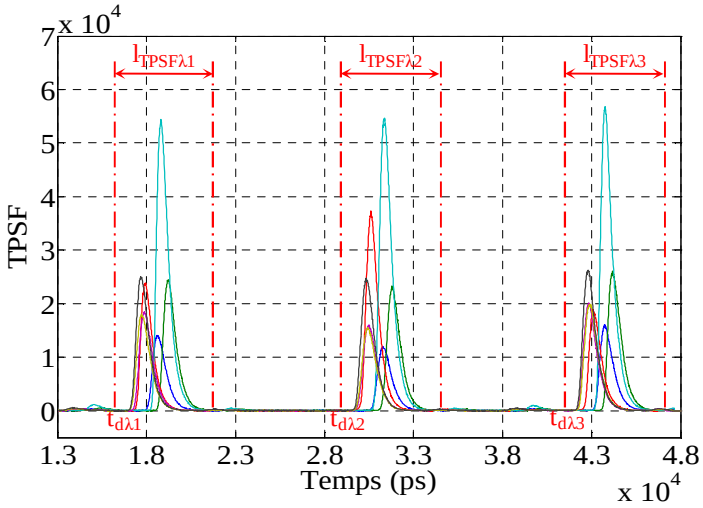


Figure 6.2 : TPSF des photons d'excitation à trois longueurs d'onde, pour les 7 fibres détectrices. Signaux non traités, acquis en contact sur un objet homogène de 40 mm.

Afin d'exploiter ces mesures, il est nécessaire de séparer les TPSF(λ) correspondantes à chaque longueur d'onde λ. Cette étape est réalisée en fixant un temps de début $t_{d\lambda}$ et une largeur $L_{TPSF\lambda}$ des TPSF, de manière à être certain de conserver toutes les données significatives. Les largeurs $L_{TPSF\lambda}$ sont choisies égales pour toutes les longueurs d'ondes. Sachant que la durée totale d'échantillonnage du signal est de 50 ns et qu'on utilise 4096 points temporels sur chaque voie de détection, le pas d'échantillonnage temporel est de 12,207 ps. Lorsque 4 diodes laser sont utilisées séquentiellement, chaque TPSF est acquise sur 12,5 ns. Il est donc très facile de choisir les 4 temps de début $t_{d\lambda}$ et la largeur $L_{TPSF\lambda}$ pour enregistrer tous les points des TPSF supérieurs au bruit d'obscurité.

La figure 6.3 présente, à droite, les TPSF mesurées à la longueur d'onde λ_2 en posant $t_{d\lambda2}$ comme origine des temps. La meilleure résolution temporelle de la représentation permet de distinguer les 7

profils temporels. L'emplacement des sept fibres détectrices correspondantes, selon le code de couleur, est représenté sur la figure 6.3 (gauche). Les fibres sont positionnées tous les 22,5°, de part et d'autre de la fibre d_4 située à 180° de la fibre source.

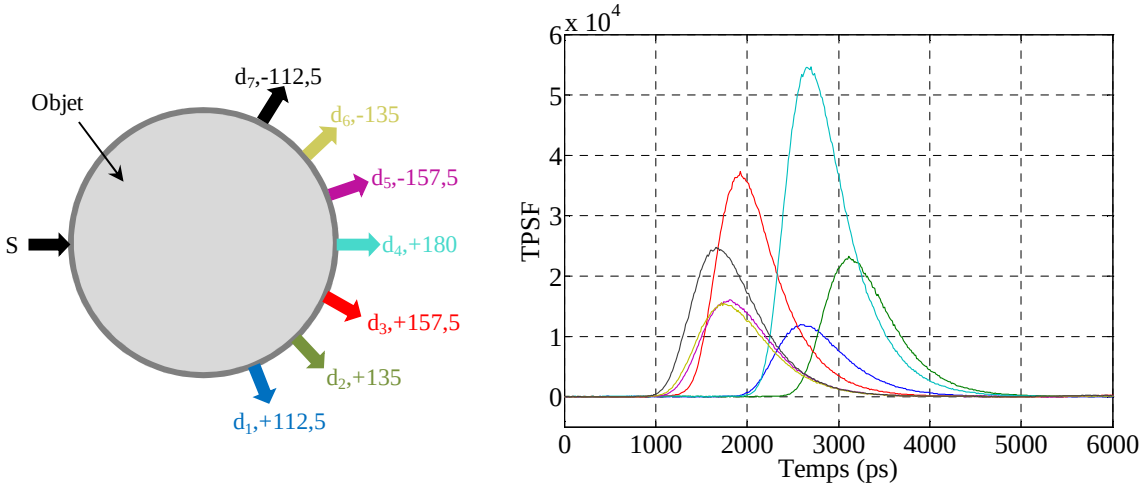


Figure 6.3 : Emplacement des sept fibres détectrices et de la fibre source autour de l'objet (gauche). TPSF non traitées, mesurées à la longueur d'onde λ_2 (droite).

D'après la loi de Beer Lambert, la quantité de lumière détectée décroit exponentiellement en fonction de l'épaisseur de milieu traversé. Selon la figure 6.3, c'est la fibre détectrice d_4, la plus éloignée de la source S, qui reçoit la plus grande quantité de lumière. De même, les signaux des six autres fibres détectrices ne présentent aucune symétrie alors que les positions des fibres d_1, d_2, d_3 sont respectivement symétriques à celles des fibres d_5, d_6, d_7. Ces résultats s'expliquent par la différence d'efficacité de détection et de couplage des sept voies de mesure. Ces différences devront être corrigées avant d'exploiter les profils temporels pour la reconstruction des images.

De plus, l'origine des temps définie par t = 0 à $t_{d\lambda i}$ pour la longueur d'onde λ_i est arbitraire. Cela se traduira en particulier par des temps moyens calculés entâchés d'une erreur, et par conséquent sans relation avec les distances moyennes parcourues par les photons. Il sera donc nécessaire de définir de manière rigoureuse l'origine des temps des TPSF.

Ainsi, une étape de prétraitement, basée sur la calibration de l'instrument, des TPSF mesurées doit être réalisée afin de calculer des TPSF corrigées exploitables pour la reconstruction des images de TOD ou de TODF. Cette étape doit être très précise, pour permettre aux algorithmes dédiés de ne pas attribuer des erreurs de calibration à des variations des propriétés optiques de l'objet imagé.

6.2.1 Prétraitement des TPSF

Les TPSF mesurées sont affectées par deux types de perturbations, les parasites et les bruits aléatoires. Par la suite les deux termes seront regroupés sous la terminologie de bruit, et distingués sous les noms de bruit convolué (bruit de comptage) et de bruit additif (autres). La figure 6.4 présente une TPSF mesurée par la fibre détectrice d_4 en contact de la surface de l'objet homogène après son illumination par la source S. Représentée en coordonnées linéaires, cette TPSF parait de très bonne qualité. L'utilisation d'une échelle verticale logarithmique permet de mieux observer les signaux de faible amplitude. On observe ainsi le bruit d'obscurité la présence d'un pic parasite 4 ns environ après le maximum de la TPSF.

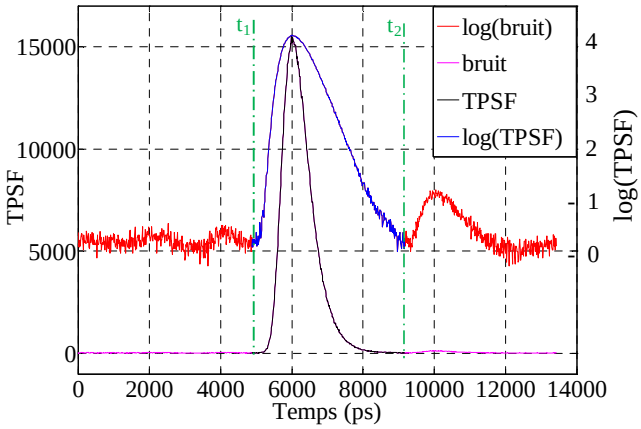


Figure 6.4 : TPSF mesurée par la fibre d_4, en contact de l'objet homogène. Echelles linéaire et logarithmique. L'échelle linéaire correspond au nombre de photons détectés par canal.

6.2.1.1 Elimination des bruits additifs

Le bruit d'obscurité, généré par une voie du MCP-PMT en absence de lumière incidente, est un bruit de mesure stochastique gaussien aussi appelé bruit de fond. Ce bruit peut être observé avant le front montant de la TPSF, sur l'intervalle de temps compris entre l'instant 0 et t_1=4880 ps sur la figure 6.4. Nous caractérisons ce bruit par sa moyenne et son écart type, soit 30,8 ± 6,5 photons pour la TPSF présentée en figure 6.4. Ce bruit est un bruit additif qui vient s'ajouter à la totalité du signal. Il peut être éliminé en soustrayant sa moyenne à tous les points de la TPSF.

L'instant t_1 correspond au temps d'arrivée des premiers photons, quasi-balistiques ou serpentiles. L'instant t_2 est le temps d'arrivée des derniers photons multi-diffusés. Ces temps peuvent être définis comme les temps pour lesquels les valeurs des TPSF sont inférieures à la valeur moyenne du bruit de fond. En dehors de l'intervalle [t_1, t_2], les valeurs de la TPSF sont théoriquement inférieures à la valeur moyenne du bruit d'obscurité. Cependant certains parasites présentés précédemment peuvent s'ajouter à ces TPSF. Les moments d'ordre élevé des TPSF sont dramatiquement affectés par ces parasites. Leur élimination améliorera la précision de calcul de ces moments. Une approche par fenêtrage temporelle peut être utilisée.

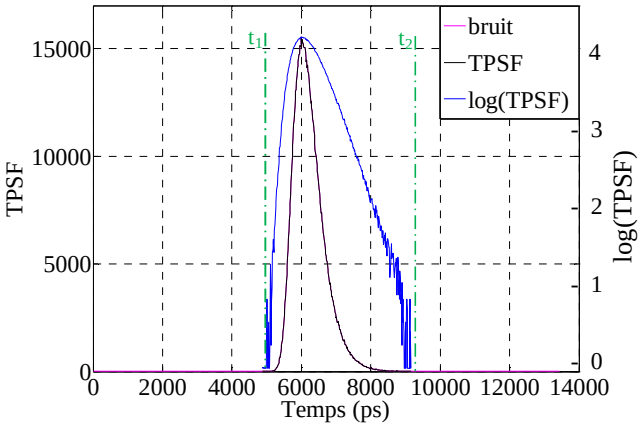


Figure 6.5 : TPSF mesurée par la fibre d_4, en contact de l'objet homogène, après traitement. Echelles linéaire et logarithmique. Les TPSF sont normées, l'échelle linéaire correspond à un nombre de photons.

Après soustraction de la valeur moyenne du bruit de fond, seul le signal dans la fenêtre [t_1, t_2] est pris en compte (en noir sur la figure 6.4). Les valeurs en dehors de cette fenêtre (violet) sont simplement remplacées par 0. La TPSF présentée avant traitement sur la figure 6.4, est présentée après soustraction du bruit d'obscurité et fenêtrage temporel sur la figure 6.5.

6.2.1.2 Détermination de l'origine des temps

Les $TPSF_{mes}$ mesurées sont les produits de convolution des TPSF théoriques $TPSF_{th}$ qui seraient mesurées sur un instrument « idéal » à temps de réponse nul, par la réponse impulsionnelle de l'instrument de mesure RI. Celle-ci est mesurée, selon la méthode décrite au paragraphe 6.1.2, sur un tube rempli d'encre de Chine.

Nous avons montré dans le chapitre 5 comment simuler les TPSF issues d'un objet connaissant sa forme, ses propriétés optiques et les emplacements des sources et des détecteurs. Nous appellerons $TPSF_{sim}$ ces TPSF simulées.

Considérons la TPSF mesurée avec un couple source – détecteur donné, sur le cylindre caractérisé par les paramètres Ø = 40 mm, μ_a = 0,0095 mm^{-1}, μ_s' = 0,6 mm^{-1} et n = 1,54. Considérons la réponse impulsionnelle de l'appareil mesurée dans les mêmes conditions sur le cylindre d'encre de Chine. Ces deux signaux sont traités selon la méthode décrite ci-dessus. On nomme les signaux traités $TPSF_{mes}$ (Figure 6.6, noir) et RI (Figure 6.6, bleu). Nous pouvons alors comparer les signaux mesurés et simulés. Deux méthodes sont possibles. La première consiste à déconvoluer $TPSF_{mes}$ de la RI, et comparer le résultat à $TPSF_{sim}$ (vert). La seconde consiste à comparer la $TPSF_{mes}$ au produit de convolution de $TPSF_{sim}$ par RI. Nous appellerons $TPSF_{conv}$ (magenta) ce produit et utiliserons cette méthode, plus facile à mettre en œuvre et plus précise, car elle évite le problème de la déconvolution de signaux entachés d'un bruit non gaussien [5]. Ces signaux sont représentés sur la figure 6.6.

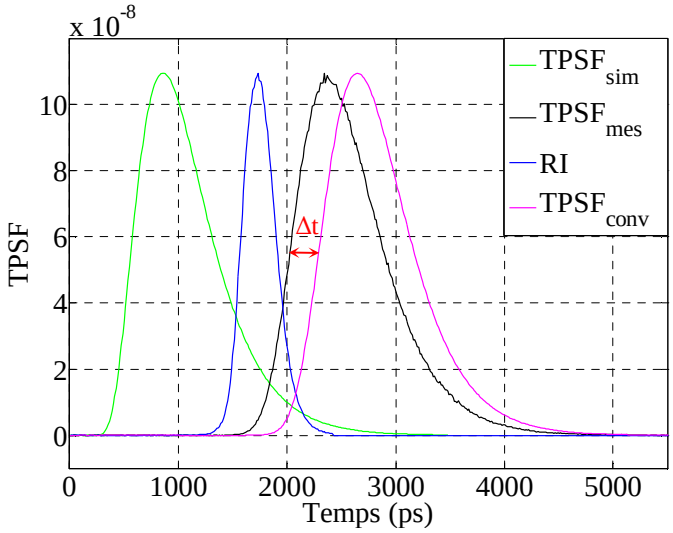


Figure 6.6 : Comparaison de la $TPSF_{mes}$ et de la $TPSF_{conv}$, produit de convolution de la $TPSF_{sim}$ par la RI. Toutes les amplitudes sont normalisées au maximum de la $TPSF_{sim}$.

Comme attendu, la $TPSF_{conv}$ (magenta) a la même forme que la $TPSF_{mes}$ (noir). Mais nous observons un décalage temporel Δt entre les deux fronts de montée des TPSF. Ce décalage temporel Δt est issu de l'erreur de détermination de l'origine des temps lors de la décomposition des données d'une voie de détection selon les différentes longueurs d'onde des diodes laser utilisées.

La détermination de l'origine des temps peut être faite à partir des mesures sur le tube rempli d'encre de Chine. Il est très difficile de choisir le point du profil mesuré servant à fixer cette origine. Afin d'éliminer cette difficulté, nous avons choisi de corriger l'origine des temps de la RI du décalage temporel Δt.

La figure 6.7 présente une comparaison de la $TPSF_{mes}$ et de $TPSF_{conv\text{-}corr}$ (rouge) obtenue par convolution de $TPSF_{sim}$ avec la réponse impulsionnelle décalée de Δt RI_{corr} (cyan). La superposition des 2 profils temporels apparait clairement sur la figure.

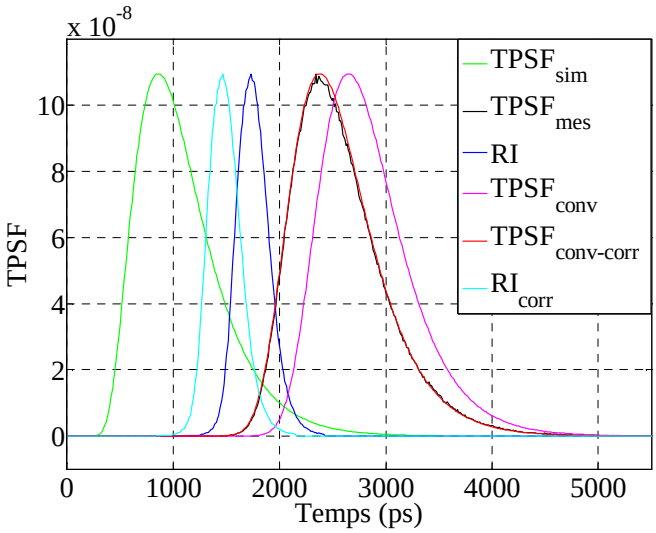


Figure 6.7 : Comparaison de la $TPSF_{mes}$ et de la $TPSF_{conv\text{-}corr}$, produit de convolution de la $TPSF_{sim}$ par la RI_{corr}. Toutes les amplitudes sont normalisées au maximum de la $TPSF_{sim}$.

Afin de quantifier la ressemblance entre les $TPSF_{mes}$ et $TPSF_{conv\text{-}corr}$ obtenues pour la totalité des couples source - détecteur, nous avons utilisé l'expression d'erreur donnée par la formule :

$$err(s,d) = \frac{100}{T}\sum_{1}^{T}\frac{TPSF_{mes}(t) - TPSF_{conv-corr}(t)}{TPSF_{conv-corr}(t)}$$
$$err_{moy} = \frac{1}{nb_s * nb_d}\sum_{s}\sum_{d} err(s,d) \qquad (6.1)$$

err(s,d) est l'erreur calculée sur un couple source (s), détecteur (d) donné. Les écarts sont additionnés sur les temps de la TPSF de la fenêtre temporelle définie dans le paragraphe précédent.

err_{moy} est l'erreur moyenne calculée pour tous les couples sources - détecteurs. Le nombre de sources est égal à 16 (nb_s = 16). Le nombre de détecteurs est égal à 7, pour chaque position de la source (nb_d=7).

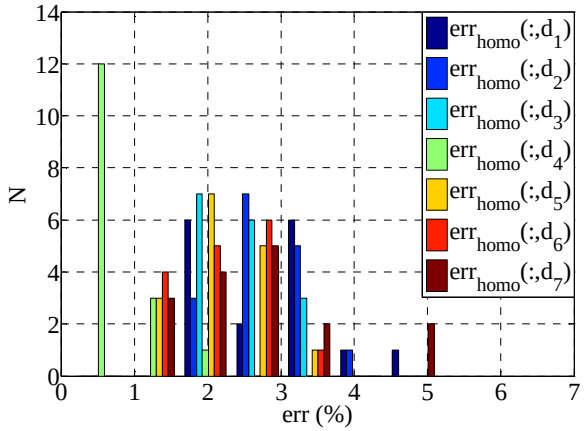


Figure 6.8 : Histogramme des erreurs calculées entre les TPSF mesurées et les TPSF simulées convoluées avec la réponse impulsionnelle, après correction de l'origine des temps.

Considérons l'ensemble des $TPSF_{mes}$ mesurées sur le cylindre homogène, et l'ensemble des RI_{corr} mesurées sur le cylindre d'encre de Chine, après la correction Δt de l'origine des temps. Les valeurs des erreurs $err_{homo}(s,d)$ calculées sur tous les couples source - détecteur s'étalent de 0,19 % à 5,15 % avec une valeur moyenne égale à 2,28 ± 0,22%.

La figure 6.8 montre la distribution des erreurs err(s,d), regroupées par détecteur sous forme d'histogramme avec les erreurs regroupées en sept intervalles entre leur valeur minimale et maximale. Le détecteur d_4 est celui qui présente les plus faibles erreurs. Celle-ci est inférieure à 1 % pour 12 positions de la source. Au contraire le détecteur d_7 présente la plus grande erreur moyenne, et le maximum d'erreur de 5,15 %.

6.2.1.3 Calibration des intensités

Comme présenté en figure 6.3, les mesures $TPSF_{mes}$ nécessitent une étape de calibration permettant de corriger les différences en efficacité de détection des voies de mesures. Cette étape de calibration est réalisée à l'aide de l'objet cylindrique homogène (Ø = 40 mm, μ_a = 0,005 mm^{-1}, μ_s' = 0,6mm^{-1}, n = 1,54).

Pour chaque couple source - détecteur, une $TPSF_{mes\text{-}homo}$ est mesurée, dans la configuration des fibres en contact de la surface de cet objet. La $TPSF_{sim\text{-}homo}$ correspondante est obtenue par simulation. Le facteur de calibration est défini comme le rapport de l'intensité $E_{sim\text{-}homo}$ de la TPSF simulée à l'intensité $E_{mes\text{-}homo}$ de la TPSF mesurée, après traitement. L'intensité d'une TPSF est égale à son intégrale. Les facteurs de calibration ainsi calculés pour chaque couple source – détecteur sont utilisés pour calibrer les TPSF mesurées sur un objet quelconque, $TPSF_{mes}$, selon la relation :

$$TPSF_{cal}(s,d,t) = TPSF_{mes}(s,d,t)\frac{E_{sim-\text{homo}}(s,d)}{E_{mes-\text{homo}}(s,d)} \qquad (6.2)$$

La figure 6.9 (gauche) présente les $TPSF_{sim\text{-}homo}$ correspondant à l'objet homogène, simulées dans la configuration en contact. Seuls 4 profils apparaissent pour des raisons de symétrie. La figure 6.9 (droite) présente les $TPSF_{cal\text{-}homo}$ obtenues après recalage temporel et calibration des $TPSF_{mes\text{-}homo}$ présentées avant tout traitement sur la figure 6.3. Le recalage temporel utilisé a consisté à avancer les TPSF calibrées du temps moyen de la RI correspondant au même couple source – détecteur.

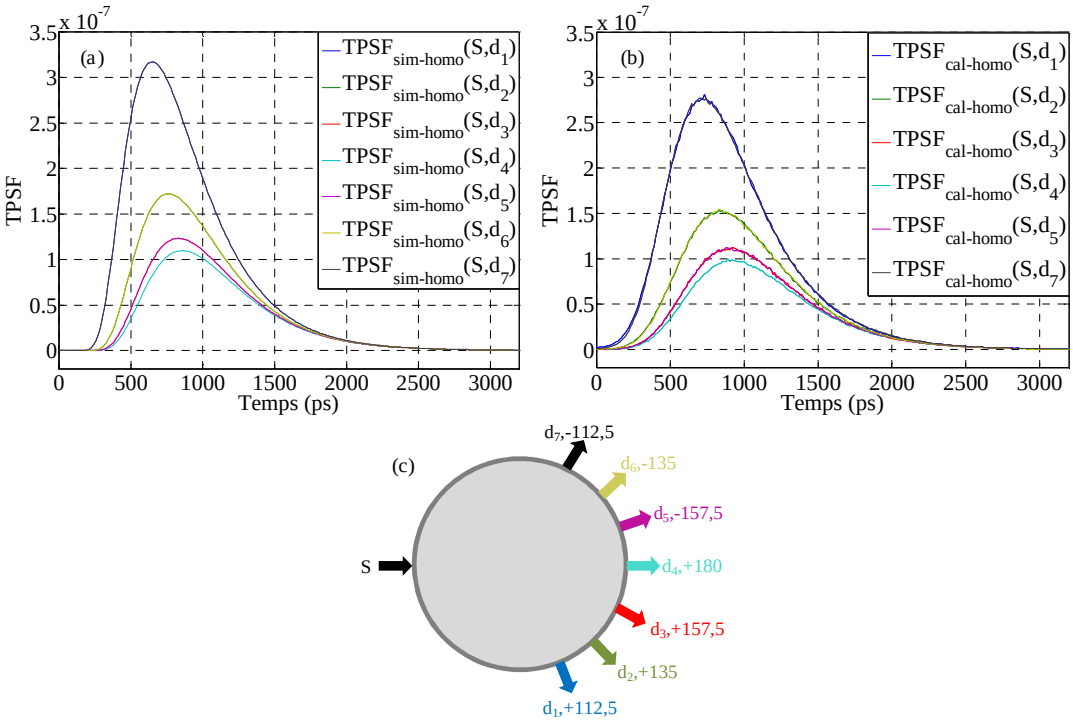


Figure 6.9 : TPSF simulées ($TPSF_{sim\text{-}homo}$, a) et TPSF expérimentales calibrées et recalées ($TPSF_{cal\text{-}homo}$, b). La source et les 7 détecteurs en contact avec l'objet homogène (c).

Après cette étape de calibration, nous observons que les $TPSF_{cal\text{-}homo}$ mesurées par des détecteurs symétriques par rapport à l'axe source – détecteur d_4 sont quasiment égales. Il est important de noter que pour chaque couple source - détecteur, l'amplitude de la TPSF expérimentale calibrée ($TPSF_{cal\text{-}homo}$) est inférieure à celle de la TPSF simulée ($TPSF_{sim\text{-}homo}$) correspondante. Ce phénomène est dû,

comme les temps de montée plus longs observés, à la réponse impulsionnelle finie du système de mesure, qui provoque un élargissement des profils mesurés.

6.2.2 Mesures sur objets homogènes et hétérogènes

6.2.2.1 Acquisitions avec contact

Dans cette partie nous comparons les TPSF mesurées avec notre système à la surface de deux objets différents, un homogène et un hétérogène. Les configurations expérimentales sont maintenues constantes durant l'ensemble des mesures, réalisées successivement. Les différences entre les mesures obtenues sur l'objet homogène $TPSF_{homo}$ et celles obtenues sur l'objet hétérogène $TPSF_{hetero}$ sont attribuées à la présence des inclusions C_1 et C_2 de l'objet hétérogène présenté sur la figure 6.10, gauche).

L'objet hétérogène utilisé dans cette étude correspond à l'objet cylindrique à deux inclusions présenté en section 3.3.3.2.

L'inclusion C_1 a le même coefficient d'absorption que le fond μ_{aC1}=0,005 mm^{-1} et un coefficient de diffusion réduite égal ou double de celui du fond μ_{sC1}'= 1,2 mm^{-1}. L'inclusion C_2 a le même coefficient de diffusion réduite que le fond μ_{sC2}'= 0,6 mm^{-1} et un coefficient d'absorption égal à cinq fois celui du fond μ_{aC2}=0,025 mm^{-1}. Cet objet est utilisé afin d'analyser les différences entre les TPSF dues à la présence d'une hétérogénéité en absorption et/ou en diffusion.

La figure 6.10 (droite) présente une comparaison des TPSF obtenues sur les 2 objets, homogène et hétérogne, après calibration et recalage temporel. Les $TPSF_{cal\text{-}homo}(S,d)$ et $TPSF_{cal\text{-}hetero}(S,d)$ représentées correspondent aux détecteurs d_2, d_4 et d_6, situés à 135°, 180° et - 135° de la source. Elle L'objet hétérogène était positionné de telle manière que les inclusions C_1 et C_2 soient en des positions symétriques par rapport à l'axe S – d_4 (figure 6.10, gauche). Les méthodes de calibration et de recalage temporel sont celles décrites dans les paragraphes précédents.

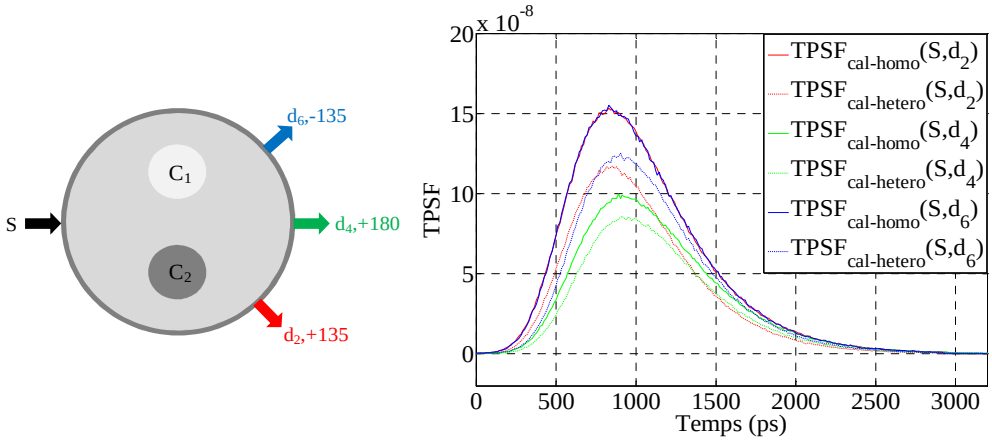


Figure 6.10 : TPSF expérimentales, calibrées et recalées dans le temps, acquises sur les objets homogène et hétérogène (droite). Source et détecteurs, d_2, d_4 et d_6 (gauche).

Comme observé sur les résultats de simulation et sur les données expérimentales de la figure 6.9, les TPSF calibrées, acquises sur l'objet homogène ($TPSF_{cal\text{-}homo}$) par des détecteurs (d_2 et d_6) en positions symétriques, sont superposées. Les profils correspondant, acquis sur l'objet hétérogène, ($TPSF_{cal\text{-}hetero}$) sont différents (figure 6.10).

Ces différences entre TPSF calibrées acquises par des détecteurs en positions symétriques, sont attribuées aux inclusions C_1 et C_2. Les photons détectés par le détecteur d_2 se sont propagés à l'intérieur de l'objet avec une probabilité élevée de traverser l'inclusion absorbante C_2 alors que ceux détectés par le détecteur d_6 se sont propagés en passant par l'inclusion plus diffusante C_1. En traversant une inclusion plus absorbante, les photons sont absorbés d'avantage et la probabilité de détecter des photons ayant suivi des chemins optiques longs diminuent. Au contraire, en passant par une inclusion plus diffusante les chemins optiques des photons s'allongent, et ils sont également plus absorbés. Dans

les deux cas, l'intensité globale de la TPSF diminue. Les temps de vol moyens des photons diminuent dans le cas de l'inclusion plus absorbante, ils augmentent dans le cas de l'inclusion plus diffusante. La figure 6.10 met en évidence cette différence de temps moyen entre les TPSF acquises par les détecteurs d_2 et d_6. Ces remarques ont déjà été faites lors de la discussion des TPSF simulées, dans le paragraphe 5.1.1.3.

Les inclusions sont aussi à l'origine des différences entre TPSF acquises avec un détecteur donné, entre l'objet hétérogène et l'objet homogène. Ces dernières sont moins importantes pour le détecteur d_4, comparées à celles observées sur les détecteurs d_2 et d_6. Ce fait est dû à la plus faible probabilité que les photons détectés par le détecteur d_4 aient traversé les inclusions C_1 et C_2.

La TPSF acquise par le détecteur d_2 sur le cylindre hétérogène est essentiellement influencée par la présence de l'inclusion plus absorbante C_2. Elle présente une amplitude et une largeur inférieures à celles la TPSF acquise par d_2 sur l'objet homogène. Concernant le détecteur d_6, la TPSF acquise sur l'objet avec inclusions est majoritairement influencée par la présence de l'inclusion plus diffusante C_1. Elle présente une amplitude plus faible et une largeur à mi hauteur plus grande, comparativement aux caractéristiques de TPSF acquise par d_6 sur l'objet homogène.

Les différences en intensité peuvent être caractérisées par comparaison de leurs intensités intégrées totales, respectivement notées $E_{cal\text{-}hetero}$ et $E_{cal\text{-}homo}$. Les caractéristiques temporelles peuvent être quantifiées par les temps moyens, $TM_{cal\text{-}hetero}$ et $TM_{cal\text{-}homo}$ et par des caractéristiques de dispersion comme l'écart type ou la variance des profils.

La figure 6.11 permet de comparer les intensités et les temps moyens des TPSF mesurées par les trois détecteurs d_2, d_4 et d_6 sur les deux objets, hétérogène et homogène, éclairés par la source S, selon la configuration de la figure 6.10.

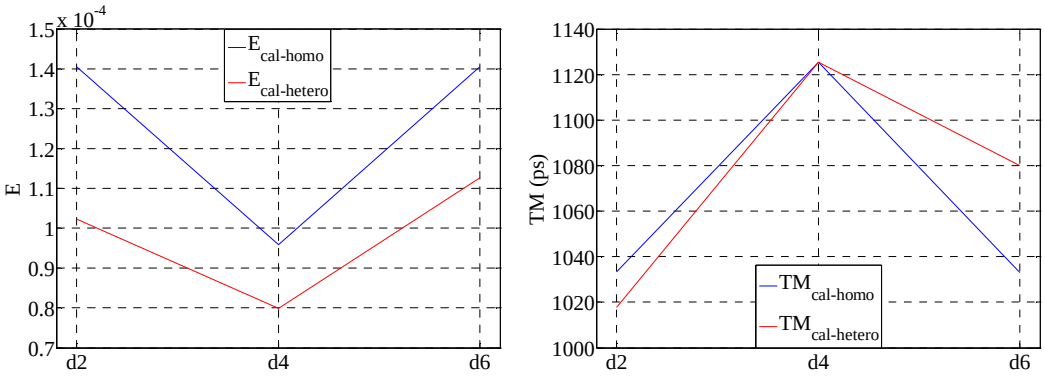


Figure 6.11 : Intensités globales et temps moyens des TPSF mesurées sur les objets homogène et hétérogène, par les détecteurs d_2, d_4 et d_6, dans la configuration en contact.

Une comparaison similaire à celle présentée dans la section 5.1.1.3 sur les données simulées a été menée. Le tableau 6.2 présente les intensités et les temps moyens mesurés sur l'objet homogène ainsi que les écarts de ces paramètres induits par les inclusions de l'objet hétérogène. Les écarts ont été calculés en utilisant l'équation (5.1).

	d_6	d_4	d_2
$E_{cal\text{-}homo}$ (ua)	$1{,}40.10^{-4}$	$0{,}95.10^{-4}$	$1{,}40.10^{-4}$
ec_E (%)	-19,85	-16,67	-27,21
$TM_{cal\text{-}homo}$ (ps)	1033,3	1125,4	1033,3
ec_{TM} (ps)	47	0,1	-15,5

Tableau 6.2 : Intensités et temps moyens mesurés sur l'objet homogène ainsi que les écarts de ces paramètres induits par les inclusions de l'objet hétérogène. Détecteurs d_2, d_4 et d_6.

Les résultats obtenus montrent que les données mesurées par notre système sur la surface des objets sont sensibles aux variations internes des coefficients d'absorptions et de diffusion. Ils démontrent également qu'en utilisant la méthode de calibration proposée, notre système fournit des mesures précises et en bon accord avec les prévisions obtenues par simulation présentées dans le paragraphe 5.3.1.3.

6.2.2.2 Configuration sans contact

Avant de comparer des résultats expérimentaux obtenus dans la configuration sans contact, nous devons valider cette approche par comparaison des résultats expérimentaux et simulés. Ces derniers ont effet nécessité une étape de modélisation complémentaire de la méthode des éléments finis, pour tenir compte de la propagation de la lumière entre les fibres optiques et la surface de l'animal ou de l'objet examiné.

6.2.2.2.1 Validation de la méthode

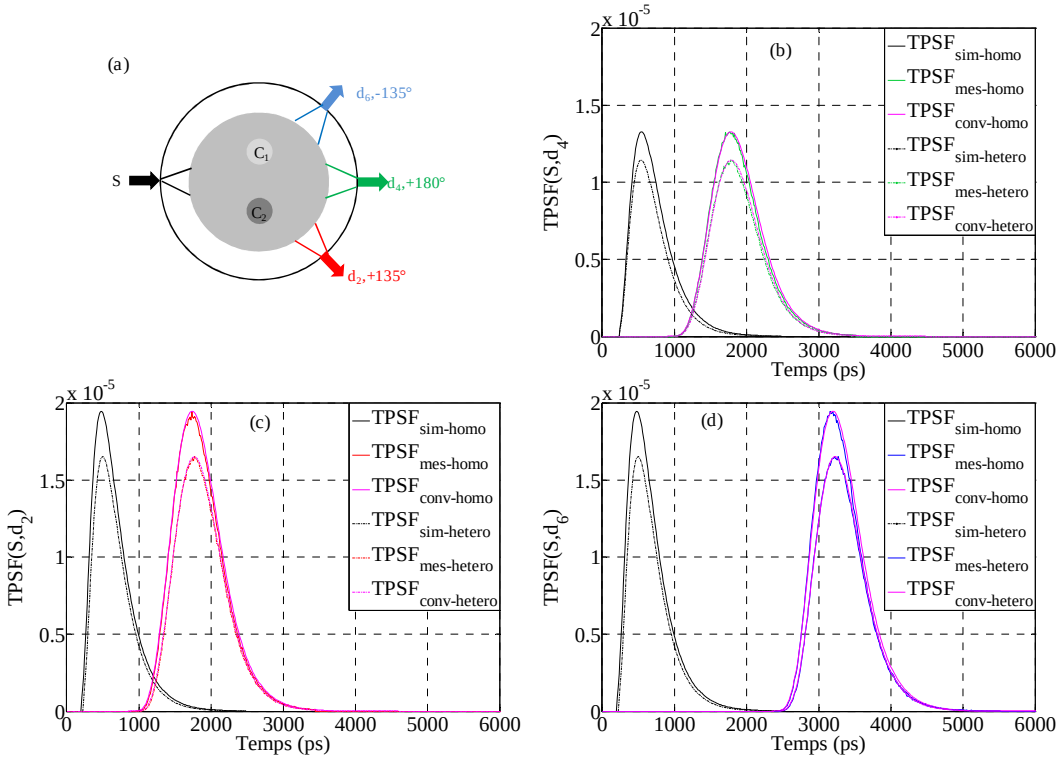


Figure 6.12 : Position de la source et des détecteur d_2, d_4 et d_6 autour de l'objet hétérogène (a). Comparaison des profils mesurés $TPSF_{mes}$ et simulés avant, $TPSF_{sim}$, et après, $TPSF_{conv}$, convolution par la RI du système. Détecteurs d_4 (b), d_2 (c) et d_6 (d).

Effectuer des mesures sans être en contact de la surface de l'animal imagé, présente plusieurs avantages, discutés dans le paragraphe 2.2 « Modélisation sans contact ». Cette partie est consacrée à la validation de la méthode de modélisation sans contact exposée en section 2.2.

Cette validation est basée sur une comparaison des TPSF mesurées et des TPSF simulées. Cette comparaison a été menée sur deux objets. L'objet homogène a les propriétés suivantes : Ø = 28mm, μ_a = 0,005 mm^{-1}, μ_s' = 0,6 mm^{-1}, n = 1,54). L'objet hétérogène a le même diamètre et le même fond que le précédent, mais il contient deux inclusions L'inclusion C_1 est 2 fois plus diffusante et l'inclusion C_2 est 5 fois plus absorbante que le fond. Cet objet a été décrit dans le paragraphe 3.3.3.2.

La figure 6.12 (a) présente la position des fibres source S et détecteurs d_2, d_4 et d_6. Sont également représentés les profils simulés $TPSF_{sim}$, les profils mesurés $TPSF_{mes}$ et les profils obtenus par convolution des $TPSF_{sim}$ par la réponse impulsionnelle RI du système, pour le couple source détecteur correspondant, appelés $TPSF_{conv}$. Ces 3 profils sont représentés pour les objets homogène (indice $_{homo}$)

et hétérogène (indice hetero), pour les détecteurs d_4 (figure 6.12 b), d_2 (figure 6.12 c) et d_6 (figure 6.12 d).

Les profils simulés $TPSF_{sim}$ apparaissent à des temps courts et sont abaissés par la présence des inclusions, pour les 3 détecteurs. Les profils mesurés $TPSF_{mes}$ ont été calibrés mais pas recalés dans le temps. La présence des inclusions est également clairement observée. Les profils convolués $TPSF_{conv}$ sont en bon accord avec les profils mesurés. Les courbes $TPSF_{mes}$ et $TPSF_{conv}$ ne peuvent être distinguées sur les 3 figures 6.12 b, c, d.

Pour comparer les profils mesurés et convolués, nous avons utilisé la méthode présentée dans le paragraphe 6.2.1. La figure 6.13 présente un histogramme des erreurs (err_{homo}) calculées par l'équation 6.1, entre les profils mesurés et simulés – convolués sur l'objet homogène. Les erreurs sont regroupées en sept intervalles entre leur valeur minimale et maximale. Les erreurs similaires (err_{hetero}) ont été obtenues sur l'objet avec inclusions. Ces erreurs ont été calculées pour les 112 couples source-détecteur utilisés.

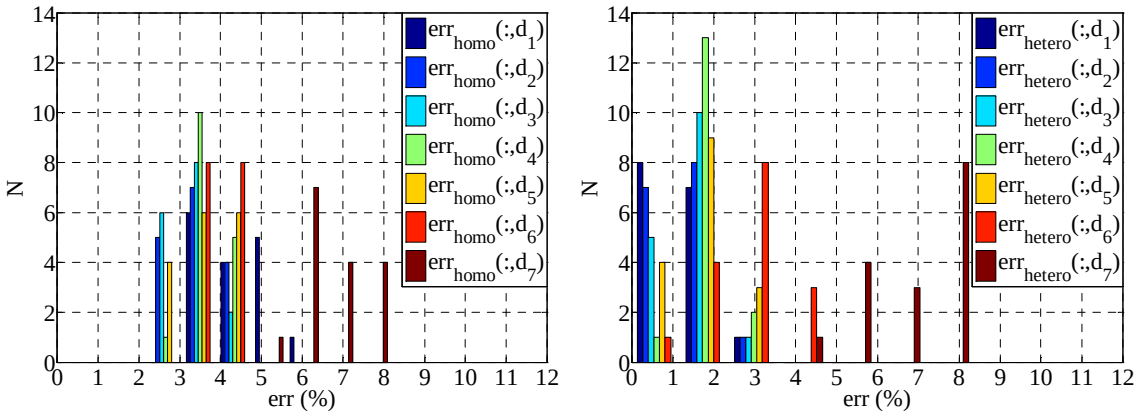


Figure 6.13 : Histogramme des erreurs calculées entre les TPSF mesurées et les TPSF simulées convoluées avec la réponse impulsionnelle. Objets homogène (gauche) et hétérogène (droite).

Les erreurs calculées sur la totalité des couples source-détecteur, dans le cas de l'objet homogène, s'étalent de 2,22 % à 8,17 % avec une valeur moyenne égale à 4,17 ± 0,14 %.

Concernant l'objet hétérogène, les résultats sont meilleurs que les précédents. Les valeurs des erreurs sont dans l'intervalle [0,007 % , 8,35 %] avec une valeur moyenne égale à 2,43 ± 0,24%.

La figure 6.13 montre que le capteur d_7 est celui qui présente les plus grandes erreurs dans les deux cas. Cela peut s'expliquer par une erreur dans les calculs de convolution de la septième voie de mesure. En effet, le septième détecteur a l'efficacité de détection la plus élevée et les profils, TPSF et RI, ont donc un bruit de comptage plus élevé. L'erreur maximale pour ce détecteur est égale à 8,35%. Il conviendra sans doute de considérer ce point « sensible » lors de la reconstruction des images TOD à partir de données sans contact. En règle générale, les faibles valeurs des erreurs mesurées nous permettent de valider la méthode de modélisation sans-contact proposée au paragraphe 2.2, les acquisitions sans contact et la méthode de calibration des données décrite en section 6.2.1.

6.2.2.2.2 Données homogènes et hétérogènes

Une comparaison similaire à celle présentée auparavant sur les données acquises en configuration avec contact des fibres sur l'objet peut maintenant être menée sur les données mesurées en mode sans contact. Elle est basée sur la comparaison de trois profils temporels, deux d'entre eux étant acquis par des fibres, d_2 et d_6 ayant des positions symétriques par rapport à l'axe de symétrie source – d_4 (Figure 6.12).

Les TPSF utilisées pour la comparaison ont été préalablement calibrées et recalées dans le temps. Les méthodes de calibration et de recalage temporel sont celles utilisées dans les paragraphes précédents.

La figure 6.14 permet de comparer les intensités et les temps moyens calculés à partir des TPSF mesurées par les trois détecteurs d_2, d_4 et d_6. Les notations sont identiques à celles utilisées pour la comparaison des profils acquis en contact.

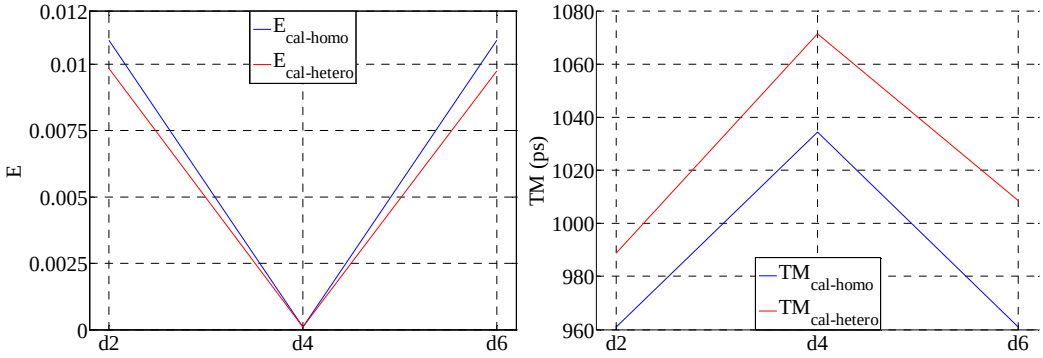


Figure 6.14 : Intensités globales et temps moyens des TPSF mesurées sur les objets homogène et hétérogène, par les détecteurs d_2, d_4 et d_6, dans la configuration sans contact.

Le tableau 6.3 présente le bilan de cette comparaison. Y figurent les intensités et temps moyens mesurés sur l'objet homogène ainsi que les écarts induits sur ces paramètres par les inclusions de l'objet hétérogène. Les détecteurs d_2, d_4 et d_6 ont été utilisés. Les écarts en intensité globale ec_E et en temps moyen ec_{TM} ont été calculés en utilisant l'équation (5.1).

	d_6	d_4	d_2
$E_{cal\text{-}homo}$	$1{,}09.10^{-2}$	$0{,}95.10^{-4}$	$1{,}09.10^{-2}$
ec_E (%)	-10,67	-6,58	-9,71
$TM_{cal\text{-}homo}$ (ps)	960,9	1034,4	960,9
ec_{TM} (ps)	47,63	36,93	27,84

Tableau 6.3 : Intensités et temps moyens mesurés sur l'objet homogène, écarts sur ces paramètres induits par les inclusions de l'objet hétérogène. Détecteurs d_2, d_4 et d_6, sans contact.

Les résultats du tableau 6.3 montrent que, comme pour les données obtenues en contact, la présence des deux inclusions implique une baisse de l'intensité totale. Nous observons que la baisse de l'intensité sur d_6 est plus importante que celle sur d_2 contrairement aux résultats obtenus sur les données en contact.

Concernant le temps moyen, la comparaison sur les données en contact avait montré que l'inclusion diffusante C_1 augmente de paramètre, alors que l'inclusion C_2 le diminue. Les écarts reportés dans le tableau 6.3 montrent que les 3 temps moyens mesurés sur l'objet hétérogène sont supérieurs aux valeurs mesurées sur l'objet homogène, y compris du côté de l'inclusion plus absorbante.

Les résultats expérimentaux obtenus en configuration sans contact sur l'objet hétérogène ne sont pas conformes aux simulations présentées dans le tableau 5.3. Cette divergence peut s'expliquer par une erreur de centrage de l'objet dans le tomographe, ou par une erreur de recalage temporel.

6.3 Reconstruction d'images

Dans cette partie nous présentons les premières images d'absorption et de diffusion réduite reconstruites à partir de données mesurées par notre tomographe et avec les méthodes de reconstruction 3D développées. Ces données ont été acquises dans la configuration avec contact, sur deux objets hétérogènes de diamètre égal à 40 mm.

Le premier correspond à l'objet à une seule inclusion. Le deuxième correspond à l'objet à deux inclusions, dont la fabrication a été détaillée en section 3.3.3. Le fond de ces objets a les propriétés optiques suivantes à 785 nm : μ_a = 0,005 mm^{-1}, μ_s' = 0,6 mm^{-1} et n = 1,54. L'inclusion du premier objet présente uniquement une hétérogénéité en absorption, avec un coefficient 5 fois supérieur à celui du fond. L'inclusion C_1 du deuxième objet a le même coefficient d'absorption que le fond et un coefficient de diffusion deux fois plus élevé. Son inclusion C_2 présente une hétérogénéité en absorption seulement, avec un coefficient 5 fois supérieur à celui du fond. Toutes les parties des deux objets ont le même indice de réfraction, égal à 1,54.

Nous avons démontré dans le cinquième chapitre la supériorité de la méthode (méthode_3) utilisant des points sélectionnés sur la TPSF, par comparaison à la méthode plus conventionnelle utilisant les moments. Cependant, l'utilisation de méthode_3 nécessite le passage par les opérations de déconvolution décrites à la section 2.1.2.1, lors de l'utilisation de données expérimentales. Nous ne sommes pas encore en mesure d'effectuer ces opérations de déconvolution, rendues délicates par la nature non gaussienne du bruit de comptage [5]. Nous ne présenterons ci après que les images obtenues en utilisant les moments. Cette méthode facilite grandement la mise en œuvre de ces opérations de déconvolution.

6.3.1 Les données expérimentales

Un des avantages de l'utilisation des moments de la TPSF est le fait que la déconvolution des profils (TPSF) mesurés des réponses impulsionnelles (RI) se résume à une simple division ou à une soustraction de leurs moments [6]. Les équations (6.3) expriment ce résultat :

$$\begin{cases} E_{deconv} = \dfrac{E_{mes}}{E_{RI}} \\ TM_{deconv} = TM_{mes} - TM_{RI} \end{cases} \tag{6.3}$$

La calibration absolue de l'intensité totale E est une tache difficile en raison de la complexité du montage expérimental. Une solution à ce problème est l'utilisation d'un objet homogène ayant la même géométrie et les propriétés optiques que le fond de l'objet imagé. Il est alors possible de calculer des données relatives, calculées selon les équations :

$$\begin{cases} E_{rel} = \dfrac{E_{\text{homo}}}{E_{hétéro}} \\ TM_{rel} = TM_{hétéro} - TM_{\text{homo}} \end{cases} \tag{6.4}$$

6.3.2 Objet à une inclusion

Pour la résolution du problème direct, nous avons utilisé le maillage_2 et le pas de temps optimal déterminé en section 5.1.2. L'inversion du problème a été effectuée sur le maillage_3 contenant moins d'éléments que maillage_2. La figure 6.15 présente les images reconstruites en utilisant la méthode des moments, avec les intensités et temps moyens relatifs après 25 itérations.

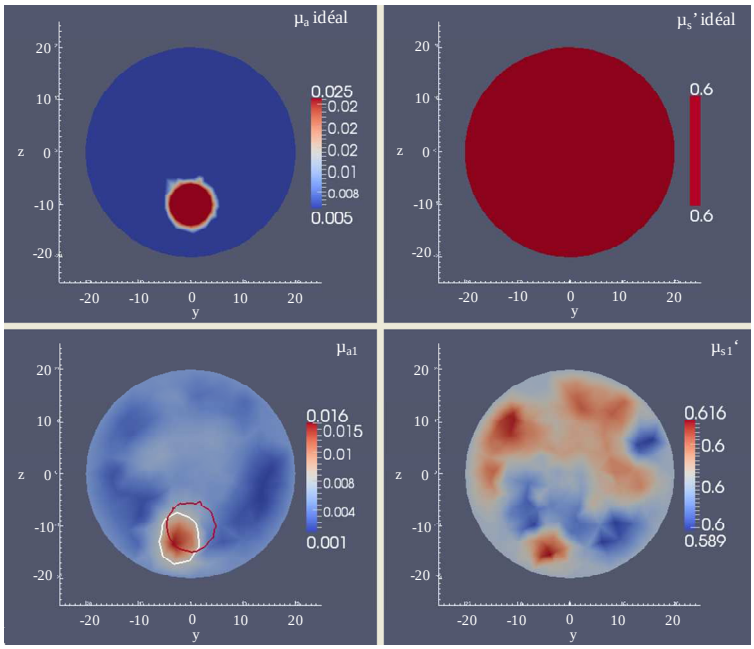


Figure 6.15: Images d'absorption (gauche) et de diffusion réduite (droite) de l'objet à une inclusion. Objet simulé (haut) et objet reconstruit selon la méthode_1 (bas), coupe à x = 0 mm.

L'image de diffusion réduite μ_s' présente quelques variations autour de la valeur recherchée égale à 0,6 mm^{-1}. Cependant, ces fluctuations restent de faible amplitude. La distribution des coefficients μ_s' mesurés sur la coupe présentée a une valeur moyenne égale à 0,602 ± 0,019 mm^{-1}.

L'inclusion absorbante est clairement détectée sur l'image d'absorption. Sa forme (ligne blanche) est déterminée par segmentation de l'image avec un seuil égal à la moitié de sa valeur maximale. Cette forme peut être comparée à la forme « idéale » (ligne rouge). Nous remarquons que la position de l'inclusion reconstruite présente un léger décalage par rapport à l'inclusion réelle. Une distance de 3,14 mm sépare leurs centres de gravité. L'intersection des deux régions représente 50% de la région réelle et 59% de la région reconstruite.

	μ_a		μ_s'
	Erreur sur la cible (%)	Erreur sur le fond (%)	Erreur sur le fond (%)
Objet avec inclusion absorbante	36,8	-19,1	-2,65

Tableau 6.4 : Erreurs de reconstruction sur les images d'absorption μ_a et de diffusion réduite μ_s'. Coupe à x = 0 mm de l'objet à une inclusion absorbante.

Pour mener l'analyse quantitative des images reconstruites, nous avons repris la méthode décrite pour les images reconstruites à partir de données simulées dans le paragraphe 5.2.1, en utilisant l'équation (5.4). Les erreurs de reconstruction sont listées dans le tableau 6.4.

L'erreur calculée sur la cible est grandement liée au décalage entre les deux inclusions, réelle et reconstruite. La valeur d'erreur négative calculée sur le fond de l'image d'absorption est engendrée par le fait qu'approximativement 60% des valeurs reconstruites du fond sont inférieures à la valeur idéale du fond égale à 0,005 mm^{-1}. L'erreur inférieure à 3 % obtenue sur l'image de μ_s' montre que la méthode_1 est relativement stable pour l'étude d'objets ne présentant pas d'hétérogénéité en diffusion. Dans le cas de reconstruction de ce type d'objets, nous avons démontré au chapitre 5 que son utilisation est favorisée par rapport à méthode_2 et méthode_3 grâce sa rapidité de calcul.

La figure 6.16 présente les profils, le long de l'axe z, des coefficients d'absorption et de diffusion réduite.

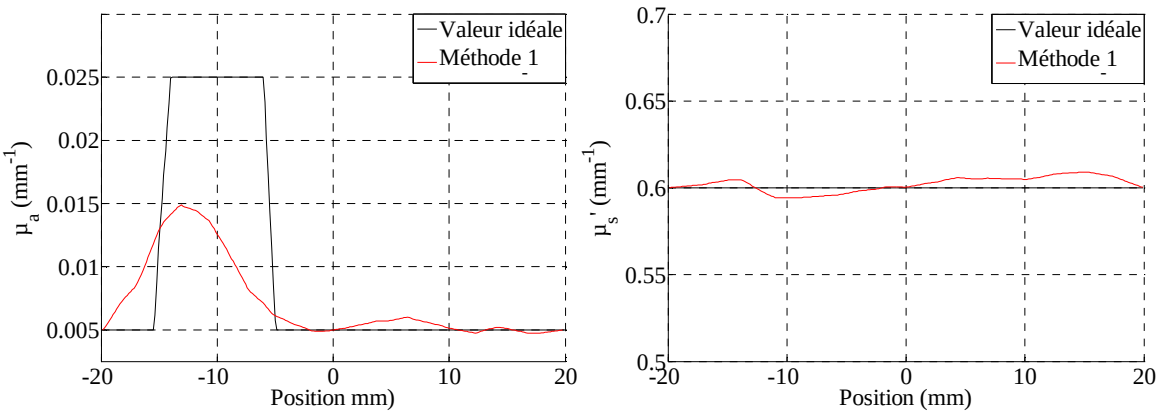


Figure 6.16 : Profils des valeurs « idéales » et reconstruites des coefficients μ_a (gauche) et μ_s' (droite) le long de l'axe z de l'objet à une inclusion.

Le profil de μ_s' montre que l'image de diffusion reconstruite ne présente pas de grandes erreurs de reconstruction. Les profils d'absorption mettent en évidence le décalage entre la position de l'inclusion réelle et reconstruite. Il est de 2,27 mm le long de l'axe z. La valeur maximale du profil reconstruit représente 50% de la valeur maximale recherchée. Les valeurs de μ_a reconstruites en dehors de l'inclusion ne présentent pas de grandes erreurs de reconstruction le long de l'axe z, contrairement à d'autres régions présentant des minima d'absorption prononcés visibles sur la figure 6.15. L'erreur maximale sur l'axe ne représente que 20% de la valeur idéale du fond.

6.3.3 Objet à deux inclusions

Les maillages utilisés pour la reconstruction de cet objet sont identiques à ceux utilisés pour la reconstruction de l'objet précédent. Les images ont été reconstruites en utilisant la méthode des moments, avec les intensités et temps moyens relatifs et un maximum de 25 itérations. La meilleure reconstruction a été obtenue après 5 itérations seulement.

La figure 6.17 présente les images obtenues. Les images μ_a et μ_s' ont été segmentées en utilisant un seuil égal à la moitié de leurs valeurs maximales. L'inclusion réelle est délimitée par une ligne rouge et la reconstruite par la ligne blanche.

L'image de diffusion réduite μ_s' montre que l'inclusion diffusante C_1 est relativement bien localisée. L'intersection entre les deux régions représente 57,5% de la région réelle et 75% de la région reconstruite. Un décalage de 2,44 mm est observé entre les centres de gravité des régions réelle et reconstruite.

Nous observons sur l'image d'absorption μ_a la présence d'une région plus absorbante positionnée sur l'inclusion plus diffusante C_1 de l'objet fabriqué, traduisant la diaphonie importante déjà observée avec cette méthode de reconstruction sur les données simulées. L'inclusion plus absorbante C_2 est reconstruite, avec un décalage de 3,38 mm séparant son centre de gravité de celui de l'inclusion réelle. La taille de l'inclusion reconstruite est 1,35 fois plus grande que celle de l'inclusion réelle. L'intersection entre les deux régions représente 61% de la région C_2 réelle.

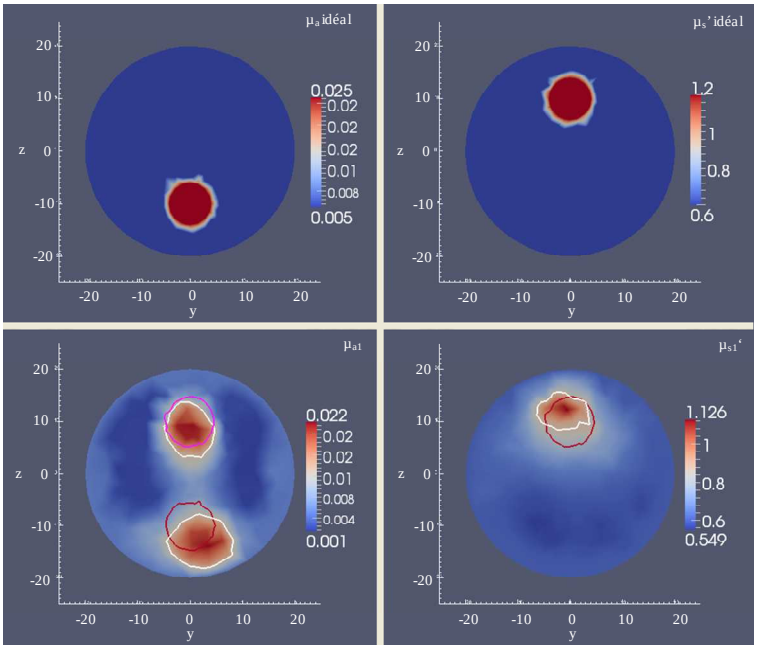


Figure 6.17 : Images d'absorption (gauche) et de diffusion réduite (droite) de l'objet à deux inclusions. Objet simulé (haut) et objet reconstruit selon méthode_1 (bas), coupe à x = 0 mm.

La diaphonie et les erreurs de reconstruction sur les cibles et le fond sont calculées en utilisant l'équation (6.4). Les résultats sont présentés dans le tableau 6.5.

	μ_a			μ_s'	
	Erreur sur la cible (%)	Diaphonie (%)	Erreur sur le fond (%)	Erreur sur la cible (%)	Erreur sur le fond (%)
Objet à 2 inclusions	36,8	-237	-5,8	21,3	-4,5

Tableau 6.5 : Erreurs de reconstruction sur les images d'absorption μ_a et de diffusion réduite μ_s'. Coupe à x = 0 mm de l'objet à deux inclusions.

La plus grande erreur est calculée dans l'image μ_{a1}, sur la zone de diaphonie. L'importance de l'amplitude de cette région est mieux visible sur les profils présentés en figure 6.5.4.

L'erreur obtenue sur la cible de l'image μ_s' est plus faible que celle obtenue sur l'image μ_a. Ceci est dû au fait que le décalage des inclusions diffusantes est plus faible que celui des inclusions absorbantes. L'image de μ_s' ne présente pas de diaphonie.

L'erreur d'environ 6% seulement calculée sur le fond de l'image μ_a ne représente pas réellement la qualité de l'image d'absorption reconstruite. Les valeurs de μ_a reconstruites sont très dispersées et l'erreur calculée par la formule (5.4) est ainsi moyennée. Les valeurs de μ_a reconstruites ont une valeur de 0,0054 ± 0,0038 sur l'ensemble du fond. Au contraire, l'image de diffusion présente un fond plus homogène. Les valeurs de μ_s' reconstruites ont une valeur de 0,63 ± 0,065 sur l'ensemble du fond de la coupe x = 0.

Les erreurs calculées sur les régions cibles pourraient être réduites en recalant les inclusions réelles et reconstruites.

La figure 6.18 présente les profils des coefficients d'absorption et de diffusion réduite, le long de l'axe z des images présentées en figure 6.17.

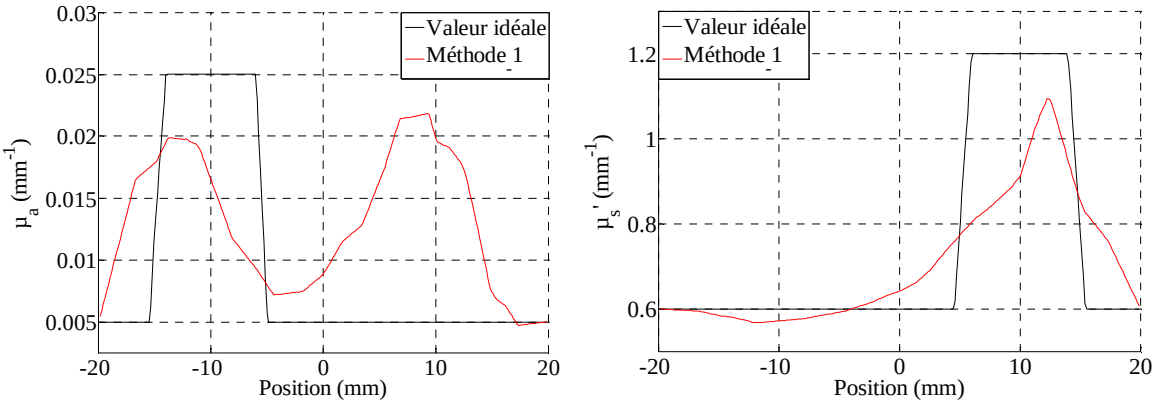


Figure 6.18 : Profils des valeurs « idéales » et reconstruites des coefficients μ_a (gauche) et μ_s' (droite) le long de l'axe z de l'objet à deux inclusions.

Nous observons sur le profil de l'image μ_s' que l'amplitude du pic reconstruit représente 93,6% de la valeur réelle. Malgré cela, l'erreur calculée sur la cible est supérieure à 20%. Cette erreur est due au fait que le pic est très étroit et que l'inclusion reconstruite est plus petite que l'inclusion diffusante réelle.

Le profil d'absorption présente un pic de diaphonie au niveau de l'inclusion diffusante. L'amplitude de ce pic de diaphonie est même 1,13 fois plus élevée que celle du pic d'absorption réel. L'amplitude du maximum de μ_a dans l'inclusion absorbante représente 84,5% de la valeur « idéale » de ce coefficient dans l'inclusion C_2.

Les résultats de reconstruction obtenus sur l'objet contenant une hétérogénéité en absorption et une autre hétérogénéité en diffusion montrent que la méthode des moments n'est pas appropriée pour la reconstruction d'images de tomographie optique de tels objets.

Les études sur des objets simulés ont montré que la méthode utilisant des points sélectionnés de la TPSF en fonction de leur sensibilité à l'un ou à l'autre des coefficients, absorption et diffusion, doit être privilégiée.

La suite des travaux expérimentaux devra porter sur la mise en pratique « réelle » de la méthode proposée, sur des objets absorbants et diffusants, dans la configuration sans contact, mais également pour l'imagerie de fluorescence. Cette ultime étape devrait permettre aux chercheurs de l'unité de disposer d'une instrumentation et de méthodes de reconstruction performantes et de réaliser les premières acquisitions précliniques en TOD et en TODF

6.4 Références

[1] Montcel B., **"***Tomographie optique diffuse résolue en temps : Applications fonctionnelles en* neurosciences", Université de Louis Pasteur, (2005).

[2] Hamamatsu, *"Test report MCP-PMT R4110U"*, (2001).

[3] Becker W., *"The bh TCSPC Handbook"*, Becker & Hickl, (2008).

[4] Hebden J. C., Arridge S. R., Schweiger M., *"Investigation of alternative data types for time resolved optical tomography"*, OSA Technical Digest, Biomedical Topical Meetings (OSA, Washington DC), **21**, 162-167, (1998).

[5] Bodi G., Berube-Lauziere Y., *"A new deconvolution technique for time-domain signals in diffuse optical tomography without a priori information"*, Proc. SPIE, **7369**, 14, (2009).

[6] Hillman E. M. C., *"Experimental and theoretical investigations of near infrared tomographic imaging methods and clinical applications"*, Université de Londres, (2002).

Conclusion

Les recherches menées au cours de ce doctorat et présentées dans ce manuscrit s'inscrivent dans la continuité des travaux antérieurs réalisés par plusieurs doctorants et stagiaires depuis une dizaine d'années. Elles ont été menées au sein du groupe d'optique médicale des différents laboratoires qui se sont succédés à l'Institut de Physique Biologique de la Faculté de Médecine de Strasbourg durant cette période. Ces travaux ont permis au groupe d'optique d'assembler un tomographe optique pour l'imagerie préclinique et de développer des logiciels de reconstruction d'images de tomographie optique en deux dimensions.

Le sujet de recherche proposé devait constituer l'étape ultime permettent la finalisation du prototype de tomographie optique. L'objectif était de réaliser des images de tomographie optique diffuse ou de fluorescence, TOD ou TODF, en trois dimensions, de petits animaux anesthésiés. Les acquisitions devaient être réalisées sans contact avec la surface de l'animal en position allongée.

Les travaux de ces quatre années de doctorat nous ont permis de surmonter un certain nombre d'obstacles rencontrés durant les travaux antérieurs et de s'approcher de l'objectif initial.

Le projet a été développé selon deux axes principaux. Le premier, purement expérimental, était dirigé vers la simplification des procédures expérimentales de routine, pour permettre des acquisitions sur des animaux en situation physiologique. Le second axe avait pour ambition d'obtenir des images de qualité permettant d'envisager des applications précliniques du tomographe. Les travaux associés ont dû être divisés en deux parties. La première a consisté à améliorer les algorithmes de reconstruction existants, 2D, afin de reconstruire des images 3D. La seconde partie a été consacrée au développement de nouvelles méthodes de reconstruction prenant en compte la grande quantité d'information fournie par notre système résolu en temps.

L'instrumentation existante permettait uniquement d'imager des objets de géométrie cylindrique en contact avec les fibres optiques de la tête de mesure. Pour réaliser les mesures sur des animaux, un dispositif d'enregistrement de leur surface a été mis en place au sein du tomographe optique. La précision des mesures réalisées avec ce système est inférieure à 0,2 mm. Il présente cependant certaines limitations, notamment des zones d'ombre entre la face supérieure de l'animal et le lit du tomographe qui nécessitent de fermer le contour 3D de l'animal par interpolation.

Les contours obtenus sont utilisés dans la construction des modèles numériques nécessaires à la reconstruction des images des propriétés optiques. La résolution du problème « direct » permet de calculer la densité de photons dans l'animal, les flux à sa surface et dans les fibres de détection. Elle a nécessité la modélisation de la propagation de la lumière dans l'espace séparant la surface de l'animal des fibres du tomographe.

La méthode proposée permet de calculer les points d'illumination de la surface et des sources de lumière isotrope utilisées dans la résolution de l'équation de diffusion par la méthode des éléments finis. Elle fournit également les flux des photons, diffusés ou de fluorescence, collectés par les voies de détection du tomographe, générant ainsi les données simulées qui sont utilisées dans le problème inverse.

Les algorithmes de reconstruction existants permettaient uniquement l'obtention d'images TOD 2D ayant leur surface en contact des sources et détecteurs du tomographe. Le but final étant d'imager des petits animaux, la première partie du second axe de ce travail a portée sur le développement des algorithmes vers une configuration permettant la reconstruction d'images TOD 3D. Ces travaux ont donné lieu à trois communications dans des congrès internationaux [1-3] et à une publication [4].

La seconde partie du travail a permis d'améliorer de manière très importante la qualité des images reconstruites. En plus du passage d'une reconstruction 2D ne tenant pas compte de la réelle propagation des photons, à une résolution 3D, la méthode développée à permis de surmonter certaines limitations des algorithmes utilisant les premiers moments des profils temporels. Cette méthode

exploite une plus grande part de l'information véhiculée par les profils temporels acquis, tout en maintenant un temps de calcul acceptable. Elle est basée sur l'utilisation de points sélectionnés sur les profils temporels, en fonction de leur sensibilité spécifique aux propriétés d'absorption et de diffusion. Nous avons ainsi reconstruit des images 3D d'absorption et de diffusion, avec une diaphonie, entre ces deux coefficients, considérablement réduite. Les résultats obtenus devraient imposer l'utilisation de ces algorithmes dans la reconstruction des images TOD/TODF à partir de données résolues en temps. Ces travaux ont donné lieu à deux communications dans des congrès internationaux [1,2] et à une publication [4].

Les algorithmes proposés ont été étendus à la reconstruction d'images TOD s'appuyant sur des informations à priori fournies par une méthode d'imagerie anatomique. Les régions d'intérêt obtenues par segmentation de ces images sont doublement utiles en tomographie optique : dans la génération d'un maillage adapté pour la résolution du problème direct et pour la régularisation du processus d'inversion.

L'étape suivante de ces travaux de doctorat a porté sur la reconstruction des images de tomographie optique de fluorescence. N'ayant pas la possibilité d'utiliser la méthode des adjoints pour le calcul des cartes de sensibilité, nous avons choisi de simplifier le problème d'inversion par l'approche dite de lumière totale. Nous avons adapté cette approche à la sélection des points spécifiques des profils temporels.

Le travail réalisé s'est achevé par la production des premières images 3D obtenues à partir de données expérimentales acquises sur notre tomographe. N'étant pas encore en mesure d'effectuer les opérations de déconvolution des mesures, nous nous sommes limités à des reconstructions d'images par la méthode des moments.

L'ensemble des résultats obtenus est très encourageant et devrait permettre de réaliser l'imagerie TOD/TODF 3D, en configuration sans contact sur des modèles animaux de pathologie cérébrale et de cancer. Cette imagerie pourra exploiter les améliorations proposées pour la résolution des problèmes direct et inverse. Il reste cependant quelques travaux à réaliser.

Une première évolution suggérée consistera à intégrer l'étape de déconvolution nécessaire pour utiliser notre méthode, basée sur une sélection de points des profils temporels. Une collaboration initiée avec une équipe canadienne permet d'entrevoir une solution rapide.

La seconde porte sur l'imagerie de fluorescence. La méthode de lumière totale est fondée sur des hypothèses éloignées de la réalité *in-vivo*. La reconstruction d'images par des méthodes plus complexes parait souhaitable. Diverses pistes ont été envisagées, en collaboration avec une équipe chinoise.

Nous espérons que l'apport de ce travail de doctorat, ajoutés aux résultats antérieurs, permettront au groupe d'optique de disposer rapidement d'un appareil de tomographie optique diffuse et de fluorescence 3D, qui ajouté à un appareil IRM préclinique, permettra de constituer une plateforme d'imagerie multimodale performante au service des projets de recherche biomédicale strasbourgeois.

---

[1] Nouizi F., Chabrier R., Torregrossa M., Poulet P., *"3D modeling for solving forward model of no-contact Fluorescence Diffuse Optical Tomography method"*, Proc. SPIE-OSA Biomedical Optics, **7369**, 0C, Munich, Germany, (2009).

[2] Nouizi F., Torregrossa M., Chabrier R., Poulet P., *"3-D Noncontact Time-Resolved Fluorescent Diffuse Optical Tomography Data Processing for Improving Image's Quality"*, BioMed. Opt., **BSuD20**, Miami Beach, USA, (2010),

[3] Nouizi F., Torregrossa M., Geneveaux O., Chabrier R., Poulet P., *"3D modeling of noncontact fiber-based approach for time-resolved diffuse optical tomography"*, Proc. SPIE, **7896**, 1Z, San Francisco, USA, (2011).

[4] Nouizi F., Torregrossa M., Chabrier R., Poulet P., *"Improvement of absorption and scattering discrimination by selection of sensitive points on temporal profile in diffuse optical tomography"*, Opt. Express, **19**, 12843-12854, (2011).