



**HAL**  
open science

# Tomographie optique diffuse résolue en temps : Applications fonctionnelles en neurosciences.

Bruno Montcel

► **To cite this version:**

Bruno Montcel. Tomographie optique diffuse résolue en temps : Applications fonctionnelles en neurosciences.. Biophysique [physics.bio-ph]. Université Louis Pasteur - Strasbourg I, 2005. Français. NNT: . tel-00125499

**HAL Id: tel-00125499**

**<https://theses.hal.science/tel-00125499>**

Submitted on 20 Jan 2007

**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.

Thèse présentée pour obtenir le grade de  
Docteur de l'Université Louis Pasteur  
Strasbourg I

Discipline :  
**Electronique, Electrotechnique, Automatique**

Spécialité :  
**Optique**

par

**Bruno Montcel**

**Tomographie optique diffuse  
résolue en temps : Applications  
fonctionnelles en neurosciences.**

Soutenue le 11 octobre 2005

**Membres du jury**

*Directeur de thèse* : M. Patrick Poulet, MCU-PH, Université Louis Pasteur, Strasbourg  
*Rapporteur interne* : M. Edouard Hirsch, PU-PH, Université Louis Pasteur, Strasbourg  
*Rapporteur externe* : Mme. Sigrid Avrillier, Professeur, Université Paris 13.  
*Rapporteur externe* : M. Claude Boccara, Professeur, ESPCI, Paris  
*Examineur* : M. Patrick Meyrueis, Professeur, Université Louis Pasteur, Strasbourg  
*Examineur* : M. Stéphane Mottin, CR CNRS, Université Jean Monnet, Saint Etienne



# Remerciements

Je tiens à remercier les membres du jury, Sigrid Avrillier, Claude Boccara, Edouard Hirsch, Patrick Meyrueis, Stéphane Mottin et Patrick Poulet d'avoir pris le temps d'évaluer attentivement mon travail.

Je remercie tout particulièrement mon directeur de thèse, Patrick Poulet, pour son soutien constant et ses conseils avisés. J'ai pris du plaisir à travailler en sa compagnie, je lui suis particulièrement reconnaissant pour son accueil chaleureux et pour avoir accompagné ma découverte du monde de la recherche, contribuant ainsi à l'éclosion d'une passion.

Un grand merci également à Renée Chabrier mon expérimentatrice préférée (et le fait qu'elle soit la seule n'en est pas la raison) qui non contente d'être la plus gentille (ce qui tout bien réfléchi est la plus précieuse des qualités) suscite l'admiration scientifique pour son coup de main dans la confection de fantômes.

Merci à Daniel Grucker de m'avoir accueilli dans son laboratoire et merci à l'ensemble de l'Institut de Physique Biologique, vous avez tous contribué à rendre ces trois années plus agréables. Merci aux "ex" du groupe de TOD, Murielle Torregrossa et Virginie Zint pour leurs contributions dans ces travaux. Un remerciement spécial au 2<sup>ème</sup> étage, Blandine Guignard, Laura Harsan, Nathalie Parizel et les autres sans qui les pauses casse-croûte seraient plus ternes. Merci aussi à Nathalie Heider qui à toujours accepté avec sourire de peaufiner l'anglais dans mes articles même au dernier moment (c'est à dire le plus souvent). Merci également à Daniel Gounot et aux informaticiens du 1<sup>er</sup> étage avec lesquels j'ai pris plaisir à discuter de sciences et d'autres choses. Merci à Jean-Marie Sommer pour l'aide dans la résolution des problèmes d'ordre mécanique. Merci enfin à tous ceux que je n'ai pas cités mais que je n'oublie pas.

Merci bien évidemment à l'ensemble de ma famille, qui s'agrandira bientôt ...





# Table des matières

<b>Introduction</b>	1
<b>I Optique des milieux biologiques</b>	5
I.1 Propriétés optiques des tissus	6
I.1.1 L'absorption	6
I.1.2 La diffusion	9
I.2 Equation de diffusion	12
I.2.1 Equation du transfert radiatif	13
I.2.2 Approximation de diffusion	14
I.2.3 Solutions de l'équation de diffusion	16
I.2.3.1 Solutions analytiques	16
I.2.3.2 Solutions numériques	17
I.3 Méthodes optiques pour l'imagerie des milieux biologiques	18
I.3.1 Méthodes d'imagerie directe	20
I.3.1.1 Sélection à la détection	21
I.3.1.2 Sélection à l'émission	24
I.3.2 Méthodes de reconstruction d'images	25
I.4 Optique de l'activation cérébrale	27
I.4.1 Anatomie et propriétés optiques de la tête	27
I.4.2 Physiologie de l'activation cérébrale	29
I.4.3 Relation entre l'activité cérébrale et les propriétés optiques	30
I.4.3.1 Absorption : Réponse hémodynamique	30
I.4.3.2 Absorption : Processus énergétiques intra cellulaires	33
I.4.3.3 Diffusion : activité cellulaire	33
<b>II Système expérimental</b>	35
II.1 Choix du comptage de photons unique résolu en temps	36
II.2 Instrumentation	37
II.2.1 Source	38
II.2.2 Détection	39
II.2.3 Interfaces optiques	42
II.2.4 Logiciels d'acquisition	46
II.3 Performances du système	48
II.3.1 Sensibilité et efficacité de détection	48
II.3.2 Réponse impulsionnelle	51
II.3.3 Stabilité temporelle	52

Table des matières

II.3.4	Diaphonie	53
II.4	TPSF expérimentale	54
<b>III</b>	<b>Méthodes pour la reconstruction d'images</b>	<b>57</b>
III.1	Reconstruction d'images tomographiques	58
III.1.1	Simulation du problème direct	59
III.1.1.1	Initialisation du système matriciel	60
III.1.1.2	Paramètres caractéristiques des TPSF	61
III.1.2	Extraction et prétraitement des données expérimentales	64
III.1.3	Problème inverse	65
III.1.3.1	Cartes de sensibilité	65
III.1.3.2	Résolution linéaire du problème inverse	66
III.1.3.3	Résolution non linéaire du problème inverse	66
III.2	Informations fonctionnelles	67
III.2.1	TOD moléculaire	67
III.2.2	Paramètres fonctionnels en topographie résolue en temps	68
III.2.2.1	Mesures absolues des concentrations	70
III.2.2.2	Variations relatives quantitatives de concentrations	71
III.2.2.3	Loi de Beer-Lambert microscopique	72
III.3	Imagerie cérébrale	74
III.3.1	Simulation par la méthode des éléments finis	75
III.3.1.1	Modélisation de la tête et de l'activité cérébrale	75
III.3.1.2	Propagation lumineuse dans la tête	78
III.3.1.3	Cartes de sensibilités cérébrales	80
III.3.2	Méthodes pour l'imagerie cérébrale	82
III.3.2.1	Cartes de variations d'absorption résolues en temps	83
III.3.2.2	Topographie	84
<b>IV</b>	<b>Validation expérimentale des méthodes d'imagerie</b>	<b>87</b>
IV.1	Validation sur objets test calibrés	88
IV.1.1	Caractérisation des objets test	88
IV.1.1.1	Conception des objets test	88
IV.1.1.2	Caractérisation optique à partir de mesures résolues en temps	89
IV.1.2	Imagerie des propriétés optiques	92
IV.1.2.1	Conception des objets test	92
IV.1.2.2	Reconstruction d'images des propriétés optiques	92
IV.1.3	Imagerie moléculaire	95
IV.1.3.1	Conception des objets test	95
IV.1.3.2	Reconstruction d'images moléculaires	96
IV.1.4	Imagerie cérébrale	97
IV.1.4.1	Conception des objets test	97
IV.1.4.2	Variation d'absorption résolue en temps	98
IV.1.4.3	Topographie	101
IV.2	Validation <i>in vivo</i> des méthodes d'imagerie cérébrale	102
IV.2.1	Détection d'activation cérébrale	103
IV.2.2	Amélioration de la détection	105
IV.2.3	Cartes de variations d'absorption résolues en temps	108
IV.2.4	Topographie	112

---

<b>V</b>	<b>Perspectives</b>	115
	V.1 Méthodes d'investigation : Cartes de variations de concentrations résolues en temps	116
	V.2 Applications cliniques	117
	V.2.1 Stimulation magnétique trans-crânienne	117
	V.2.2 Réponse hémodynamique	117
	V.2.3 Sécurité des patients	118
	V.3 Tomographie de diffusion et de fluorescence du petit animal	120
	<b>Conclusion</b>	123
	<b>Annexe</b>	125
	<b>Bibliographie</b>	127



# Introduction

Le cerveau change de couleur lorsqu'il est actif. Bien que fortement vulgarisée, cette constatation résume parfaitement les motivations ayant guidé ces travaux, et permet à tous, de comprendre les objectifs et surtout les problèmes à surmonter. Ainsi mesurer les variations de couleur d'une zone du cerveau permet de suivre son activité. Dans ce cadre, les difficultés principales de l'imagerie optique cérébrale peuvent s'exprimer ainsi : comment mesurer les variations de couleur du cerveau à travers la peau et le crâne, alors que la couleur de ces derniers peut également varier, et alors que la lumière ne se propage pas en ligne droite dans la tête ?

Quiconque s'est déjà protégé du soleil avec la main sait que le corps humain n'absorbe pas complètement la lumière, et en particulier le rouge. Dès 1831, Bright [162] remarqua que la tête d'un patient souffrant d'hydrocéphalie semblait semi transparente quand il plaçait une source lumineuse derrière elle. Ainsi les longueurs d'onde optiques ont été les premières à être employées pour explorer les tissus biologiques. Or de nos jours les ondes électromagnétiques couramment utilisées en clinique pour l'imagerie cérébrale *in vivo*, ne sont pas celles du spectre visible. La raison de ce retard pris par l'imagerie optique est encore une fois aisément compréhensible : malgré la faible absorption des tissus biologiques il nous est impossible de voir une image nette à travers notre main. En effet la lumière ne se propage pas en ligne droite dans les tissus biologiques car elle y est fortement diffusée. Ainsi un photon se propageant dans un tissu suit une trajectoire aléatoire, qu'il n'est pas possible de mesurer simplement en le détectant en un point de la surface.

Depuis une quinzaine d'années, et parallèlement au développement des technologies lasers impulsives et des détecteurs ultrarapides, dans le proche infrarouge, l'imagerie optique des milieux biologiques est devenue un champ de recherche en pleine croissance, et de nombreuses techniques ont été développées comme en témoigne la vitalité de conférences internationales telles que *Biomedical Topical Meeting (OSA, Optical Society of America)*, *Biomedical Optics Symposia (SPIE, The International Society for Optical Engineering)* aux Etats-Unis, ou *European Congress on Biomedical Optics (OSA & SPIE)* en Europe.

Les deux approches généralement considérées reposent sur le type de tissus biologiques qui va représenter un intérêt clinique. La première de ces approches, qui concerne généralement les techniques de microscopie, essaye d'isoler le signal optique provenant d'une zone d'intérêt la plus petite possible et de reconstruire une image directe par une technique de balayage du tissu. L'isolement de ce signal d'intérêt consiste soit en une discrimination au niveau du processus de détection, soit à la réalisation d'une source focalisée, voir à la combinaison de ces deux idées. Dans la majorité des cas la forte diffusion dans les tissus limite la profondeur atteignable en dessous du millimètre. La deuxième approche consiste à récupérer l'ensemble de la lumière diffusée et à reconstruire une image par l'intermédiaire d'un processus d'inversion reposant sur la modélisation de la propagation lumineuse dans le tissu considéré. Le principal avantage de cette méthode est de s'appliquer à des tissus de très grandes épaisseurs, la limite étant celle de la détection du signal

lumineux. Cette deuxième approche est la mieux adaptée aux impératifs de l'imagerie neurofonctionnelle *in vivo*, en particulier car il est nécessaire de traverser les couches superficielles entre le cerveau et la surface de la tête.

Le suivi de l'activité cérébrale est l'une des diverses applications de l'imagerie optique qui se développe le plus actuellement, car en ce début de XXI<sup>ème</sup> siècle, la compréhension du fonctionnement du cerveau se révèle être un des sujets de recherche les plus importants. Cet objectif est complexe, et l'imagerie se révélera certainement un outil décisif. La concurrence sur le segment des techniques d'imagerie cérébrale fonctionnelle est importante, mais le potentiel de l'optique est prometteur aussi bien dans le cas non invasif, que dans le cas de l'introduction d'agents de contraste ou de traceurs fluorescents sensibles aux processus physiologiques intra vasculaires ou cellulaires. Nous avons choisi de conserver l'avantage de mesures non invasives car ces dernières offrent déjà un potentiel de mesure important. En effet le signal optique est sensible à tous les niveaux des processus cérébraux, depuis les échanges ioniques et moléculaires aux niveaux des membranes neuronales jusqu'aux variations locales de perfusion et d'oxygénation liées à la réponse hémodynamique, en passant par les processus énergétiques cellulaires.

L'objectif de cette thèse est de profiter des avantages apportés par la détection optique résolue en temps pour améliorer la détection et pour mettre en place des méthodes de localisation spatiale de l'activation cérébrale. Le manuscrit s'organise de la façon suivante :

Le premier chapitre a pour but la description des outils nécessaires à la modélisation de la propagation lumineuse dans les milieux diffusants et à exprimer les difficultés particulières liées à la propagation lumineuse dans la tête. En effet les propriétés optiques des tissus de la tête conduisent à une forte limitation de la pénétration lumineuse dans le cerveau. Ceci explique en partie que le signal optique soit fortement influencé par les couches superficielles et justifie la nécessité d'isoler la faible composante du signal optique sensible aux événements intra-cérébraux. Nous décrivons également l'influence des processus physiologiques liés à l'activité cérébrale sur le signal optique. Enfin ce chapitre permet aussi de dresser un état de l'art de l'imagerie optique des milieux biologiques, afin de situer les voies empruntées par ces travaux dans ce vaste champ d'applications.

Le deuxième chapitre est consacré à l'instrumentation mise en place. Nous expliquons le principe du comptage de photons résolu en temps dont l'instrumentation est mieux adaptée à l'environnement clinique, et qui repose sur l'utilisation d'un système séquentiel à diodes laser picoseconde à quatre longueurs d'ondes différentes, d'un photomultiplicateur à galette de micro-canaux et de cartes de comptage de photons résolus en temps. Nous décrivons les caractéristiques et les performances de notre appareil dont la grande sensibilité représente un atout majeur pour détecter le faible signal optique résiduel ayant suivi un parcours de plusieurs centimètres à travers la tête.

Le troisième chapitre décrit les méthodes de reconstruction d'images. Nous décrivons la méthode de résolution du modèle de propagation lumineuse, basée sur la méthode des éléments finis, dans des modèles de la tête obtenus à partir de segmentations d'images de résonance magnétique nucléaire. Nous exposons aussi le prétraitement des données expérimentales et la méthode de reconstruction d'images tomographiques des propriétés optiques d'objets en deux dimensions. Ensuite nous décrivons les méthodes tomographiques, et topographiques, permettant l'obtention de données fonctionnelles à partir de mesures à plusieurs longueurs d'onde. Nous présentons également les cartes de sensibilité résolues en temps qui sont évaluées grâce au modèle de propagation lumineuse. Ces cartes sont une représentation statistique du trajet suivi par les

photons en fonction de leur temps de parcours à l'intérieur de la tête. Elles montrent que la localisation temporelle des variations du signal optique contient intrinsèquement une information sur la localisation spatiale des variations des propriétés optiques correspondantes. Les résultats issus de ces cartes de sensibilité sont à la base des méthodes pour l'imagerie cérébrale que nous proposons dans la suite. Nous exposons la justification théorique du principe de la variation d'absorption résolue en temps, qui repose sur la loi de Beer-Lambert microscopique. Nous discutons également des conditions permettant l'interpolation de mesures ponctuelles à l'ensemble de la zone mesurée, et donc de la reconstruction d'images topographiques des zones superficielles et des zones profondes.

Le quatrième chapitre traite de la validation expérimentale des méthodes proposées. Nous décrivons tout d'abord la fabrication des divers objets test, ainsi que leur caractérisation optique. Puis nous présentons les images des propriétés optiques des objets, ainsi que les images moléculaires, c'est-à-dire des images de concentration de colorants obtenues à partir de mesures à plusieurs longueurs d'ondes. Nous avons validé le principe de la variation d'absorption résolue en temps pour une inclusion absorbante profonde ou superficielle, ainsi que le principe des images topographiques des zones superficielles et des zones profondes. Nous exposons ensuite les résultats de caractérisation *in vivo* pour l'activation cérébrale. Nous commençons par présenter deux méthodes permettant d'attester, premièrement de l'origine cérébrale des variations du signal optique mesurées, et deuxièmement de l'amélioration de la détection par rapport à un système continu équivalent. Ensuite nous démontrons la validité du principe de la variation d'absorption résolue en temps pour des expériences neuro-fonctionnelles, et également la pertinence des informations recueillies en terme de localisation en profondeur de la variation d'absorption mesurée à la surface. Enfin nous montrons l'intérêt des images topographiques des zones superficielles et des zones profondes, dans le cas d'expériences neuro-fonctionnelles.

Enfin le dernier chapitre permet de conclure et d'exposer les perspectives de ces travaux. Nous présentons les conditions de l'extension du principe de la variation d'absorption résolue en temps, au cas de données fonctionnelles. Nous discutons également des applications cliniques futures, de façon pratique pour la stimulation magnétique trans-crânienne, et de façon plus hypothétique pour l'étude de la réponse hémodynamique cérébrale. Nous évoquons ensuite les considérations concernant la sécurité des patients. Enfin nous discutons de l'adaptation de notre système à une application très prometteuse : la tomographie optique de diffusion et de fluorescence du petit animal.





# Chapitre I

## Optique des milieux biologiques

### Sommaire

I.1	Propriétés optiques des tissus	6
I.1.1	L'absorption	6
I.1.2	La diffusion	9
I.2	Equation de diffusion	12
I.2.1	Equation du transfert radiatif	13
I.2.2	Approximation de diffusion	14
I.2.3	Solutions de l'équation de diffusion	16
I.2.3.1	Solutions analytiques	16
I.2.3.2	Solutions numériques	17
I.3	Méthodes optiques pour l'imagerie des milieux biologiques	18
I.3.1	Méthodes d'imagerie directe	20
I.3.1.1	Sélection à la détection	21
I.3.1.2	Sélection à l'émission	24
I.3.2	Méthodes de reconstruction d'images	25
I.4	Optique de l'activation cérébrale	27
I.4.1	Anatomie et propriétés optiques de la tête	27
I.4.2	Physiologie de l'activation cérébrale	29
I.4.3	Relation entre l'activité cérébrale et les propriétés optiques	30
I.4.3.1	Absorption : Réponse hémodynamique	30
I.4.3.2	Absorption : Processus énergétiques intra cellulaires	33
I.4.3.3	Diffusion : activité cellulaire	33

La lumière a été la première partie du spectre électromagnétique à être employée en imagerie, notamment pour l'imagerie des tissus biologiques. Par exemple dès 1831, Bright [162] remarqua que la tête d'un patient souffrant d'hydrocéphalie semblait semi transparente quand il plaçait une source lumineuse derrière sa tête. Or de nos jours les ondes électromagnétiques (EM) couramment utilisées en clinique pour l'imagerie cérébrale *in vivo*, ne sont pas celles du spectre visible. Les techniques les plus répandues utilisent une large gamme spectrale allant des radiofréquences, avec l'imagerie par résonance magnétique (IRM), jusqu'aux rayons  $\gamma$  dans le cas de la tomographie par émission de positons (TEP) ou la tomoscintigraphie par émission monophotonique (TEMP), en passant par les rayons X pour la tomodensitométrie (TDM ou scanner). Le but de ce chapitre est de décrire le comportement de la lumière dans les tissus biologiques afin de comprendre les raisons du retard pris par l'imagerie optique dans le milieu clinique. Nous commençons par expliquer le formalisme généralement mis en place pour décrire la propagation lumineuse dans les tissus, et nous introduisons l'équation de diffusion ainsi que les techniques de résolution utilisées. Ensuite nous dressons un état de l'art des différentes techniques optiques actuellement développées pour l'imagerie *in vivo*. Enfin nous décrivons les propriétés optiques des tissus cérébraux ainsi que l'influence des processus physiologiques sur le signal optique.

Il est important de garder à l'esprit que tout au long du chapitre, et de l'ensemble de cette thèse, le terme "diffusion" se rapportera au phénomène de la diffusion lumineuse (scattering en anglais), sauf quand il sera explicitement affirmé le contraire, dont nous expliquons le principe au paragraphe I.1.2, et non à un phénomène de migration d'une entité sous l'influence de gradients de concentration (diffusion en anglais). Malheureusement le français possède cette faiblesse de nommer avec le même mot deux phénomènes physiques différents. Ils sont tous deux nécessaires à la modélisation de la propagation lumineuse utilisée dans ces travaux.

### I.1 Propriétés optiques des tissus

Quiconque s'est déjà protégé du soleil avec la main sait que le corps humain n'absorbe pas complètement la lumière, et en particulier le rouge. Cependant il nous est impossible de voir une image à travers notre main. En effet la lumière ne se propage pas en ligne droite dans les tissus biologiques car elle y est fortement diffusée. La raison en est la grande diversité de structures, de tailles, formes et compositions variées. La propagation de la lumière dans un milieu quelconque est rigoureusement décrite dans le cadre du formalisme de Maxwell, en écrivant les conditions de continuité des champs EM aux différentes interfaces. Cependant ce formalisme est difficilement applicable au cas de milieux fortement hétérogènes. Dans ce cas on simplifie généralement le cadre théorique en faisant abstraction de la nature ondulatoire de la lumière et en ne considérant que l'énergie lumineuse. Cette approche nécessite l'introduction de grandeurs moyennes, caractéristiques du milieu, qui reposent sur les phénomènes d'absorption et de diffusion. Nous étudierons l'influence des différents tissus biologiques sur ces paramètres.

#### I.1.1 L'absorption

D'un point de vue microscopique, l'absorption d'un photon proche infrarouge (PIR) incident sur une molécule a lieu quand son énergie correspond à celle d'une transition électronique ou vibrationnelle de cette molécule. Cette énergie peut par exemple être réémise sous forme d'un photon de fluorescence, ou alors participer à une réaction photochimique, mais le plus souvent elle

est dissipée dans les tissus sous forme de chaleur. Par la suite nous ne considérerons pas les cas où l'énergie absorbée est réémise sous forme lumineuse, ces phénomènes étant négligeables en l'absence d'injection d'agents fluorescents.

D'un point de vue macroscopique, on considère généralement qu'un milieu réel est constitué de populations de différents chromophores réparties localement de façon uniforme. Chaque chromophore est assimilé à une sphère d'une taille proportionnelle à son pouvoir d'absorption. Dans ce cas on définit la *section efficace d'absorption*  $\sigma_{ai}$  ( $m^2$ ) du chromophore  $i$  qui est relié à sa taille géométrique  $A_i$  ( $m^2$ ) par le facteur de proportionnalité appelé *l'efficacité d'absorption*  $Q_{ai}$  (sans dimension) tel que :

$$\sigma_{ai} = A_i Q_{ai} \quad (I.1)$$

comme illustré sur la figure I.1. En considérant l'ensemble des chromophores, le *coefficient d'absorption* ( $m^{-1}$ ) s'exprime en introduisant la *densité de chromophores*  $\rho_i$  ( $m^{-3}$ ) par :

$$\mu_a = \sum_i \rho_i \sigma_{ai} \quad (I.2)$$

L'inverse du coefficient d'absorption ( $1/\mu_a$ ) est le *libre parcours moyen d'absorption*, il représente le parcours moyen d'un photon avant son absorption.

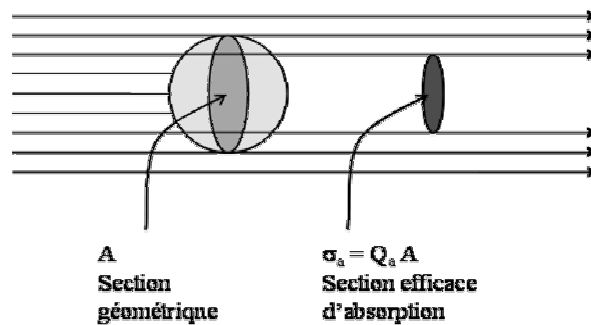


Figure I.1 : Illustration de la section efficace d'absorption. Traduit de la référence [71].

Les processus d'absorption sont liés à l'énergie du photon, par conséquent l'absorption d'un chromophore varie avec la longueur d'onde. Le spectre d'absorption d'un milieu complexe est la somme des spectres de ses différents constituants. Nous allons définir les principaux chromophores présents dans les tissus biologiques.

### L'eau

Elle peut représenter jusqu'à 80% [142] du poids d'un cerveau humain. L'absorption présentée par la figure I.2 [71] reste limitée pour les longueurs d'onde allant de l'ultraviolet (UV) au PIR.

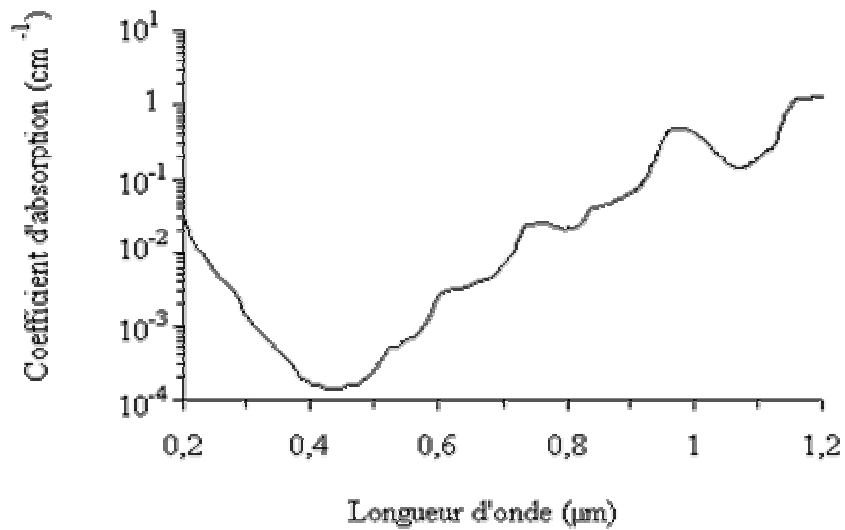


Figure I.2 : Spectre d'absorption de l'eau.

### L'hémoglobine

Elle est responsable du transport de l'oxygène par les hématies dans le sang, où elle est présente sous deux formes majoritaires, l'oxy-hémoglobine et la déoxy-hémoglobine. La concentration d'hémoglobine dans les hématies est d'environ  $350 \text{ g.L}^{-1}$ . En considérant un taux hématocrite moyen de 0,45 on obtient une concentration d'hémoglobine dans le sang d'environ  $160 \text{ g.L}^{-1}$ . En considérant la masse molaire moyenne de l'hémoglobine (environ  $65000 \text{ g.mol}^{-1}$ ) ceci correspond à une concentration de  $5,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ . Les deux spectres d'absorption, présentés figure I.3 [71], tiennent compte de ces valeurs. Ils sont proches dans le visible mais très différents à partir du PIR.

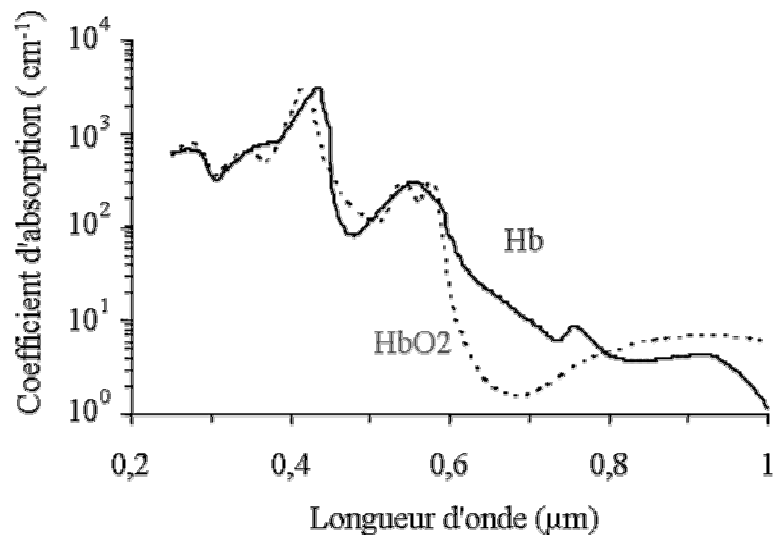


Figure I.3 : Spectres d'absorption de l'oxy-hémoglobine ( $\text{HbO}_2$ , ligne discontinue) et de la déoxy-hémoglobine (Hb, ligne continue) dans le sang.

### Le cytochrome c oxydase

C'est l'enzyme terminale dans le cycle respiratoire de la cellule. Son absorption est du même ordre de grandeur que celle de l'hémoglobine dans le PIR mais sa concentration dans les tissus lui est inférieure d'au moins un ordre de grandeur [109].

### Les lipides

Ils constituent jusqu'à 8% de la matière grise et 17% de la matière blanche chez un adulte. L'absorption, présentée par la figure I.4 [134], est du même ordre de grandeur que celle de l'eau dans la zone PIR.

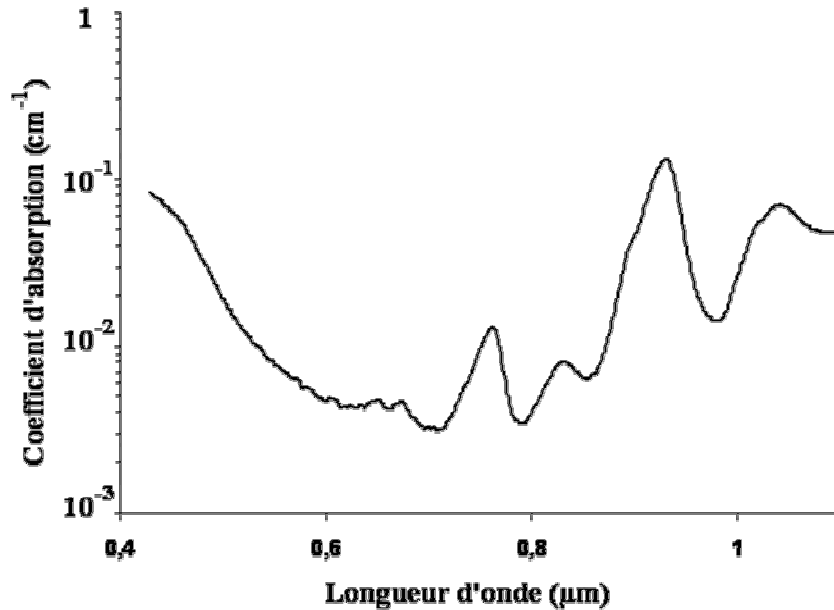


Figure I.4 : Spectres d'absorption de lipides de mammifères.

### La mélanine

Elle assure un rôle protecteur dans l'épiderme et dans les cheveux. Elle absorbe préférentiellement dans l'UV et le visible.

D'autres chromophores tel l'ADN ou les protéines jouent un rôle dans l'absorption des tissus biologiques. La bande spectrale de 0,6 à 1  $\mu\text{m}$  a été dénommée fenêtre thérapeutique par J. Parrish [2] en raison de la faible valeur de l'absorption globale des tissus. L'absorption de l'hémoglobine reste forte dans cette zone, par conséquent la fraction volumique de sang dans les tissus étudiés doit être suffisamment faible pour obtenir une absorption moyenne raisonnable.

#### I.1.2 La diffusion

Le phénomène de la diffusion lumineuse peut s'appréhender par un modèle classique de la propagation des ondes EM dans les milieux diélectriques. Dans ce cadre, on considère que le champ électrique associé à l'onde EM modifie les nuages électroniques sous l'action des forces de Coulomb et induit des moments dipolaires. Cet ensemble de dipôles crée une polarisation macroscopique du milieu et oscille à la même fréquence que l'onde EM incidente. Un dipôle qui oscille est lui-même une source de champ EM à la fréquence d'oscillation. Cette onde réémise excite les atomes voisins et progresse ainsi, de proche en proche, à l'intérieur du milieu. Ce

processus permet d'expliquer le ralentissement du front d'onde à l'intérieur du milieu. Il justifie l'introduction de l'indice de réfraction  $n$ , dont la partie réelle caractérise la variation de la vitesse de phase de l'onde électromagnétique dans le milieu par rapport à celle dans le vide. Dans le cas d'un milieu condensé, la proximité des éléments diffusants conduit à des phénomènes d'interférence entre les différentes ondes réémises. Il est possible de montrer qu'en raison de la présence d'interférences destructives, dans un milieu parfaitement homogène la lumière se propage uniquement vers l'avant. La présence d'irrégularités au sein d'un milieu réel provoque l'émission de lumière dans d'autres directions que celle de l'onde incidente, car les interférences destructives entre les champs ne sont pas totales. Ce processus d'émission de lumière dans d'autres directions est appelé *diffusion lumineuse*. Nous ne considérerons ici que la diffusion élastique, sans modification de la fréquence d'émission, qui est largement prédominante dans les conditions expérimentales que nous imposons. Les nombreuses irrégularités de densité ou de composition à l'intérieur des tissus biologiques expliquent la forte diffusion dans ces milieux. Ces irrégularités se traduisent par des variations graduelles de l'indice de réfraction. En particulier les transitions entre deux milieux d'indices très différents provoquent une forte diffusion. C'est le cas notamment lors du passage des membranes cellulaires et intracellulaires. Le tableau I.1 indique les indices de réfraction de quelques composants principaux d'une cellule de foie de rat.

Composants cellulaires	Indice de réfraction
Cytoplasme	1,38
Mitochondrie	1,40
Lipide	1,48

Tableau I.1 : Indice de réfraction de composants de cellules de foie de rat [14].

La diffusion est caractérisée par l'intensité lumineuse émise en fonction de l'angle d'observation par rapport à l'onde incidente. On définit généralement trois régimes en fonction de la taille des particules diffusantes. Pour des particules petites devant la longueur d'onde, Rayleigh a formulé la première théorie de la diffusion dès 1871. Dans ce cas la diffusion de la lumière est isotrope. En 1908, Mie [86] a généralisé la théorie de la diffusion aux particules ayant des tailles voisines de la longueur d'onde. Dans ce cas la diffusion est dirigée préférentiellement vers l'avant à mesure que la taille des particules augmente. Pour les plus grandes particules les lois de l'optique géométrique sont suffisantes pour traiter le problème. La théorie de Mie assimile toute irrégularité à une sphère homogène d'indice différent du milieu. D'autres modèles plus réalistes peuvent être utilisés en considérant, par exemple, un modèle concentrique [74] de la cellule. Toutefois, même ces approches ne tiennent pas compte des nombreuses organelles que contient le cytoplasme, et se limite aux géométries sphériques. Les modèles basés sur une modélisation numérique sont encore plus réalistes, mais également très coûteux en ressources informatiques [103, 102].

Dans un milieu complexe réel, on observe des fluctuations aléatoires de l'indice de réfraction. On considère généralement qu'il s'agit d'un milieu d'indice moyen homogène contenant une population de centres diffuseurs répartis localement de façon uniforme. Dans les tissus biologiques l'indice moyen est sensiblement égal à 1,4 [13]. Cette valeur est fortement liée à l'hydratation du tissu, elle peut osciller entre celle de l'eau (1,33) et celle d'un tissu complètement déshydraté (1,5). On introduit le coefficient de diffusion de façon analogue à l'absorption. Chaque centre diffuseur est assimilé à une sphère d'une taille proportionnelle à son pouvoir de diffusion. Dans ce cas on définit la *section efficace de diffusion*  $\sigma_s$  ( $m^2$ ), qui est reliée à la taille géométrique du centre diffuseur  $A_s$  ( $m^2$ ) par le facteur de proportionnalité appelé l'*efficacité de diffusion*  $Q_s$  (sans dimension) tel que :

$$\sigma_s = A_s Q_s \quad (\text{I.3})$$

comme illustré sur la figure I.5. Le *coefficient de diffusion* ( $\text{m}^{-1}$ ) s'exprime en introduisant la *densité de centres diffuseurs*  $\rho_s$  ( $\text{m}^{-3}$ ) par :

$$\mu_s = \rho_s \sigma_s \quad (\text{I.4})$$

Comme précédemment, dans le cas de l'absorption, l'inverse du coefficient de diffusion ( $1/\mu_s$ ) est le *libre parcours moyen de diffusion*, il représente le parcours moyen d'un photon entre deux évènements de diffusion consécutifs.

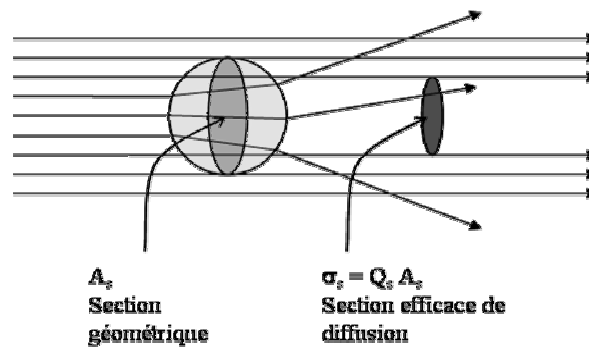


Figure I.5 : Illustration de la section efficace de diffusion. Traduit de la référence [71].

Afin de tenir compte de l'anisotropie du processus de diffusion, on introduit le *facteur d'anisotropie*  $g$  qui est une mesure de l'angle moyen de diffusion. Lorsqu'un photon incident suivant la direction  $\vec{s}'$  subit un évènement de diffusion, la probabilité qu'il reparte dans la direction  $\vec{s}$  est donnée par la *fonction de phase normalisée*  $f(\vec{s}, \vec{s}')$ . Dans les 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  $\theta$  de rediffusion ( $\cos \theta = \vec{s} \cdot \vec{s}'$ ). Le facteur d'anisotropie est défini comme le cosinus moyen de l'angle de rediffusion :

$$g = \int_{-1}^1 f(\cos \theta) \cos \theta d(\cos \theta) \quad (\text{I.5})$$

Ce facteur varie de 0 pour une diffusion isotrope, à 1 pour une diffusion uniquement vers l'avant. 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 [15].

En 1941, Henyey et Greenstein ont développé une expression de la fonction de phase pour des nuages de poussière interstellaire [58] :

$$f(\cos \theta) = \frac{1}{2} \frac{1 - g^2}{(1 + g^2 - 2g \cos \theta)^{3/2}} \quad (\text{I.6})$$

Cette fonction, qui ne nécessite que la connaissance de  $g$ , s'est révélée utile dans les milieux biologiques. La question de sa validité par rapport à d'autres méthodes analytiques [67] ou



numériques pose question au niveau cellulaire [35]. Mais sa conformité expérimentale a été confirmée à l'échelle macroscopique [70, 43].

A partir de  $\mu_s$  et  $g$  on définit le *coefficient de diffusion réduit*  $\mu'_s = \mu_s(1 - g)$  qui peut être considéré comme un coefficient de diffusion isotrope équivalent. L'inverse du coefficient de diffusion réduit ( $1/\mu'_s$ ) est le *libre parcours moyen de transport*. Il représente la distance au bout de laquelle un photon a perdu la mémoire de sa direction initiale. On peut aussi le voir comme le parcours moyen d'un photon entre deux évènements de diffusion isotrope consécutifs. La figure I.6 illustre l'équivalence entre une propagation anisotrope de libre parcours moyen de diffusion  $l$  et de facteur d'anisotropie  $g = 0,9$  et une propagation isotrope de libre parcours moyen de transport  $L = 10.l$ .

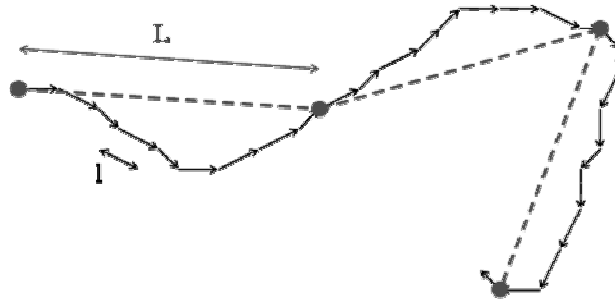


Figure I.6 : Illustration du libre parcours moyen de diffusion ( $l$ ) et du libre parcours moyen de transport ( $L$ ).

En combinant les coefficients de diffusion et d'absorption on obtient le *coefficient d'extinction total*  $\mu_t = \mu_a + \mu_s$  qui définit l'atténuation globale de la lumière balistique.

La diffusion dans les tissus mous est en grande partie due aux interfaces entre les lipides et l'eau qui présentent un important saut d'indice. Ainsi la diffusion dans ces tissus est dominée par leur proportion respective en lipide. Les tissus cérébraux en contiennent une grande proportion, jusqu'à 17% dans la matière blanche. D'autres structures participent à la diffusion. Les fibres musculaires. Les fibres de collagène dans la peau, ou encore les gaines de myéline dans la matière cérébrale.

Le processus de diffusion est lié à l'amplitude des vibrations des dipôles formés. Comme pour tout système résonant, ces amplitudes sont liées à la fréquence de vibration du système. Par conséquent la diffusion varie avec la longueur d'onde.

## I.2 Equation de diffusion

L'approche la plus fondamentale pour aborder la propagation lumineuse consiste généralement à utiliser les équations de Maxwell. Cependant, la complexité de mise en œuvre de ce genre d'approche est souvent rédhibitoire dans le cas des milieux complexes comme les tissus biologiques. La simplification couramment utilisée est de faire abstraction des phénomènes interférométriques et diffractifs, liés à la nature ondulatoire de la lumière. On ne considère que la propagation de l'énergie lumineuse. Cette approche repose sur la théorie du transfert radiatif qui est basée sur l'absorption et la diffusion que nous avons introduites précédemment. Cette théorie est largement utilisée en physique. Dans notre cas, sa principale attractivité est qu'elle se simplifie avantageusement dans le cadre de l'approximation de diffusion. Cette approximation est valide dans les tissus car la diffusion est le phénomène prépondérant aux longueurs d'ondes PIR. Nous allons

introduire l'équation du transfert radiatif (ETR), puis l'équation de diffusion. Nous décrirons ensuite les techniques mises en œuvre pour résoudre cette équation dans les différents milieux.

### I.2.1 Equation du transfert radiatif

L'équation du transfert radiatif décrit la distribution spatiale (angulaire) de la *luminance*  $L$  ( $\text{W.m}^{-2}.\text{sr}^{-1}$ ). La luminance d'une source lumineuse monochromatique est une grandeur photométrique qui décrit la densité surfacique d'énergie émise, ou reçue, par unité d'angle solide  $d^2\vec{s}$  autour d'une direction  $\vec{s}$ . Considérons un petit élément cylindrique de volume  $dV$ , autour d'un point  $M(\vec{r})$ , de section élémentaire  $dA$  et de coefficients d'extinction et de diffusion  $\mu_t$  et  $\mu_s$  (voir figure I.7).

On pose  $dL(\vec{r}, \vec{s}, t)$  la variation de la luminance suivant une direction  $\vec{s}$  à la traversée de  $dV$ . En effectuant le bilan de l'énergie dans  $dV$ , on considère que la variation d'énergie lumineuse  $dL(\vec{r}, \vec{s}, t).dA.d^2\vec{s}.dt$  suivant  $\vec{s}$  a trois origines :

- $[-\mu_t L(\vec{r}, \vec{s}, t)]dV.d^2\vec{s}.dt$ . Une partie de l'énergie lumineuse incidente suivant  $\vec{s}$  est absorbée ou diffusée hors de la direction  $\vec{s}$  par le volume  $dV$ .
- $\left[ \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} f(\vec{s}, \vec{s}') L(\vec{r}, \vec{s}', t) d^2\vec{s}' \right] dV.d^2\vec{s}.dt$ . Une partie de l'énergie lumineuse incidente sur  $dV$  suivant toutes les directions  $\vec{s}'$  est diffusée suivant  $\vec{s}$ .  $f(\vec{s}, \vec{s}')$  est la fonction de phase normalisée définie précédemment.
- $q(\vec{r}, \vec{s}, t)dV.d^2\vec{s}.dt$ . Il peut y avoir émission d'énergie dans  $dV$ . On définit  $q(\vec{r}, \vec{s}, t)$  l'énergie émise par unité de volume et d'angle solide dans la direction  $\vec{s}$ .

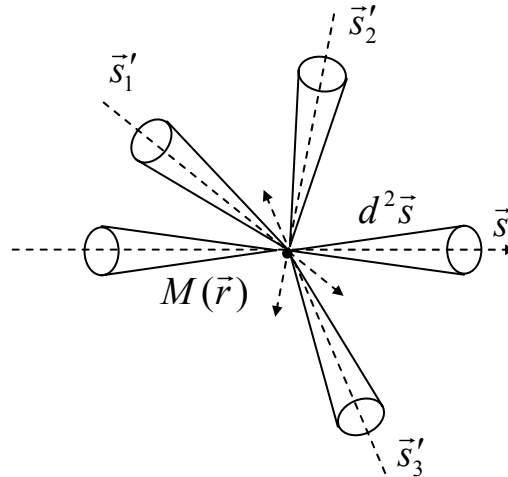


Figure I.7 : Notations utilisées pour l'ETR.

La variation de luminance dépend de sa position spatio-temporelle :

$$\frac{dL(\vec{r}, \vec{s}, t)}{d\vec{r}} = \frac{1}{c} \frac{\partial L(\vec{r}, \vec{s}, t)}{\partial t} + \frac{\partial L(\vec{r}, \vec{s}, t)}{\partial \vec{r}} \quad (\text{I.7})$$

avec  $c = c_0/n$  la célérité lumineuse dans le tissu d'indice moyen  $n$ ,  $c_0$  étant la célérité dans le vide. Ainsi l'ETR pour une lumière monochromatique s'écrit :

$$\frac{1}{c} \frac{\partial L(\vec{r}, \vec{s}, t)}{\partial t} + \vec{s} \cdot \nabla L(\vec{r}, \vec{s}, t) = -\mu_t L(\vec{r}, \vec{s}, t) + \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} f(\vec{s}, \vec{s}') L(\vec{r}, \vec{s}', t) d^2 \vec{s}' + q(\vec{r}, \vec{s}, t) \quad (\text{I.8})$$

Il existe des solutions analytiques de l'ETR dans le cas de géométries simples [6]. Pour les géométries plus complexes, des techniques de résolution numérique existent telles que les méthodes des flux [68] ou les méthodes de Monte Carlo [12]. L'approximation de diffusion permet de simplifier grandement l'ETR. Elle est valide dans les milieux fortement diffusants, comme le sont la plupart des tissus biologiques.

### I.2.2 Approximation de diffusion

Il est commode de séparer la luminance en deux composantes, la *luminance cohérente*  $L_c$  provenant directement du faisceau incident, et la *luminance diffuse*  $L_d$  ayant subi un ou plusieurs évènements de diffusion.

$L_c$  diminue à mesure que l'on s'éloigne de la source en raison de l'absorption et de la diffusion du milieu. Ainsi :

$$\frac{dL_c(\vec{r}, \vec{s}, t)}{d\vec{r}} = -\mu_t L_c(\vec{r}, \vec{s}, t) \quad (\text{I.9})$$

Dans le cas d'un milieu uniquement absorbant et en faisant abstraction de la dimension temporelle, on remarque que la solution de cette équation, suivant la direction de propagation linéaire, prend la forme de la loi de Lambert :

$$L_c(\vec{r}, \vec{s}) = L_{c0}(\vec{r}, \vec{s}) \cdot \exp(-\mu_t l) \quad (\text{I.10})$$

qui traduit l'atténuation conventionnelle d'un faisceau selon une loi exponentielle au cours de sa propagation sur une distance  $l$ , avec  $L_{c0}$  la luminance initiale.

$L_d$  est gouvernée par l'ETR complète. Le terme source  $q(\vec{r}, \vec{s}, t)$  correspond à la diminution équivalente de  $L_c$ . En effet, à mesure que le faisceau source subit la diffusion du milieu, la lumière cohérente diminue au profit de la lumière diffuse.

On introduit deux grandeurs d'intérêt, la *densité de photons diffus*  $\phi$  ( $m^{-3}$ ), et le *courant de photons diffus*  $J$  ( $m^{-2} \cdot s^{-1}$ ), liées à la luminance diffuse par les relations suivantes :

$$\phi(\vec{r}, t) = \int_{4\pi} L_d(\vec{r}, \vec{s}, t) d^2 \vec{s} \quad (\text{I.11})$$

$$\vec{J}(\vec{r}, t) = \int_{4\pi} \vec{s} L_d(\vec{r}, \vec{s}, t) d^2 \vec{s} \quad (\text{I.12})$$

La base phénoménologique de l'approximation de diffusion consiste à supposer que la densité d'évènements de diffusion est élevée, notamment par rapport à l'absorption ( $\mu_a \ll \mu_s$ ), et que la diffusion est pratiquement isotrope lorsqu'on s'éloigne des sources. Comme nous l'avons

expliqué dans le paragraphe I.1.2, on suppose aussi que la fonction de phase ne dépend que de l'angle entre  $\vec{s}$  et  $\vec{s}'$ , c'est à dire  $f(\vec{s}, \vec{s}') = f(\vec{s} \cdot \vec{s}')$ . On décompose alors la lumière diffuse en un terme isotrope prépondérant, et une faible composante selon la direction de propagation. Une traduction mathématique classique est connue sous le nom d'approximation  $P_N$  [5]. Elle consiste à décomposer les termes de l'ETR en série d'harmoniques sphériques jusqu'à l'ordre  $N$ . On considère généralement que l'approximation  $P_1$  représente le meilleur compromis entre précision et complexité mathématique. Dans ce cadre  $L_d$  et  $q$  se décomposent suivant leurs composantes isotropes et anisotropes tel que :

$$L_d(\vec{r}, \vec{s}, t) = \frac{1}{4\pi} (\phi(\vec{r}, t) + 3\vec{J}(\vec{r}, t) \cdot \vec{s}) \quad (\text{I.13})$$

$$q(\vec{r}, \vec{s}, t) = \frac{1}{4\pi} (q_0(\vec{r}, t) + 3q_1(\vec{r}, t) \cdot \vec{s}) \quad (\text{I.14})$$

L'étape suivante consiste à intégrer l'ETR sur tout l'espace (angulaire), puis à renouveler l'opération en multipliant préalablement tous les membres de l'ETR par  $\vec{s}$ . Ceci nous mène au système d'équations suivant :

$$\frac{\partial \phi(\vec{r}, t)}{\partial t} + c \nabla \cdot \vec{J}(\vec{r}, t) + c \mu_a \phi(\vec{r}, t) = q_0(\vec{r}, t) \quad (\text{I.15})$$

$$\frac{\partial \vec{J}(\vec{r}, t)}{\partial t} + \frac{c}{3} \nabla \phi(\vec{r}, t) + c(\mu_a + \mu'_s) \vec{J}(\vec{r}, t) = q_1(\vec{r}, t) \quad (\text{I.16})$$

L'équation I.16 fait apparaître le coefficient de diffusion réduit  $\mu'_s$  que nous avons défini au paragraphe I.1.2.

Afin de simplifier ce système il est nécessaire de faire deux approximations :

- $\partial \vec{J}(\vec{r}, t) / \partial t \ll c(\mu_a + \mu'_s) \vec{J}(\vec{r}, t)$ . Les variations temporelles du courant de photons sont négligées. Ceci se justifie lorsque  $\mu_a \ll \mu'_s$ .
- $q_1(\vec{r}, t) = 0$ . La source est isotrope. Ceci se justifie si elle est virtuellement placée à l'intérieur du tissu à une distance  $1/\mu'_s$  correspondant au libre parcours moyen de transport.

Ces considérations consistent à supposer que le processus vérifie la loi de la diffusion (non lumineuse) de Fick pour le courant. En introduisant la *constante de diffusion* ( $m^2 \cdot s^{-1}$ ) (non lumineuse)  $\kappa = c/3(\mu_a + \mu'_s)$  l'équation I.16 s'écrit :

$$\vec{J}(\vec{r}, t) = -\kappa \nabla \phi(\vec{r}, t) \quad (\text{I.17})$$

L'équation de diffusion (non lumineuse) se déduit en introduisant I.17 dans I.15 :

$$\frac{\partial \phi(\vec{r}, t)}{\partial t} - \nabla \kappa \nabla \phi(\vec{r}, t) + c \mu_a \phi(\vec{r}, t) = q_0(\vec{r}, t) \quad (\text{I.18})$$

La mesure accessible à la surface  $S$ , de vecteur normal  $\vec{n}$ , du milieu est l'extance qui s'exprime par :

$$\Gamma(\vec{r}, t) = -\kappa \vec{n} \cdot \nabla \phi(\vec{r}, t) \quad (\text{I.19})$$

### Conditions aux limites et aux sources

L'approximation de diffusion n'est pas valide à proximité des sources collimatées. Ainsi on a introduit ci-dessus le concept de source virtuelle isotrope. Cette source, située à l'intérieur du tissu, est représentée par une fonction de Dirac, spatialement et temporellement ponctuelle.

Les conditions aux limites précisent que seules les sources permettent d'injecter des photons dans le milieu [68]. Ainsi la luminance diffuse dirigée vers l'intérieur de la surface du milieu depuis l'extérieur est nulle. Cette condition contient une information de directionnalité. L'équation de diffusion ne peut donc pas la satisfaire. C'est pourquoi on utilise plutôt le courant de photons moyen entrant sur  $S$ . Afin de tenir compte du saut d'indice de réfraction avec le milieu extérieur, on suppose que le courant de photons moyen entrant sur  $S$  est égal à la fraction du courant moyen sortant qui est réfléchi vers l'extérieur. Pour cela on introduit un *paramètre de réflexion diffuse*  $R$  tel que :

$$\int_{\vec{s} \cdot \vec{n} < 0} \vec{s} L_d(\vec{r}, \vec{s}, t) d^2 \vec{s} = \int_{\vec{s} \cdot \vec{n} > 0} R(\vec{s}) \vec{s} L_d(\vec{r}, \vec{s}, t) d^2 \vec{s} \quad (\text{I.20})$$

Ceci nous mène aux *conditions de Robin modifiées* [52] :

$$\phi(\vec{r}, t) + 2\kappa A \vec{n} \cdot \nabla \phi(\vec{r}, t) = 0 \text{ pour tous } \vec{r} \in S \quad (\text{I.21})$$

où  $A = (1 + R)/(1 - R)$ . La détermination du paramètre de réflexion a donné lieu à différentes hypothèses [114]. Nous avons choisi de le définir suivant les notations de Egan et Hilgeman [39], c'est à dire  $R = -1,44n_{rel}^{-2} + 0,71n_{rel}^{-1} + 0,668 + 0,0636n_{rel}$  où  $n_{rel} = n_{milieu}/n_{air}$  est l'indice de réfraction relatif.

## I.2.3 Solutions de l'équation de diffusion

### I.2.3.1 Solutions analytiques

L'équation de diffusion (I.18) possède des solutions analytiques pour des géométries simples. Dans le cas d'une source ponctuelle dans un milieu homogène infini, la solution prend la forme d'une fonction de Green [101]:

$$\phi(\vec{r}, t) = (4\pi\kappa t)^{-3/2} \exp(-\mu_a ct - \frac{\vec{r}^2}{4\kappa t}) \quad (\text{I.22})$$

Cette formulation peut s'étendre au cas d'une tranche semi infinie d'épaisseur  $d$ , qui présentera un intérêt pour nous quand nous exposerons la méthode de caractérisation des objets test. Cette solution est basée sur la méthode dite "des images" [101], qui consiste à placer une infinité de couples de sources négatives et positives de façon symétrique par rapport aux limites de la tranche. Les sources sont ponctuelles, isotropes et placées à une profondeur  $z_0$  de la surface, qui correspond au libre parcours moyen de transport. Ceci permet de remplir la condition aux limites qui impose qu'aucune lumière diffuse ne provienne de l'extérieur. Dans ce cadre la solution de

l'équation de diffusion, en fonction de la profondeur  $z$  et de la distance transversale au point source  $\rho$ , s'écrit :

$$\phi(\rho, z, t) = (4\pi\kappa t)^{-3/2} \exp(-\mu_a ct - \frac{\rho^2}{4\kappa t}).$$

$$\sum_{N=-\infty}^{N=+\infty} \left[ \exp(-\frac{(z-2Nd-z_0)^2}{4\kappa t}) - \exp(-\frac{(z-2Nd+z_0)^2}{4\kappa t}) \right] \quad (I.23)$$

De cette équation découle le signal réfléchi mesurable  $R$  en se plaçant à une distance  $\rho$  de la source [101]. Dans le cas où l'on considère trois couples de sources pour satisfaire les conditions aux limites on obtient :

$$R(\rho, d, t) = (4\pi\kappa)^{-3/2} t^{-5/2} \exp(-\mu_a ct - \frac{\rho^2}{4\kappa t}).$$

$$\left[ z_0 \exp(-\frac{z_0^2}{4\kappa t}) - (2d - z_0) \exp(-\frac{(2d - z_0)^2}{4\kappa t}) + (2d + z_0) \exp(-\frac{(2d + z_0)^2}{4\kappa t}) \right] \quad (I.24)$$

Des solutions pour diverses géométries homogènes ont également été développées par S.R. Arridge et al. [6]. Bien qu'aucune solution générale n'existe pour des milieux hétérogènes, des expressions analytiques ont été dérivées pour un milieu homogène contenant des perturbations en absorption [4, 40].

### I.2.3.2 Solutions numériques

Les méthodes numériques les plus couramment utilisées pour résoudre l'équation de diffusion sont la *méthode des différences finies* et la *méthode des éléments finis (MEF)*. La première approche est basée sur la discrétisation régulière du domaine et de l'équation de diffusion. La seconde méthode s'attache à trouver une approximation de la solution sur un espace vectoriel de dimension finie. Cette dernière approche est plus adaptée à la modélisation complexe du crâne, c'est pourquoi nous l'avons choisie.

#### La méthode des éléments finis

La MEF est largement utilisée en physique pour la résolution de systèmes régis par des équations différentielles partielles. Le principal avantage de cette approche, est qu'elle peut s'appliquer à des géométries complexes et à des distributions très hétérogènes de paramètres optiques.

Le domaine  $\Omega$  est discrétisé en  $P$  éléments qui se joignent en  $N$  nœuds. On approxime  $\phi$  par  $\phi^h$ , une fonction continue et polynomiale par morceau sur un espace défini par les fonctions de base  $u_i(\vec{r})$ , avec  $u_i(\vec{r}_j) = \delta_{ij}$ , ( $i, j = 1, \dots, N$ ) où  $\vec{r}_j$  est la position du nœud  $Nj$  :

$$\phi^h(\vec{r}, t) = \sum_{i=0}^N \phi_i(t) u_i(\vec{r}) \quad (I.25)$$

La *méthode de Galerkin* [114, 9] permet de ramener le système constitué par les équations I.18 et I.21 à un problème d'inversion de matrice. Le système matriciel ainsi obtenu s'écrit :

$$\left[ B \frac{\partial}{\partial t} + K(\kappa) + C(\mu_a) + \beta(A) \right] \Phi = Q \quad (I.26)$$

avec

$$K_{ij} = \int_{\Omega} \kappa \nabla u_i(\vec{r}) \nabla u_j(\vec{r}) d\Omega$$

$$C_{ij} = \int_{\Omega} c \mu_a u_i(\vec{r}) u_j(\vec{r}) d\Omega$$

$$B_{ij} = \int_{\Omega} u_i(\vec{r}) u_j(\vec{r}) d\Omega$$

$$\beta_{ij} = \frac{1}{2A} \int_{\partial\Omega} u_i(\vec{r}) u_j(\vec{r}) d(\partial\Omega)$$

$$Q_j = \int_{\Omega} q_0(\vec{r}, t) u_j(\vec{r}) d\Omega$$

$$\Phi = [\phi_1(t), \phi_2(t), \dots, \phi_N(t)]^T \quad (I.27)$$

La méthode des différences finies est utilisée pour discrétiser l'équation I.26 par rapport au temps, afin de modéliser le comportement temporel de  $\Phi(t)$  :

$$[K(\kappa) + C(\mu_a) + \beta(A)] \Phi_n + \frac{1}{\Delta t} B [\Phi_{n+1} - \Phi_n] = Q_n \quad (I.28)$$

où  $\Phi_n$  est la solution au pas temporel  $n$ .

L'implémentation de cette méthode, la génération du maillage du domaine, ainsi que la technique d'inversion du système matriciel seront présentées au chapitre III lors de la simulation du problème direct.

### I.3 Méthodes optiques pour l'imagerie des milieux biologiques

L'œil a été le premier système d'imagerie pour le diagnostic clinique. Dès 1831 Bright [162] constatait l'intérêt de la lumière pour l'observation du cerveau d'un patient souffrant d'hydrocéphalie et Curling [163] décrivait une méthode pour détecter le cancer du scrotum en 1843. Le flou des images optiques constituait pourtant une forte limitation à leur utilisation. L'explosion des progrès de la Physique à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle et durant le XX<sup>ème</sup> siècle, loin de remédier à ce problème, occulta l'imagerie optique au profit de techniques plus satisfaisantes basées sur les rayons X, la radioactivité, les ultrasons ou encore la résonance magnétique nucléaire. Le potentiel clinique de l'imagerie optique l'a ramené sur le devant de la scène depuis la fin du siècle dernier. En effet les contrastes apportés par l'imagerie optique sont très prometteurs. En plus d'une meilleure différenciation des tissus mous par l'intermédiaire de leurs propriétés d'absorption et de diffusion intrinsèques, il est possible d'accéder à des paramètres fonctionnels grâce à leur absorption spécifique aux différentes longueurs d'onde. De plus l'utilisation d'agents de contrastes

et de traceurs fluorescents ou bioluminescents, sensibles à divers processus physiologiques, ouvre la voie de l'imagerie moléculaire à laquelle on associe généralement l'avenir de l'imagerie clinique. L'autre argument majeur de l'imagerie optique est le coût réduit de l'instrumentation et le caractère non ionisant, donc inoffensif, du rayonnement PIR. Ces atouts sont en phase avec les besoins de nos sociétés vers plus de prévention et plus de sécurité. C'est pourquoi depuis une quinzaine d'années l'imagerie optique des milieux biologiques est devenue un champ de recherche en pleine croissance et de nombreuses techniques ont été développées. Notons que ce regain d'intérêt est étroitement lié aux avancées technologiques des sources lasers et notamment à la démocratisation des lasers à impulsions ultracourtes.

Des revues de l'imagerie optique des tissus biologiques ont été réalisées notamment par J.C. Hebden *et al.* [54] et par C. Dunsby et P.M.W. French [36]. Le but de ce paragraphe n'est donc pas d'effectuer une revue complète, mais plutôt de situer la voie empruntée par ces travaux dans le vaste champ d'application de l'imagerie optique des milieux biologiques afin d'en mieux comprendre les enjeux, les forces, mais également les faiblesses.

On considère généralement deux types d'approche suivant l'épaisseur et les caractéristiques des tissus biologiques d'intérêt comme illustré par la figure I.8. La première approche essaye d'isoler le signal optique provenant d'une zone d'intérêt la plus petite possible et d'obtenir une image directe par l'intermédiaire d'un balayage du tissu. L'isolement de ce signal d'intérêt consiste soit en une discrimination au niveau du processus de détection, soit à la réalisation d'une source focalisée, voir à la combinaison de ces deux idées. Dans la majorité des cas la forte diffusion dans les tissus limite fortement la profondeur atteignable. La deuxième approche consiste à récupérer l'ensemble de la lumière détectée. L'image est reconstruite par l'intermédiaire d'un processus d'inversion reposant sur la modélisation de la propagation lumineuse dans le tissu considéré. Le principal avantage de cette méthode est de s'appliquer à des tissus de très grandes épaisseurs, la limite étant celle de la détection du signal lumineux.

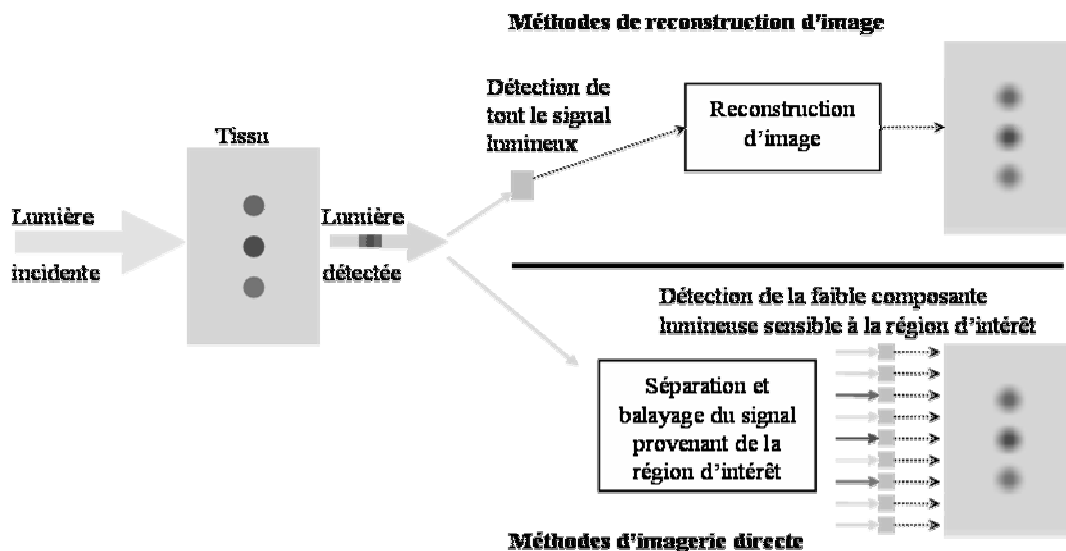


Figure I.8 : Les deux approches de l'imagerie optique des milieux biologiques : L'imagerie directe et la reconstruction d'images.



### I.3.1 Méthodes d'imagerie directe

On distingue généralement les photons balistiques qui se propagent en ligne droite sans subir d'événements de diffusion, des photons multidiffusés qui suivent un trajet aléatoire. Le signal balistique présente l'énorme avantage de pouvoir fournir une image "directe" du tissu exploré. Malheureusement le nombre de photons balistiques diminue en  $e^{-\mu_t l}$ , où  $l$  est l'épaisseur du tissu et  $\mu_t$  son coefficient d'extinction totale. Ainsi à la traversée de 1 mm de tissu de coefficient de diffusion typique de  $100 \text{ cm}^{-1}$  (l'absorption est négligeable), la transmission de la lumière balistique n'est déjà plus que de l'ordre de  $5 \cdot 10^{-5}$ . C'est pourquoi toutes les méthodes dont le but est d'isoler ces photons balistiques sont fortement limitées en terme de profondeur de pénétration. Il est donc nécessaire de considérer également les photons dit serpentiles, c'est à dire peu diffusés, qui se sont légèrement éloignés de la ligne droite. Il n'existe pas de limite objective pour délimiter la frontière entre photons serpentiles et multidiffusés. Repousser cette frontière permet d'augmenter la proportion du signal optique d'intérêt et donc la profondeur de pénétration. Par contre la résolution spatiale décroît en conséquence. La profondeur de pénétration dépend évidemment des propriétés optiques du tissu considéré. Ainsi le critère de pénétration ne peut pas être exprimé en terme de profondeur absolue. Le *libre parcours moyen de diffusion* (LPM), défini au paragraphe I.1.2, est une meilleure unité pour évaluer la profondeur de pénétration dans un milieu fortement diffusant. Il est typiquement de l'ordre de  $100 \mu\text{m}$  dans les tissus biologiques.

Réaliser directement une image impose la maîtrise des deux points suivants :

- Pouvoir isoler parmi tout le signal optique la composante qui contient l'information sur la zone d'intérêt.
- Pouvoir balayer la zone d'intérêt à l'intérieur du tissu.

On peut classer les différentes méthodes entre celles qui éliminent le signal multidiffusé au niveau du processus de détection et celles où la source est focalisée sur la seule région d'intérêt, ce qui constitue une sélection à l'émission. A l'inverse des méthodes de sélection à la détection, les techniques de sélection à l'émission n'ont pas besoin d'isoler les photons balistiques comme illustré par la figure I.9. Ainsi la résolution spatiale ne dépend pas de la frontière entre photons serpentiles et multidiffusés, ce qui permet d'augmenter l'amplitude du signal détecté. La limite est celle de la capacité à réaliser une source localisée en profondeur.

Appliquer le même système en transmission ou en réflexion peut aboutir à des résultats très différents. Le signal balistique en réflexion est en fait un signal ayant été diffusé vers l'arrière une seule fois. Il est plus délicat de l'isoler des photons multidiffusés car contrairement au système fonctionnant en transmission, un photon multidiffusé superficiellement peut être détecté au même endroit et au même instant qu'un photon rétrodiffusé une seule fois en profondeur comme illustré figure I.10. Par contre l'inconvénient de la transmission est qu'elle ne permet pas d'obtenir d'information sur la profondeur des structures imagées, à moins de mettre en place un processus de reconstruction tomographique [98] comme ceux utilisés en TDM. Enfin la configuration en transmission est inadaptée dans de nombreuses applications biologiques, en raison par exemple de la grande épaisseur de l'échantillon, ou de la nécessité de mesure à distance (endoscopie). Il est important de garder à l'esprit qu'atteindre une certaine profondeur en réflexion correspond à traverser un tissu d'épaisseur deux fois plus importante.

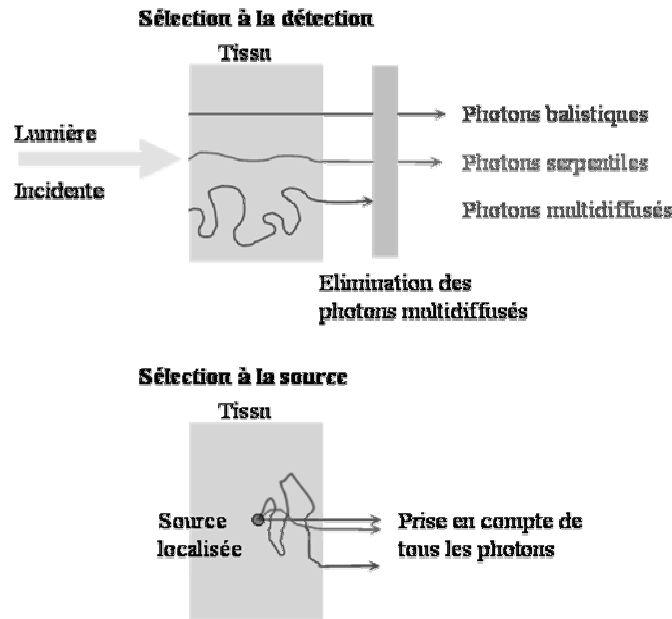


Figure I.9 : Sélection à l'émission ou à la détection du signal d'intérêt.

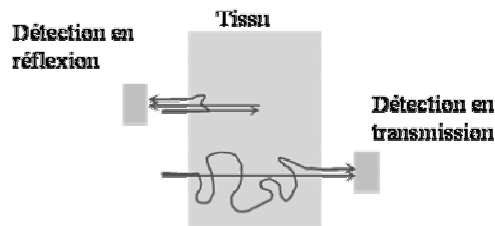


Figure I.10 : Système en réflexion ou en transmission.

### I.3.1.1 Sélection à la détection

Sélectionner à la détection consiste donc à éliminer les photons multidiffusés. Différentes approches sont utilisées.

#### a) Sélection spatiale

Le signal balistique se propage en ligne droite, ainsi l'approche la plus simple consiste à filtrer spatialement les photons multidiffusés dans des directions autres que la ligne droite. En transmission on peut utiliser un système collimaté tel qu'une grille, largement répandue pour l'imagerie par rayon X, ou plus avantageusement un filtre spatial placé dans le plan de Fourier [66]. Abandonner l'idée de l'imagerie plein champ permet de pousser le filtrage spatial jusqu'à ses limites : l'imagerie confocale.

### Microscopie Confocale

Cette méthode nécessite un balayage de l'échantillon. En réflexion elle permet d'obtenir un filtre spatial, et donc une image, en trois dimensions. Elle possède en plus l'avantage d'être applicable à l'imagerie de la diffusion ou de la fluorescence. L'objectif du microscope permet de focaliser la source et de faire l'image du point de focalisation sur le détecteur. L'astuce proposée et brevetée en 1957 par M Minsky [87] consiste à placer un diaphragme devant le détecteur. En plus de bloquer la lumière multidiffusée, il va bloquer la lumière retrodiffusée depuis d'autres plans que celui de focalisation comme illustré figure I.11. Un appareil commercial peut réaliser des images en

réflexion avec des résolutions de l'ordre du micron et une profondeur allant jusqu'à environ 5 LPMD.

La résolution spatiale est limitée par la diffraction. Pourtant de nouvelles techniques d'imagerie de fluorescence sont apparues qui brisent cette barrière [57] avec une résolution axiale pouvant atteindre 33 nm [38]. Ceci démontre le potentiel que recèlent encore les techniques basées sur la sélection spatiale.

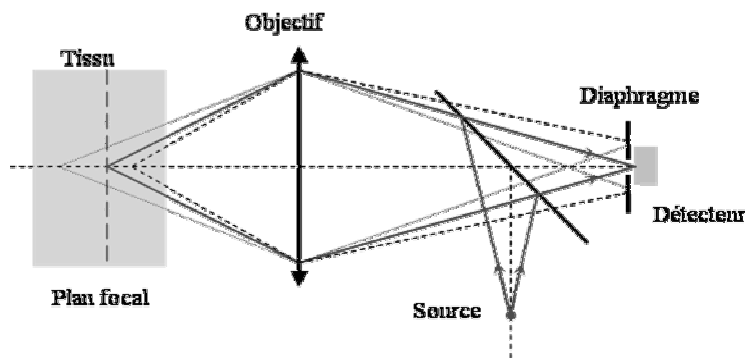


Figure I.11 : Principe de la microscopie confocale.

### b) Sélection temporelle

Le signal balistique se propage en ligne droite. C'est pourquoi la longueur et par conséquent la durée du trajet suivi par ces photons sont plus courtes que celles des photons multidiffusés. L'idée consiste à envoyer une impulsion lumineuse très brève dans le tissu et à ne récupérer que les photons les plus rapides, comme illustré par la figure I.12. La difficulté principale est la réalisation d'une porte temporelle suffisamment rapide pour obtenir une résolution convenable. Deux catégories de techniques permettent la réalisation de tels systèmes. L'instrumentation optoélectronique ultrarapide est la première de ces catégories. Les temps de réponses des photodiodes et des photomultiplicateurs sont typiquement supérieurs à quelques dizaines de picosecondes. Des détecteurs plus rapides, telles les caméras à balayage de fente, peuvent fournir des résolutions jusqu'à la picoseconde. D'autres détecteurs existent, mais tous sont trop lents pour la réalisation de ces portes temporelles. Ils sont par contre très utilisés en imagerie optique diffuse, que nous décrirons au paragraphe I.3.2. Finalement la solution se trouve dans la deuxième catégorie qui exploite les phénomènes optiques non linéaires.

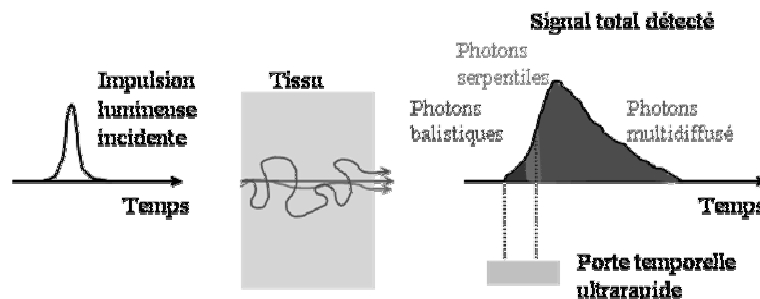


Figure I.12 : Principe de la sélection temporelle des photons balistiques.

### Portes temporelles basées sur l'Optique non linéaire

L'Optique non linéaire ouvre un champ de phénomènes aux propriétés très intéressantes, notamment pour la conception de portes temporelles ultrarapides. Ces technologies sont basées sur

l'utilisation de lasers impulsionsnels de quelques femtosecondes qui sont maintenant couramment commercialisés.

*Génération de la seconde harmonique* : La combinaison du signal et d'un faisceau de référence dans un cristal non linéaire génère un signal à la fréquence double dont l'intensité dépend du délai entre le signal et la référence. Une résolution axiale submillimétrique est rapportée à travers un tissu de 28 LPMD [143].

*Amplification paramétrique optique* : Il s'agit pratiquement du processus inverse de celui de la génération de seconde harmonique. Le signal résultant est à la fréquence différence. Une résolution axiale de 200  $\mu\text{m}$  est rapportée à travers une solution de microsphères en latex de 20 LPMD [138].

*Effet Kerr optique* : C'est l'une des plus anciennes techniques de portes temporelles ultrarapides [32]. La cellule à effet Kerr ne laisse passer la lumière qu'en présence d'un faisceau pompe impulsionsnel induisant une biréfringence temporaire dans la cellule. Une résolution axiale submillimétrique est rapportée à travers une solution d'intralipide de 10 LPMD [73].

*Effet Raman stimulé* : La diffusion Raman est utilisée pour amplifier le signal par l'intermédiaire d'un faisceau pompe impulsionsnel. Une résolution axiale de 300  $\mu\text{m}$  est rapportée à travers une solution diffusante (nondairy creamer) de 33 LPMD [34].

### c) Sélection par cohérence temporelle

Deux signaux lumineux ne peuvent interférer que s'il existe une relation de cohérence, notamment temporelle, entre eux. L'holographie permet d'enregistrer la phase d'une onde EM grâce à ce principe. K.A. Stetson a utilisé l'holographie dès 1952 [120] comme technique d'imagerie en milieu diffusant. L'hologramme peut être enregistré numériquement [27], ou sur des matériaux photoréfractifs. Dans ce dernier cas une résolution axiale inférieure à 100  $\mu\text{m}$  est rapportée en réflexion sur une solution de microsphères de polystyrène de 8 LPMD [65].

### Tomographie optique cohérente.

Plus connue suivant son acronyme anglophone OCT (optical coherence tomography), cette technique est basée sur le principe de l'interférométrie à faible longueur de cohérence, comme illustré par la figure I.13. La méthode initialement proposée par J.G. Fujimoto *et al* en 1991 [63] consiste à balayer transversalement l'échantillon observé en réflexion en utilisant une architecture confocale. La profondeur est résolue en réalisant une porte temporelle par le biais du phénomène d'interférence entre le signal d'intérêt et une référence. La durée d'ouverture de la porte, et donc la résolution en profondeur, est définie par l'intermédiaire de la durée de cohérence de la source. La résolution atteignable *in vivo* est de l'ordre du micron [46] et la profondeur de l'ordre de 10 LPMD [36]. De nombreuses variantes ont été développées et des revues du sujet existent [111, 41]. Toutefois il est possible de définir deux voies qui se distinguent par la façon dont la profondeur est résolue. La première catégorie, l'OCT dans le domaine temporel, est basée sur une modulation temporelle du chemin optique de la voie de référence qui permet un balayage de l'échantillon en profondeur. La deuxième voie, l'OCT dans le domaine de Fourier, est basée sur une détection spectrale ce qui permet d'éviter la modulation du chemin optique de référence. Ces méthodes nécessitent le balayage de l'échantillon afin d'obtenir une image tomographique. Certaines méthodes dites OCT plein champ permettent de s'affranchir de ce balayage et de diminuer en conséquence le temps d'acquisition [10].

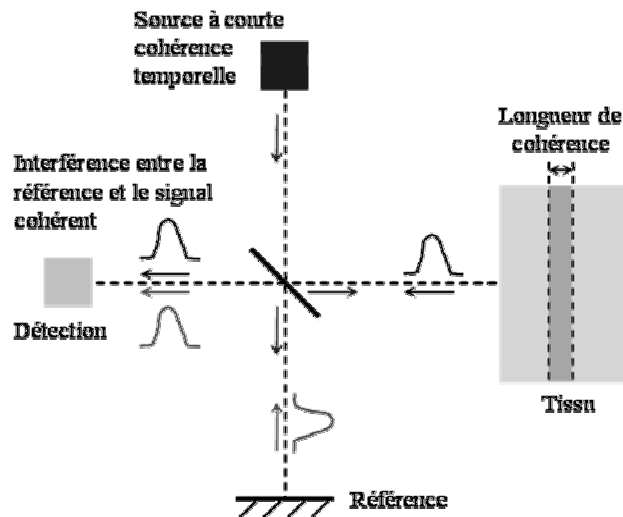


Figure I.13 : Principe de l'interférométrie à faible longueur de cohérence.

#### d) Sélection par polarisation

Les travaux rapportant l'utilisation de l'état de polarisation pour discriminer le signal balistique sont plus anecdotiques, car un photon ne perd la mémoire de sa polarisation initiale qu'après un nombre conséquent d'évènements de diffusion [82]. Cette méthode permet d'obtenir des résolutions de quelques millimètres à travers des tissus de quelques dizaines de LPMD [112].

#### I.3.1.2 Sélection à l'émission

Cette méthode de sélection consiste à réaliser une source interne dont l'émission est liée aux propriétés optiques locales. L'avantage de cette approche est que la frontière entre photons diffusés et serpentes peut être repoussée, sans altérer la résolution spatiale de façon aussi radicale que dans la sélection à la détection. Ici la résolution spatiale et la profondeur de pénétration sont principalement liées à la capacité à réaliser une source focalisée en profondeur la plus petite possible.

#### a) Phénomènes optiques non linéaires

Les impulsions ultracourtes peuvent produire des intensités lumineuses crêtes très élevées, et induire des polarisations non linéaires significatives dans les milieux biologiques. Il est alors possible d'exploiter un certain nombre de phénomènes non linéaires pour induire l'émission de lumière par le tissu à une autre longueur d'onde que celle d'excitation. La suppression de la lumière excitatrice est alors simplement réalisée par filtrage. De nombreux phénomènes non linéaires peuvent être exploités, nous nous contenterons d'énumérer les plus répandus en microscopie, à savoir : un phénomène de second ordre, la génération de la seconde harmonique et deux phénomènes du troisième ordre, l'absorption multiphotonique et la génération de la troisième harmonique. Suivant les phénomènes la probabilité de leur occurrence est proportionnelle au carré (absorption à deux photons et génération de seconde harmonique) ou au cube (absorption à trois photons et génération de troisième harmonique) de l'intensité lumineuse incidente. Ainsi le phénomène est localisé dans un faible volume autour du point focal du microscope comme illustré par la figure I.14.

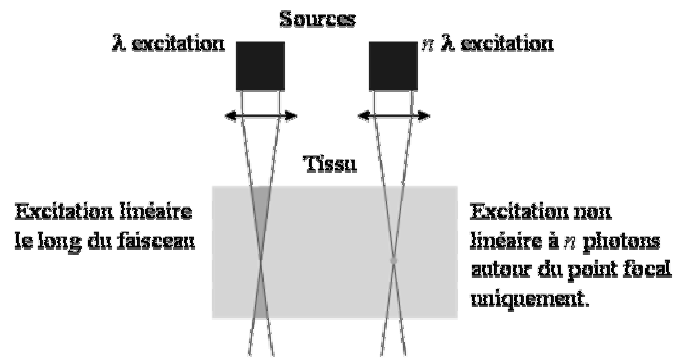


Figure I.14 : Principe de la focalisation du phénomène optique non linéaire.

### Absorption multiphotonique.

Il s'agit d'exciter l'émission d'agents fluorescents par l'absorption de plus d'un photon, en général deux ou trois. Un autre avantage par rapport à la microscopie de fluorescence traditionnelle est que l'excitation à  $n$  photons se fait à une fréquence  $n$  fois plus petite que l'excitation monophotonique. Ainsi il est possible d'exciter les fluorophores connus dans le visible ou les UV avec des longueurs d'ondes IR. Ceci permet d'accroître la pénétration et de réduire la phototoxicité induite. Une résolution subcellulaire est rapportée en réflexion sur un cerveau de souris jusqu'à une profondeur de 2 mm [77].

### Génération de la seconde ou troisième harmonique (GSH, GTH).

Il s'agit de la diffusion lumineuse à une fréquence deux fois (GSH) ou trois fois (GTH) plus grande que l'excitation. Ces effets sont plus ou moins intenses selon la nature chimique et l'organisation du milieu étudié. En plus des avantages liés à l'utilisation de longueurs d'onde excitatrices IR, déjà explicités pour l'absorption multiphotonique, ces techniques ne nécessitent pas l'introduction d'agents fluorescents extrinsèques. Une résolution submicron est rapportée en réflexion, sur un embryon de poisson zèbre, jusqu'à une profondeur de 1,5 mm [20].

### b) Phénomène acousto optique

Une onde acoustique peut modifier les propriétés optiques du milieu, en particulier l'indice de réfraction est modulé à la fréquence acoustique. Une source acoustique focalisée peut donc modifier localement l'amplitude et la phase d'une onde EM. Ainsi en utilisant une source acoustique modulée et focalisée, une source lumineuse cohérente et une détection synchrone associée, il est possible de réaliser une source virtuelle acousto optique en détectant les variations de la phase de l'onde EM [115]. Les ondes acoustiques étant peu diffusées par les tissus, la source virtuelle peut facilement être placée en profondeur. De plus la résolution spatiale peut être améliorée en détectant le signal à la seconde harmonique [116].

### I.3.2 Méthodes de reconstruction d'images

Nous avons vu que dans la majorité des cas l'imagerie directe est fortement limitée en terme de profondeur de pénétration. Ainsi pour pouvoir explorer des tissus très épais, une autre approche consiste à détecter tout le signal optique multi-diffusé. Un modèle de propagation lumineuse permet de simuler l'expérience réalisée (problème direct). La reconstruction de l'image consiste à résoudre un problème inverse. Cette méthode est connue sous le nom de Tomographie Optique Diffuse (TOD).

Résoudre le problème inverse consiste à optimiser un critère représentant l'écart entre l'expérience et la modélisation. Nous aurons l'occasion de revenir en détail sur ce point au chapitre III.

La profondeur d'exploration est ici uniquement limitée par les performances du système de détection. La résolution spatiale est plus difficile à définir que dans le cas de l'imagerie directe. Elle dépend bien évidemment des performances du système expérimental, mais elle est également étroitement liée à la modélisation et au processus d'inversion.

Il est possible de définir trois types de TOD suivant les informations qu'ils recueillent, comme illustré par la figure I.15.

### **TOD continue.**

Ces systèmes utilisent une source continue et mesurent l'intensité totale  $I$  à la surface du tissu. Le faible coût et les performances en terme de stabilité et de rapport signal à bruit de ce genre d'instrumentation ont contribué à la démocratisation de ces appareils. Par contre ils recueillent peu d'information et imposent en conséquence la multiplication du nombre de mesures.

### **TOD fréquentielle.**

Les systèmes fréquentiels utilisent des sources modulées à des fréquences radios. En plus de l'intensité totale  $I$ , ils mesurent le déphasage  $\Delta\phi$  entre les signaux incident et détecté et la variation de l'indice de modulation  $M$  du signal. De performances équivalentes et de coût voisin aux systèmes continus, ils permettent de recueillir plus d'informations que ces derniers.

### **TOD résolue en temps.**

Les systèmes résolus en temps utilisent des sources impulsionnelles ultracourtes et mesurent le profil temporel de l'intensité lumineuse. Ces systèmes sont souvent plus chers et moins stables que les systèmes continus ou modulés. La transformée de Fourier établit une équivalence entre les mesures dans les domaines temporels ou fréquentiels. Toutefois les systèmes fréquentiels ont une bande passante plus limitée, typiquement inférieure au GHz. C'est la raison pour laquelle les systèmes résolus en temps sont actuellement ceux qui récoltent le plus d'information. Les sources sont généralement des lasers femto ou picoseconde. Divers types d'instrumentation optoélectronique sont utilisés pour la détection, notamment les caméras à balayage de fente et les systèmes de comptage de photons. Nous aurons l'occasion de revenir en détail sur ce genre d'instrumentation au chapitre II. D'autres types d'instrumentation existent. Par exemple une méthode consiste à illuminer le tissu à l'aide d'une série d'impulsions lumineuses pseudo aléatoires. Le signal temporel est récupéré par corrélation du signal de sortie et du signal incident [19]. Une autre technique repose sur un montage interférométrique et sur l'analyse des fluctuations du speckle induites par une illumination continue mais dont la longueur d'onde est modulée [130]. Il est également possible de combiner un système de délai optique, à une caméra et une porte temporelle électronique, afin d'adapter la vitesse de fonctionnement aux impératifs de l'imagerie de l'activité cérébrale [117].

Une autre application de l'association de l'optique et de l'acoustique est la tomographie optoacoustique. Le phénomène optoacoustique permet la détection d'ondes acoustiques émises par un tissu sous l'effet des dilatations thermiques dues à l'absorption d'une onde lumineuse. La reconstruction de l'image est plus simple que dans la TOD car les ondes acoustiques sont peu diffusées par les tissus. Cette technique est utilisée par exemple pour la mammographie [3].

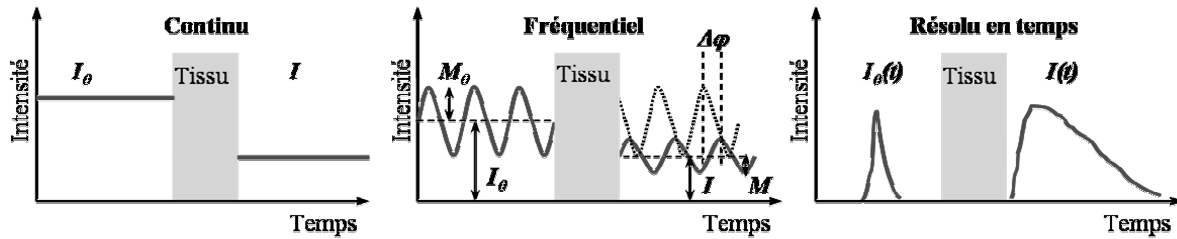


Figure I.15 : Types de mesures en TOD.

## I.4 Optique de l'activation cérébrale

Nous avons défini les propriétés optiques des tissus biologiques en général, nous allons maintenant nous concentrer sur les tissus qui nous intéressent dans le cadre de l'imagerie fonctionnelle cérébrale. Nous allons donc nous intéresser à l'anatomie et aux propriétés optiques de la tête, puis aux processus physiologiques de l'activation cérébrale et à leurs liens avec les variations des propriétés optiques.

### I.4.1 Anatomie et propriétés optiques de la tête

Afin d'obtenir un modèle constitué de régions optiquement homogènes, il est nécessaire de définir les principaux tissus de la tête. Nous allons donc définir les catégories retenues pour notre modèle, et nous justifierons les choix des paramètres optiques attribués.

Les sources et les détecteurs sont placés directement au contact de la peau du sujet. Il est nécessaire de passer à travers les cheveux, principalement pour des raisons de stabilité du signal, mais aussi à cause de la forte variabilité de l'absorption en fonction de leur pigmentation. C'est pourquoi ils ne sont pas pris en compte dans le modèle.

La zone qui nous intéresse est constituée du cerveau, lieu des processus de l'activation cérébrale, et des tissus situés entre le cerveau et la surface : les méninges, la boîte crânienne et le cuir chevelu. La figure I.16 illustre la complexité anatomique de cette zone. Il serait illusoire de vouloir considérer individuellement chacune de ces structures. Tout d'abord cela imposerait une résolution spatiale du modèle incompatible avec une simulation numérique. Ensuite l'identification des structures anatomiques de chaque sujet se faisant à l'aide de l'IRM, il serait difficile d'apprécier des détails anatomiques plus petit que le millimètre. C'est pourquoi nous avons choisi de définir six grandes catégories de structure, facilement identifiables sur une IRM. Définissons ces catégories en évoluant de l'extérieur vers l'intérieur de la tête.

#### La peau

Cette catégorie regroupe toutes les couches situées au dessus du crâne. En plus des chromophores habituels, l'absorption de la peau est aussi due à la présence de mélanine dans l'épiderme en quantité fortement variable suivant le type de peau et suivant la protection apportée par les cheveux. Nous avons vu que la mélanine absorbe fortement dans l'UV et le visible. La diffusion dans la peau [71] est en partie due aux fibres de collagène. Au niveau macroscopique, leur structure fibrée se traduit par un régime de diffusion de Mie, fortement anisotropique. Toutefois, des stries microscopiques ajoutent un régime de diffusion de Rayleigh de nature isotropique. Les coefficients adoptés pour notre modèle sont présentés dans le tableau I.2.



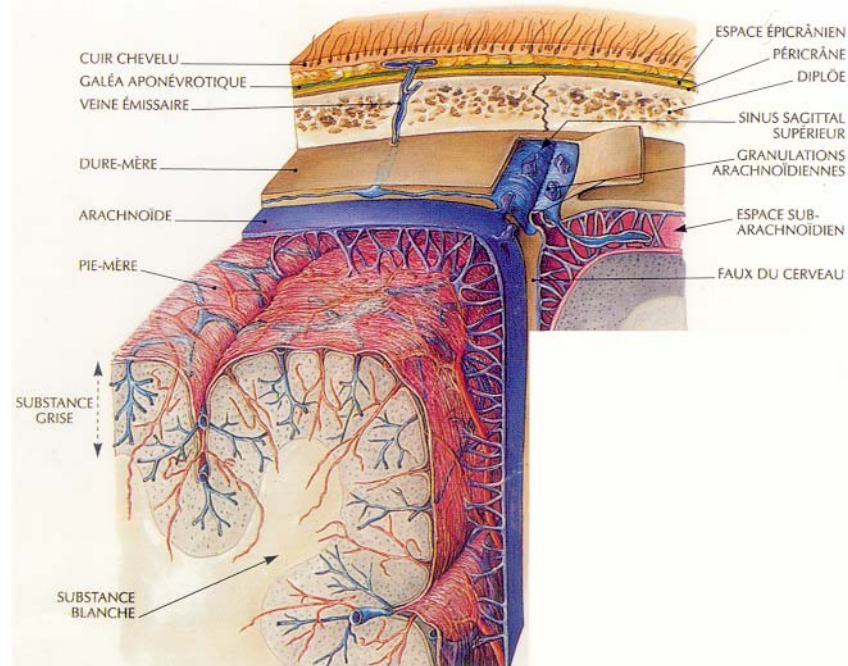


Figure I.16 : Coupe anatomique superficielle de la tête.

### Le crâne

Il est constitué par un ensemble d'os unis par des sutures fibreuses. Les propriétés optiques des os crâniens sont basées sur des mesures chez des grands mammifères [42] car leurs compositions physiques et chimiques sont identiques chez l'homme. Les coefficients adoptés pour notre modèle sont présentés dans le tableau I.2.

### Les méninges

Cette catégorie regroupe en fait des éléments de structures très différentes. La dure mère est une membrane fibreuse, dense et épaisse, qui adhère à la face interne de la boîte crânienne. Elle forme par endroits des replis qui séparent les différentes parties de l'encéphale. L'arachnoïde est une délicate membrane non vascularisée qui est maintenue contre la dure mère par la pression du liquide céphalo-rachidien (LCR). La pie mère est une membrane mince et richement vascularisée qui épouse tous les contours de la surface de l'encéphale. Ces deux dernières membranes ont une origine commune, ce qui explique qu'elles soient reliées par de nombreuses trabécules arachnoïdiennes. L'espace subarachnoïdien (ESA), situé entre ces deux membranes, contient un liquide nutritif transparent dont la composition est proche de celle du sang : le LCR. Le cerveau est suspendu à l'intérieur de cet espace par l'intermédiaire des trabécules. Ceci lui assure un amortissement mécanique en cas de choc, et réduit la compression des nerfs et des vaisseaux contre la face interne du crâne. L'épaisseur des trois membranes est en générale relativement faible par rapport à celle de l'ESA. Le LCR est pratiquement non diffusant et non absorbant. Par contre les trabécules sont diffusantes, et forment un maillage de l'ensemble de l'ESA [47, 99]. De plus les méninges sont vascularisées. Ainsi, bien que faible, Les coefficients adoptés pour notre modèle satisfont aux conditions du régime de diffusion (tableau I.2.).

### La matière grise (MG)

Couche superficielle du cerveau, elle abrite notamment les neurones, unités structurales et fonctionnelles du système nerveux. Très vascularisée, elle est par conséquent fortement absorbante. Les coefficients adoptés pour notre modèle sont présentés dans le tableau I.2.

**La matière blanche (MB)**

Couche intérieure du cerveau, elle est notamment constituée de faisceaux de fibres nerveuses (axones), qui assurent l'interconnexion des neurones. Elle est moins absorbante que la MG, mais beaucoup plus diffusante notamment car les axones sont recouverts de gaines de myéline. Cette couche permet d'assurer une conduction optimale de l'influx nerveux et représente une proportion importante de la MB. Ces gaines sont des empilements de membranes cellulaires, ce qui explique la forte diffusion de la MB. Les coefficients adoptés pour notre modèle sont présentés dans le tableau I.2.

**Les sinus**

Les sinus veineux de la dure mère sont des espaces récoltant le sang de l'encéphale via de grosses veines originaires de la surface du cerveau. Leur forte concentration en oxy- et deoxy-hémoglobine les rend très absorbants. Ils sont aussi très diffusants mais avec une forte anisotropie vers l'avant, le facteur d'anisotropie ( $g$ ) de Hb et HbO<sub>2</sub> est voisin de 0,99 [131]. Ainsi  $\mu'_s$  est proche de  $\mu_a$ , et par conséquent l'approximation de diffusion n'est plus valide. En général, on évitera de se placer au sommet du crâne, en raison de la présence superficielle du sinus sagittal supérieur. Les propriétés optiques des sinus son présentées dans le tableau I.2.

Types de tissus	$\mu_a$ (cm <sup>-1</sup> )	$\mu'_s$ (cm <sup>-1</sup> )
Peau	0,18	19
Crâne	0,16	16
Méninges	0,04	2,4
MG	0,36	22
MB	0,14	91
Sinus	5	7

Tableau I.2 : Propriétés optiques à 800 nm des catégories anatomiques choisies pour la tête [47, 131].

**I.4.2 Physiologie de l'activation cérébrale**

L'activité cérébrale est un ensemble de processus physiologiques accompagnant l'activation des neurones présents dans le cortex cérébral. Ces processus sont généralement subdivisés en deux catégories selon leur localisation. Les premiers se produisent intra cellulièrement ou aux niveaux des membranes cellulaires. Les autres sont localisés dans le compartiment vasculaire et sont liés aux premiers par le biais d'un couplage dit neuro-vasculaire qui reste encore mal connu [137].

**Techniques conventionnelles d'imagerie cérébrale fonctionnelle :**

Il existe différentes techniques d'imagerie fonctionnelle sensibles à chacune des deux catégories physiologiques de l'activité cérébrale décrites ci-dessus. L'électroencéphalographie (EEG) et la magnétoencéphalographie (MEG) fournissent des informations directes sur l'activité neuronale à travers la mesure des modifications induites sur les champs électrique et magnétique. Ces méthodes possèdent une très bonne résolution temporelle mais pèchent par leur faible localisation spatiale. L'IRM fonctionnelle (IRMf) est sensible aux variations de la réponse hémodynamique par le biais du signal BOLD (Blood Oxygenation Level dependent). Elle est une des méthodes d'imagerie cérébrale fonctionnelle de référence grâce à sa bonne résolution spatiale et malgré une résolution temporelle limitée mais adaptée à la faible dynamique du signal BOLD. Les variations induites par l'activation cérébrale sur la diffusion moléculaire de l'eau peuvent aussi être suivies grâce à l'IRM [76]. La PET et la TEMP nécessitent l'introduction de traceurs radioactifs et ont des résolutions temporelle et spatiale limitées.

Dans ce contexte le potentiel de l'imagerie optique pour l'activation cérébrale est prometteur car elle est sensible aux deux catégories physiologiques définies et possède une bonne résolution temporelle. La forte diffusion de la matière blanche exclut la possibilité d'atteindre les couches profondes du cerveau, toutefois les phénomènes liés à l'activité cérébrale sont majoritairement localisés dans les couches superficielles. L'obstacle principal à la diffusion clinique de l'imagerie optique est lié à la localisation spatiale des variations optiques. Franchir cet obstacle permettrait de fournir un outil prometteur pour la compréhension du couplage neuro-vasculaire.

### **Processus physiologiques optiquement intéressants :**

L'activité neuronale est caractérisée par des flux ioniques et moléculaires à travers les membranes des neurones qui induisent des variations du potentiel des membranes, ainsi que des modifications des champs électriques et magnétiques. Les concentrations intra et extra cellulaires des principales espèces impliquées dans ces échanges, l'eau et les ions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  et  $\text{Ca}^{2+}$ , sont alors modifiées. De plus d'autres processus intra cellulaires, comme les seconds messagers, sont activés.

Les variations d'intensité de l'activation cérébrale sont associées à celles du métabolisme énergétique, c'est à dire aux variations de la consommation de glucose et d'oxygène. Ces événements peuvent notamment affecter l'état d'oxydoréduction du cytochrome c oxydase (Cyt.O) [18] qui est l'enzyme terminale dans le cycle respiratoire de la cellule. Toutefois en raison des interférences dues aux variations de Hb et  $\text{HbO}_2$ , la concentration de Cyt.O dans les tissus étant faible par rapport à l'hémoglobine [109], et en raison de l'absence de technique de référence pour les mesures de Cyt.O, le sujet reste controversé [132].

Ces événements intracellulaires sont accompagnés d'une vasodilatation locale des artérioles et par conséquent d'une augmentation locale du volume sanguin cérébral (VSC) et du flux sanguin cérébral (FSC) que l'on nomme le couplage neuro-vasculaire [136]. Cet effet atteint son maximum au bout de quelques secondes. Ainsi l'augmentation du FSC et de l'oxygénation locale consécutive devient rapidement supérieure à la consommation locale d'oxygène. Par conséquent l'oxygénation cérébrale augmente localement.

### **I.4.3 Relation entre l'activité cérébrale et les propriétés optiques**

Nos travaux se limitent aux propriétés optiques intrinsèques des tissus. Il est toutefois important de préciser que l'utilisation d'agents de contraste exogènes permet de suivre beaucoup plus de phénomènes physiologiques [128, 1] au prix de la perte du caractère non invasif de la méthode. Des revues plus complètes du sujet ont été publiées [136, 121].

#### **I.4.3.1 Absorption : Réponse hémodynamique**

L'activité neuronale est consommatrice d'oxygène, elle induit donc une diminution locale de l'oxygénation sanguine. Nous avons déjà vu que par le biais du couplage neuro-vasculaire des variations des volumes et flux sanguin cérébraux accompagnaient cette augmentation d'activité avec un délai de quelques secondes. Ainsi rapidement l'approvisionnement en  $\text{HbO}_2$  devient supérieur à sa consommation et sa concentration augmente pour atteindre un maximum environ 5 s après le début de l'activité cérébrale. Cette augmentation de l'oxygénation est moins spatialement localisée que la consommation d'oxygène lié à l'activité neuronale [84]. Ainsi le suivi de l'activation cérébrale par le biais de la concentration locale en Hb et  $\text{HbO}_2$  est intrinsèquement limité en terme de résolution spatiale.

## Spectroscopie PIR

Horecker [61] fut le premier en 1943 à prouver l'intérêt d'un diagnostic dans le PIR basé sur les différences des spectres d'absorption de Hb et HbO<sub>2</sub>, ouvrant la voie à l'application à l'homme de la spectroscopie PIR. A partir des années soixante dix la spectroscopie PIR s'est imposée à l'hôpital pour la mesure de la saturation artérielle en oxygène de l'hémoglobine, notamment grâce à l'introduction des oxymètres pulsés. En 1977 Jöbsis [72] a été le premier à mesurer un spectre d'atténuation à travers la tête d'un chat. Par la suite les progrès réalisés dans l'instrumentation ont conduit de nombreux groupes à appliquer la spectroscopie PIR à l'activation cérébrale chez l'homme et à entamer l'évolution vers une véritable technique d'imagerie.

La quantification de la concentration des chromophores n'est pas un problème trivial. L'atténuation de la lumière PIR dépend de l'absorption des tissus traversés, mais aussi de leur diffusion, de la fonction de phase et de la géométrie du système expérimental. Le chemin optique suivi par les photons est supérieur à la distance entre la source et le détecteur. Une idée simple a été très tôt proposée pour évaluer le trajet optique des photons, elle suggère que la mesure de leur temps de propagation rende compte de la longueur du chemin suivi [33]. Le concept du facteur d'augmentation du chemin optique dit *DPF* [30] (differential pathlength factor) repose sur cette idée. Il est utilisé dans la *loi de Beer-Lambert modifiée* [25] qui considère une variation moyenne le long du chemin optique. Seuls les systèmes fréquentiels et résolus en temps permettent l'évaluation de ce facteur, respectivement par le déphasage [6] et le temps moyen d'arrivée des photons. Une revue des méthodes de quantification basées sur les différentes grandeurs mesurables par les appareils continus, fréquentiels ou résolus en temps a été effectuée par D.T. Delpy [29].

De nombreux travaux ont montré que l'activité cérébrale s'accompagnait de variations de l'intensité du signal optique s'étalant sur quelques secondes et de l'ordre de 2% (correspondant à environ 5  $\mu\text{mol}$  d'augmentation moyenne de HbO<sub>2</sub> sur la zone explorée). Le choix du nombre et des valeurs des longueurs d'ondes utilisées est encore sujet à discussion dans la littérature [26, 133]. Il est de toute façon nécessaire d'avoir au moins autant de longueurs d'ondes différentes que de chromophores d'intérêts.

Le problème de la quantification absolue des concentrations de chromophore ne revêt pas la même importance pour l'imagerie fonctionnelle de l'activité cérébrale. En effet la plupart des techniques conventionnelles d'imagerie fonctionnelle, tel l'IRMf, ne sont pas actuellement capables de fournir des informations quantitatives. Or ceci n'a pas empêché la prolifération des études reposant sur ces techniques. Par contre il est possible de quantifier les variations de concentration des chromophores en supposant qu'elles sont la seule cause des variations de l'atténuation totale du signal, ce qui est une approximation raisonnable en considérant la rapidité des processus de l'activité cérébrale.

Le problème des méthodes classiques de quantification basées sur la loi de Lambert modifiée est qu'elles mésestiment les variations dues à l'activation cérébrale. En effet la majorité du chemin optique est situé dans des zones superficielles de propriétés optiques constantes, ou ne subissant pas les mêmes variations que les zones du cortex cérébral. Ainsi la localisation spatiale des variations du signal optique est l'enjeu majeur pour assurer le développement clinique de l'imagerie cérébrale fonctionnelle optique. Il existe deux catégories d'approches pour résoudre ce problème, la topographie et la tomographie. Comme leurs noms l'indiquent, ces deux approches se différencient dans le sens où la topographie consiste à rechercher un projeté de la carte de l'activation cérébrale sur la surface de la peau, alors que la tomographie consiste à reconstruire une image volumique constituée de tranches régulièrement espacées.

### **Approche topographique**

C'est l'approche la plus simple, elle consiste à réaliser une interpolation des mesures réalisées ponctuellement sur l'ensemble de la surface couverte. Cette méthode peut être améliorée en récupérant des informations sur la profondeur des variations observées.

Les systèmes continus sont très bon marché et permettent la multiplication des sources et détecteurs. Hitachi [75] commercialise un tel appareil et de nombreuses équipes, par exemple celle dirigée par D.A. Boas [45] (Massachusetts General Hospital, U.S.A.) et celle de A. Villringer [16] (Charité, Universitätsmedizin Berlin, Allemagne) utilisent de tels systèmes. Leurs atouts résident notamment dans leur faible coût et dans leurs bonnes performances en terme de stabilité et de rapport signal à bruit. L'extraction et la quantification des variations se situant réellement en profondeur restent tout de même controversées avec ce genre de système. L'alternative des systèmes modulés en intensité permet une réelle quantification des variations mesurées mais possède les mêmes faiblesses à extraire les variations profondes. Les principaux groupes ayant choisi cette option sont celui de E. Gratton [141] (University of Illinois, U.S.A.) et de Yodh [37] (University of Pennsylvania, U.S.A.).

Le concept du DPF n'est valide que si l'on considère une variation de l'absorption faible et homogène sur l'ensemble de la zone explorée. Dans le cas de l'activation cérébrale, l'hypothèse d'une variation homogène de l'absorption n'est pas valide. La variation est localisée dans le cerveau et est généralement relativement focalisée. Afin de remédier à ce problème, deux approches expérimentales sont généralement explorées.

La première repose sur l'idée que la simulation de la propagation lumineuse dans la tête montre que la profondeur des tissus explorés augmente avec la distance entre la source et le détecteur. Ainsi a-t-on émis l'idée de quantifier les variations profondes liées à l'activation corticale à l'aide de mesures simultanées à plusieurs distances [100, 64].

La deuxième idée tient compte du fait que les systèmes résolus en temps, tel le nôtre, mesurent le nombre de photons incidents sur le détecteur en fonction de leur temps d'arrivée. Or la profondeur de la zone explorée augmente en fonction du temps d'arrivée des photons. Ainsi ces systèmes apportent une information beaucoup plus pertinente ce qui permet d'espérer une amélioration de la détection et de la localisation des variations du signal. C'est la raison pour laquelle de nombreux groupes ont choisi ce genre de système pour explorer l'activité cérébrale. Les principaux groupes sont celui de D.A. Boas [117], de R. Cubeddu [127] (Politecnico di Milano, Italie), de Rinneberg [79] (Physikalisch-Technische Bundesanstalt, Allemagne) et un regroupement de plusieurs équipes japonaise [62] autour de Hamamatsu (Central Research Laboratory, Japon) dont notamment celle de M. Tamura (Hokkaido University, Japon). Différentes méthodes ont été imaginées afin d'obtenir des informations sur la profondeur des variations. Soit simplement par une discrimination temporelle [88, 93, 117], ou en ajoutant une approche multidistances [80].

### **Approche tomographique**

Au début des années 1990 la tomographie optique diffuse a émergé sous l'impulsion de S.R. Arridge [8] (University College London, G.B.). C'est une véritable reconstruction d'image volumique (3D) ou surfacique (2D) sur laquelle nous reviendrons plus en détail dans le chapitre III. De nombreuses améliorations tant dans la modélisation physique que dans les processus mathématiques de reconstruction et dans le traitement informatique restent à faire. C'est pourquoi cette méthode est encore fortement limitée par le degré de complexité de la géométrie étudiée, et n'a pas été appliquée au cas de l'activation cérébrale humaine. Elle a toutefois été utilisée pour reconstruire une carte de l'activation cérébrale chez le petit animal [28]. En plus de l'amélioration

de la localisation spatiale des chromophores qui constitue un atout très important pour l'imagerie fonctionnelle, cette approche permet une véritable quantification de leurs concentrations. Comme nous l'avons expliqué cet avantage n'est pas primordial dans notre cas mais se révèle très intéressant pour certaines des applications les plus prometteuses de l'imagerie optique comme la mammographie [53, 124] ou le suivi de l'oxygénation cérébrale du nouveau né [55].

Malgré l'élégance de l'approche tomographique sa complexité laisse présager qu'elle ne remplacera pas entièrement, à court terme en tout cas, l'approche topographique. A plus forte raison quand on sait que les techniques résolues en temps devraient permettre d'améliorer notablement la topographie notamment par la localisation en profondeur des variations liées à l'activation cérébrale.

#### **I.4.3.2 Absorption : Processus énergétiques intra cellulaires**

Le cytochrome c oxydase est l'enzyme terminale dans le cycle respiratoire mitochondrial. Il est responsable de la grande majorité de la consommation d'oxygène dans l'organisme et est essentiel à la production d'adénosine triphosphate (ATP), le plus important pourvoyeur d'énergie dans les cellules. Il absorbe fortement dans le PIR mais sa concentration dans l'organisme est dix fois plus faible que celle de l'hémoglobine ce qui rend sa détection problématique. Toutefois les processus physiologiques intracellulaires qu'il permet de suivre sont potentiellement plus pertinents que ceux qui sous-tendent la réponse hémodynamique, pour l'étude de l'activité cérébrale. La même problématique de quantification et de localisation spatiale décrite pour Hb et HbO<sub>2</sub> s'applique à ce chromophore.

Contrairement à celles de Hb et HbO<sub>2</sub> sa concentration varie très lentement (sur plusieurs jours) ce qui est totalement inadapté au suivi de l'activation cérébrale. Par contre son état d'oxydoréduction varie rapidement et les spectres d'absorption de ses états oxydé et réduit sont différents. De nombreux facteurs influent sur cet état d'oxydoréduction [23]. Le plus significatif semble être la concentration en oxygène. Différentes méthodes ont été mises en place afin de s'assurer que le suivi du Cyt.O n'est pas un artefact. Il a ainsi été tenté de comparer différents algorithmes pour la détection du Cyt.O [85], ou de contrôler la variation de concentration d'hémoglobine à l'aide de substitut sanguin [122, 22], ou encore de bloquer l'état d'oxydoréduction du Cyt.O avant de faire varier les concentrations de Hb et HbO<sub>2</sub> ainsi que la diffusion [24]. Malgré cela le suivi du Cyt.O reste encore très controversé et devrait tirer bénéfice de mesures avec de nombreuses longueurs d'ondes et une bonne résolution spectrale.

Des mesures réalisées de façon non invasive chez l'homme ont montré une augmentation de l'état oxydé du Cyt.O de l'ordre de 0,1  $\mu\text{mol}$  durant une augmentation de l'activité cérébrale dans le cortex visuel [139, 132].

#### **I.4.3.3 Diffusion : activité cellulaire**

Les interfaces entre deux milieux optiquement différents tels les membranes cellulaires sont des lieux de forte diffusion lumineuse. Tout évènement affectant ces membranes, ou le volume intracellulaire, est donc susceptible de modifier leurs indices de réfraction et par conséquent leur habilité à diffuser la lumière. La corrélation entre les modifications de la diffusion lumineuse et l'activité neuronale a été observée *in vitro* dans des cellules neuronales isolées ou en culture [59, 21, 119], dans des tranches cérébrales [81, 83] et *in vivo* sur des animaux [17, 104, 105]. Deux types de variations de la diffusion lumineuse ont été rapportés :

- Un signal rapide possédant un temps de réponse de plusieurs dizaines de millisecondes. Sa corrélation avec les variations de potentiel des membranes neuronales semble devoir attribuer son origine aux variations de l'indice de réfraction de ces membranes.
- Un signal plus lent possédant un temps de réponse de quelques secondes a été décrit dans des tranches cérébrales et *in vivo* chez l'animal [84, 83]. Des arguments ont été avancés en faveur d'une origine liée à l'augmentation du volume des cellules gliales [83].

Observer ces variations de la diffusion lumineuse à travers la tête, de manière non invasive est complexe mais plus attractif, car aisément transposable chez l'homme. Récemment des tentatives de détection du signal rapide de manière non invasive sur l'homme ont été rapportées. Des mesures effectuées à l'aide d'un appareil modulé en intensité ont montré une augmentation transitoire du déphasage dans les cortex visuel [48, 50], auditif [106] et moteur [51], avec une latence de l'ordre de 50-100 ms. Ces variations du déphasage correspondaient à des variations du temps moyen d'arrivée des photons de l'ordre de 1 ps. Ces signaux ont montré une bonne corrélation, temporelle avec le signal électrophysiologique issu de l'EEG, et spatiale avec le signal hémodynamique issu de l'IRMf [49]. Des mesures de variations d'intensité de l'ordre de 0,1% ont montré des comportements similaires dans le cortex moteur [118, 140, 44] et ont suggéré une amélioration de la détection en raison du meilleur rapport signal à bruit de ce paramètre par rapport au déphasage [140].

L'attribution de l'origine de ce signal rapide mesuré à travers la tête à des variations de l'absorption ou de la diffusion est encore controversée. Quelques arguments en faveur de l'absorption ont été apportés par la mesure de variations rapides du signal hémodynamique sur une échelle de 100 ms et leur corrélation avec le signal électrophysiologique [108]. Les arguments en faveur de la diffusion sont plus nombreux et plus convaincants. Ainsi il a été montré que le signal rapide ne dépend pas de la longueur d'onde [140, 44] et que le comportement expérimental de l'intensité et du déphasage s'expliquait plus facilement par des simulations de variations de la diffusion que par celles de l'absorption [44].

Des mesures résolues en temps permettraient d'apporter des arguments significatifs en faveur de l'une des deux origines possibles, car elles devraient permettre une meilleure distinction entre l'absorption et la diffusion. Toutefois la faible amplitude du signal rapide nécessite de rapprocher le rapport signal à bruit de ces techniques de ceux des appareils continus ou modulés en intensité.

Cette partie a permis de mettre le doigt sur certaines des incertitudes concernant l'imagerie optique de l'activité cérébrale. Les systèmes résolus en temps tel le nôtre possèdent des caractéristiques supplémentaires par rapport aux systèmes optiques continus ou modulés en intensité permettant d'espérer faire progresser la compréhension des processus physiologiques de l'activité cérébrale.

# Chapitre II

## Systeme experimental

### Sommaire

II.1	Choix du comptage de photons unique résolu en temps	36
II.2	Instrumentation	37
II.2.1	Source	38
II.2.2	Détection	39
II.2.3	Interfaces optiques	42
II.2.4	Logiciels d'acquisition	46
II.3	Performances du système	48
II.3.1	Sensibilité et efficacité de détection	48
II.3.2	Réponse impulsionnelle	51
II.3.3	Stabilité temporelle	52
II.3.4	Diaphonie	53
II.4	TPSF expérimentale	54



Ce chapitre est consacré à la description du système expérimental mis en place. Nous explicitons les critères ayant guidé le choix d'un système de comptage de photons unique résolu en temps (TCSPC, Time Correlated Single Photon Counting). Nous décrivons l'ensemble du dispositif ainsi que son fonctionnement général, avant de décrire plus précisément chaque élément du système, ainsi que les logiciels d'acquisition développés. Ensuite, les performances de l'ensemble du système de détection sont analysées.

Le premier objectif de ces travaux était de mettre en place un système d'imagerie optique neurofonctionnelle *in vivo*. Le dispositif expérimental doit donc être compatible avec une utilisation dans un environnement clinique. Les impératifs majeurs sont la sécurité du patient et la souplesse d'utilisation de l'appareil. Les normes de sécurité, dont nous discutons plus en détail dans le chapitre VI, imposent une limitation de la puissance lumineuse incidente afin de ne pas endommager les tissus. Nous avons vu au paragraphe I.4 que les variations des propriétés optiques liées aux processus physiologiques de l'activité cérébrale sont principalement localisées dans le cortex cérébral. Or celui-ci est situé à environ 15 à 20 mm de la surface de la tête, ce qui correspond à plus de 100 LPMD. Par conséquent l'appareil doit être capable de détecter un signal lumineux extrêmement faible. C'est pourquoi la sensibilité de détection est un des paramètres clés dans le choix de l'instrumentation. Le dispositif doit également pouvoir être transposable dans un environnement clinique, et donc être relativement robuste aux conditions expérimentales hors d'un laboratoire d'optique.

### II.1 Choix du comptage de photons unique résolu en temps

Comme nous l'avons exposé au paragraphe I.3, aucune méthode d'imagerie directe n'est actuellement capable de traverser une épaisseur de tissu supérieure à 100 LPMD, en considérant l'impératif de travailler à puissance modérée dans les tissus biologiques. Une exception à cette affirmation est le cas de l'imagerie acousto-optique. Malheureusement la boîte crânienne limite fortement la pénétration ultrasonore. L'utilisation de fenêtre spécifique, telles les cavités oculaires ou la fontanelle chez le nourrisson, ou l'utilisation de techniques de focalisation adaptative par retournement temporel [123] sont peut être envisageables. Le développement de telles techniques nécessitent des efforts importants, la TOD, technique plus simple, permet de pénétrer profondément dans les tissus. C'est donc la voie la mieux adaptée à notre cas.

Nous avons défini les trois catégories d'instrumentation utilisables en TOD au paragraphe I.3.2. Les systèmes continus sont les plus simples et les moins coûteux à mettre en œuvre. Malheureusement ils ne mesurent que l'intensité totale, or celle-ci est fortement dépendante des interfaces entre la surface du tissu et les optodes. Un cheveu intercalé entre la surface de la tête et l'optode, par exemple, peut modifier dramatiquement l'intensité totale détectée. Les informations supplémentaires apportées par les appareils fréquentiels ou résolus en temps sont plus robustes à ces problèmes d'interfaces. De plus la seule connaissance de l'intensité totale est insuffisante pour différencier l'absorption de la diffusion lors de la reconstruction tomographique [7]. Nous avons vu au chapitre I que les systèmes résolus en temps sont actuellement ceux qui récoltent le plus d'information. L'encombrement des optodes placées sur la tête limite fortement le nombre de mesures réalisables. Il est donc primordial que l'appareil soit capable de recueillir le maximum d'information à partir d'une seule mesure. Ainsi les systèmes de TOD résolus en temps sont les mieux adaptés à notre cas.

Différents types d'instrumentation permettent la détection résolue en temps. Une caméra à balayage de fente couplée à un laser femtoseconde permet d'atteindre une résolution temporelle de l'ordre de la picoseconde. Ces systèmes sont très performants dans un laboratoire d'optique, mais il est plus difficile de les faire évoluer dans un environnement moins protégé. De plus ils souffrent d'une sensibilité et d'une dynamique temporelle de mesure relativement faibles. Les appareils de comptage de photons résolus en temps sont mieux adaptés à notre cas. En effet leur souplesse d'utilisation ne les prive pas d'une grande sensibilité et d'une large dynamique de mesure. Leur principal inconvénient est que le principe du comptage de photon limite l'intensité des signaux mesurables. Toutefois ils sont les mieux adaptés à des signaux de très faible amplitude.

### Principe du TCSPC :

Cette technique est basée sur la détection périodique de photons uniques. Le temps s'écoulant entre l'émission de l'impulsion lumineuse et l'arrivée éventuelle d'un photon unique est mesuré périodiquement. Le signal temporel (TPSF, Temporal Point Spread Function) est reconstruit par l'accumulation de l'ensemble des photons uniques détectés, en fonction de leurs temps d'arrivée respectifs, comme illustré par la figure II.1. Cette méthode repose sur l'hypothèse que le signal détecté est très faible et que la probabilité ( $P$ ) de détecter au moins un photon durant une période est très inférieur à 1 ( $P \ll 1$ ). Ainsi la probabilité de détection de plusieurs photons durant une même période peut être négligée. La fréquence de détection ( $f_d$ ) est donc liée à la fréquence de répétition du signal incident ( $f_i$ ) par :  $f_d = P f_i$ . Par conséquent  $f_i$  doit être suffisamment élevée pour que la détection d'un nombre significatif de photons ne prenne pas trop de temps.

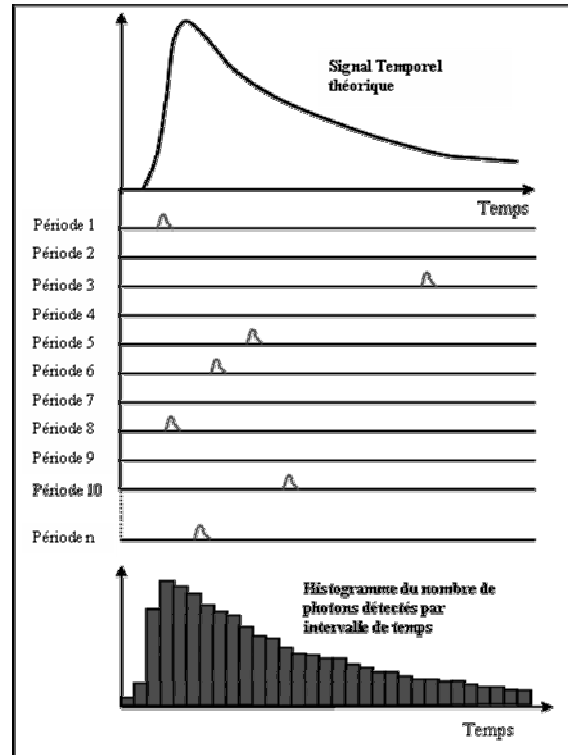


Figure II.1 : Principe du comptage de photon unique résolu en temps.

## II.2 Instrumentation

Nous décrivons maintenant l'ensemble du système mis en place pour l'imagerie neurofonctionnelle *in vivo*. Cet appareil peut se décomposer en quatre éléments principaux. La source est composée d'un système séquentiel de huit diodes lasers picosecondes à quatre longueurs d'onde différentes. Le système de détection consiste en un photomultiplicateur à galette de microcanaux à huit anodes, couplé à un étage de pré amplification et à huit cartes de comptage résolues en temps. Différents types d'interfaces ont été réalisés afin d'ajuster la disposition des optodes autour de l'objet d'intérêt. Enfin les logiciels réalisés afin de piloter l'ensemble du système sont décrits. L'ensemble de l'instrumentation est regroupé sur une table optique mobile, comme illustré par la figure II.2. Les interfaces pour les objets test et les petits animaux sont placées dans une boîte afin de les isoler de la lumière extérieure.

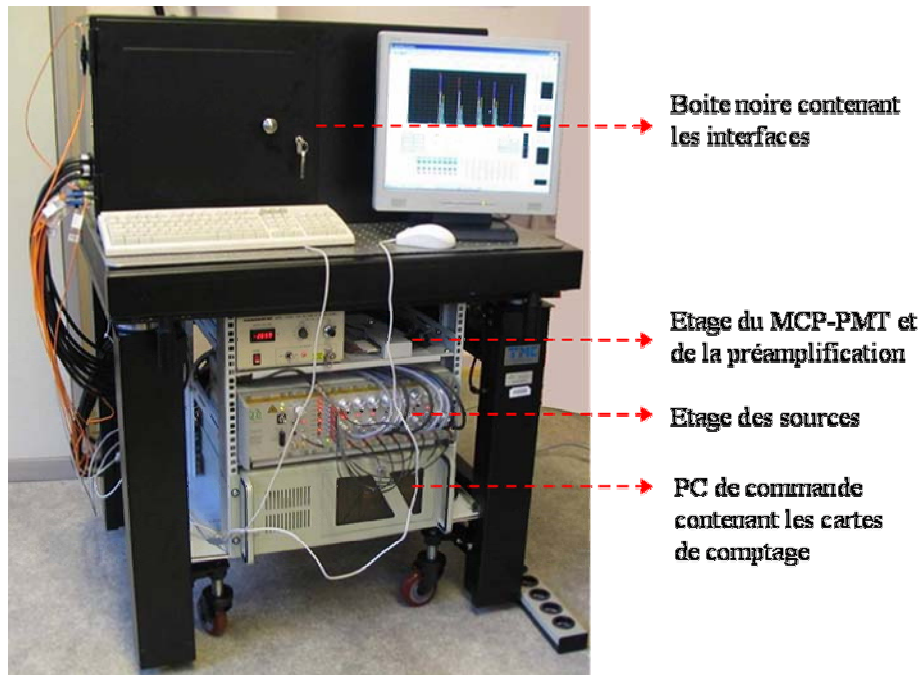


Figure II.2 : Appareil de TOD à comptage de photon résolu en temps.

### II.2.1 Source

Le système de diodes lasers (Sepia PDL 808, PicoQuant GmbH [157]) est composé de quatre parties principales et d'une alimentation générale.

#### Oscillateur.

Il fournit le signal à la fréquence de base pour le déclenchement du train d'impulsions. Il peut être déclenché par un signal externe jusqu'à 80 MHz et un oscillateur interne permet d'obtenir cinq fréquences de base, 5, 10, 20, 40 ou 80 MHz.

#### Séquenceur.

Il permet de répartir séquentiellement le signal de base dans plusieurs voies différentes (de une à huit voies) comme illustré par la figure II.3. La fréquence du signal à la sortie de chaque voie du séquenceur est égale à la fréquence de base à l'entrée divisée par le nombre de voies sélectionnées pour la sortie.

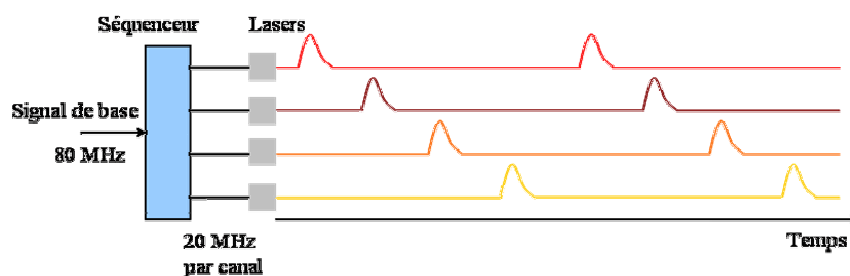


Figure II.3 : Principe de fonctionnement du séquenceur.

### Pilotage des lasers.

Les huit modules de pilotage envoient les signaux nécessaires au déclenchement des diodes laser en fonction du signal qu'ils reçoivent depuis le séquenceur. La fréquence de répétition maximum est de 80 MHz.

### Diodes lasers.

Le système est équipé de deux diodes lasers dans chaque longueur d'onde (690, 785, 830 et 870 nm). Les diodes sont fournies avec un système de collimation et une fibre optique multimode (cœur :  $\varnothing$  50  $\mu$ m) préalablement alignés. La puissance délivrée peut être ajustée. Le constructeur annonce des puissances moyennes et crêtes maximales respectivement de 10 et 400 mW à 80 MHz. La largeur à mi hauteur (LMH) des impulsions a été mesurée grâce à une caméra à balayage de fente (voir paragraphe II.2). Les résultats pour une diode à 785 nm (80 MHz) sont rapportés par la figure II.4. La puissance moyenne a été mesurée avec un photomètre. Une augmentation de la puissance au dessus de 1 mW correspond en fait à un élargissement temporel de l'impulsion. La LMH de l'impulsion reste relativement constante, pour des puissances inférieures à 1 mW, autour de 30 ps.

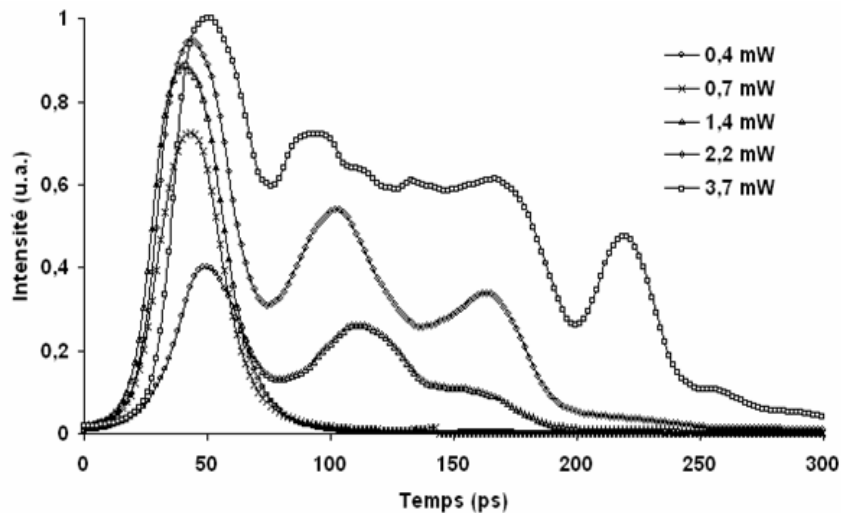


Figure II.4 : Profils temporels des impulsions en fonction de leur puissance moyenne. Mesures à 785 nm et 80 MHz.

### II.2.2 Détection

Le système de détection est composé de trois instruments. La détection des photons est assurée par un photomultiplicateur à galette de microcanaux (MCP-PMT, MicroChannel Plate PhotoMultiplier Tube) à huit anodes (R4110U, Hamamatsu [150]) qui permet d'obtenir huit voies de mesures avec un seul détecteur. Ce type de photomultiplicateur est celui qui possède le temps de réponse le plus rapide. Un stage de pré amplification est réalisé par un amplificateur à large bande (HFAM-26dB-0.1, Becker & Hickl GmbH [146]). Enfin huit cartes de comptage de photons résolues en temps (SPC-134, Becker & Hickl GmbH [148]) sont intégrées dans l'ordinateur (PC industriel, carte mère Robo 678W, Processeur PIII 1 GHz, 2 ports ISA et 12 ports PCI) de commande.

### MCP-PMT.

Un photomultiplicateur, dont le principe est illustré par la figure II.5, est un tube à vide qui contient une photocathode, des étages d'amplification et une anode qui délivre le signal amplifié. La photocathode est constituée d'un matériau semi-conducteur photoémissif qui assure la conversion du photon en photoélectron à l'intérieur du tube à vide. Dans un MCP-PMT l'amplification est réalisée par une, ou plusieurs (2 dans notre MCP-PMT), galette de microcanaux. Il s'agit d'un assemblage compact de tubes de verre élémentaires, de diamètre microscopique disposés en parallèle. L'amplification à l'intérieur d'un canal est réalisée par l'émission d'électrons secondaires lors des chocs contre les parois du canal. Le gain d'amplification dépend de la géométrie des microcanaux et de la tension appliquée aux bornes de la galette. C'est la raison pour laquelle les tensions appliquées sont très élevées (de l'ordre de 3 kV dans notre cas). L'anode permet de collecter l'ensemble des électrons secondaires et de diriger le signal électrique vers les circuits extérieurs du tube à vide.

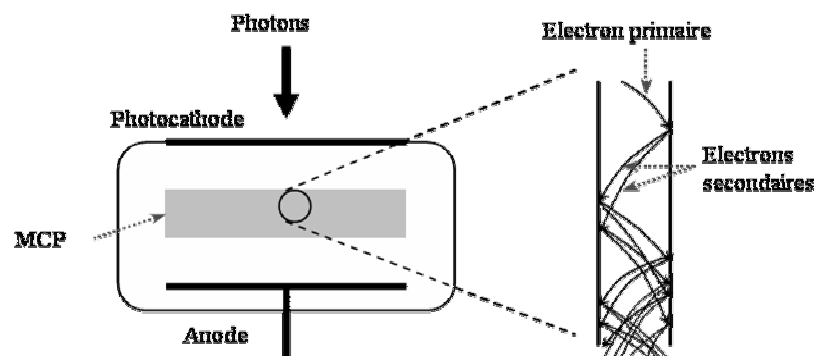


Figure II.5 : Schéma de principe du MCP-PMT.

Grâce à son gain élevé, un PMT est capable de délivrer une impulsion détectable, la réponse à un électron unique (SER, Single Electron Response), même pour un seul photoélectron. En raison de la nature aléatoire du gain du PMT, la distribution en amplitude des impulsions peut être très large. L'intérêt du comptage de photons est qu'il ne mesure pas l'intensité lumineuse en fonction de l'amplitude des impulsions mais en fonction de leur fréquence d'émission. Toutefois il est important que la distribution des SER soit clairement dissociable de celle du bruit afin de pouvoir définir un seuil de discrimination approprié.

L'utilisation d'un MCP-PMT présente deux intérêts principaux pour notre application. Premièrement, du fait de sa conception, la MCP autorise la multiplication des anodes ce qui nous permet d'obtenir huit voies de mesures avec un seul MCP-PMT. Deuxièmement, le temps de transit dans le PMT varie en fonction des conditions d'émission de chaque photoélectron. Dans un MCP-PMT, la faible distance parcourue par les électrons, par rapport aux photomultiplicateurs traditionnels, réduit considérablement le temps de transit et par conséquent la fluctuation du temps de transit (TTS, Transit Time Spread). Le TTS est un paramètre déterminant pour les techniques de comptage de photons. Les caractéristiques principales du R4110U données par le constructeur sont exposées dans le tableau II.1.

L'utilisation d'un MCP-PMT présente également certains inconvénients dont les principaux sont sa plus faible durée de vie et sa fragilité aux fortes intensités lumineuses. Les performances du R4110U peuvent être irrémédiablement et gravement détériorées par une forte puissance lumineuse. Le constructeur préconise de ne pas dépasser un taux de comptage de  $2 \cdot 10^4$  photons par seconde. Toutefois la surveillance du taux de comptage de photons n'est pas suffisante pour assurer la

sécurité du MCP-PMT, le courant sur chaque anode est un bien meilleur critère. En effet quand le courant maximum de sécurité est dépassé, une augmentation de la puissance lumineuse produit une diminution du gain du MCP-PMT en raison de la saturation des microcanaux. L'amplitude des SER peut alors diminuer, passer sous le seuil de discrimination et produire une diminution du taux de comptage. Le courant maximum préconisé par le constructeur pour chaque anode est de 50 nA en continu et de 200 mA en crête.

Rendement quantique photocathode @ 700 nm	7 %
Largeur spectrale où le rendement > 2%	400-880 nm
Gain @ -3 kV	$4,8 \cdot 10^5$
TTS, largeur à mi hauteur @ -3,05 kV	43,7 ps

Tableau II.1 : Caractéristiques principales données par le constructeur du MCP-PMT R4110U.

La lumière incidente est collectée et dirigée vers la photocathode par un ensemble de huit faisceaux de fibres optiques ( $\varnothing$  5 mm) qui assurent l'illumination de la photocathode. La largeur à mi hauteur de la réponse impulsionnelle, donnée par le constructeur, avec les faisceaux de fibres est de 61 ps.

### Préamplificateur.

Cet amplificateur large bande (1,6 GHz, 26 dB) à huit voies permet de pré amplifier les signaux avant leur introduction dans les cartes de comptage. Il possède également une détection de surcharge quand le courant dépasse 0,1  $\mu$ A.

### TCSPC.

Un schéma simplifié d'une carte de comptage de photon est illustré par la figure II.6.

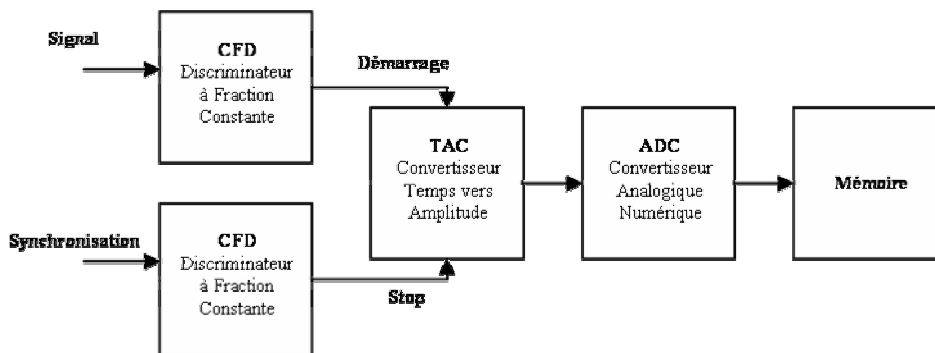


Figure II.6 : Schéma de principe des cartes TCSPC.

La SER pré amplifiée est dirigée vers l'entrée "Signal" de la carte. Nous avons vu que l'amplitude des SER fluctue fortement. Le rôle du discriminateur à fraction constante (CFD, Constant Fraction Discriminator) est de fournir un signal qui soit corrélé aussi précisément que possible avec la localisation temporelle du signal d'entrée, et ceci quel que soit l'amplitude de la SER. 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, comme illustré par la figure II.7. La position temporelle du passage à zéro est indépendante de l'amplitude du signal d'entrée. Ainsi cette méthode permet de limiter les fluctuations temporelles dues aux fluctuations d'amplitudes des différentes SER. Afin de compenser les faibles décalages continus de tension dans les circuits, un paramètre (CFD-ZCL, CFD Zero Crossing Level) permet d'ajuster le niveau du passage à zéro. Le CFD permet également de définir un seuil de discrimination (CFD-LL, CFD Limit Low) pour séparer les impulsions d'entrée du bruit environnant. Les impulsions d'entrées dont l'amplitude est

inférieure au seuil sont rejetées. Le signal de synchronisation provient du signal de déclenchement des diodes lasers. Le traitement de la synchronisation est similaire à celui du signal d'entrée.

Les deux signaux issus des CFD sont délivrés au convertisseur temps-amplitude (TAC, Time to Amplitude Converter). Son rôle est de déterminer la position temporelle du photon détecté par rapport au signal de synchronisation. Le TAC est démarré par une impulsion à son entrée "Démarrage", il génère une rampe linéaire de tension jusqu'à ce qu'une impulsion atteigne son entrée "Stop". Ainsi le TAC génère une tension dépendant linéairement de la position temporelle du photon détecté. Le démarrage du TAC est assuré par le signal plutôt que par la synchronisation car cela permet de réduire sa fréquence de déclenchement, donc les impératifs concernant sa vitesse de fonctionnement. En effet la fréquence du signal, qui est celle de la détection des photons  $f_d$ , est très inférieure à celle du signal de synchronisation  $f_i$ . La largeur totale de la fenêtre temporelle du TAC (TAC-Range) peut être ajustée pratiquement de façon continue de 3,3 ns à 2  $\mu$ s.

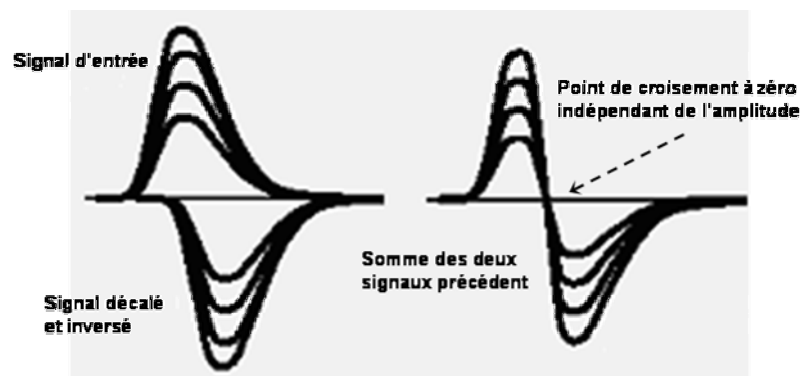


Figure II.7 : Principe du discriminateur à fraction constante.

La numérisation du signal issu du TAC est réalisée par un convertisseur analogique numérique (ADC, Analogic Digital Converter) relié à la mémoire de la carte. La résolution de l'ADC (ADC-Res) peut être ajustée de 6 à 12 bit (64 à 4096 canaux). Conjugué aux performances du TAC, ces caractéristiques permettent l'ajustement de la résolution temporelle de la carte de 800 fs à 31 ns.

La lecture et le stockage des données prennent un certain temps. Il est donc impossible de réaliser une mesure continue avec une seule mémoire. C'est pourquoi la carte est équipée de deux mémoires qui peuvent être remplies et lues séquentiellement. Sous respect de certaines conditions, que nous explicitons dans le paragraphe II.1.2.4, la transition entre les deux mémoires est immédiate. La configuration de la mémoire dépend de la valeur de ADC-Res. Chaque mémoire peut stocker de 32 à 2048 courbes. Chaque courbe est stockée sur une échelle de 16 bits (de 0 à 65535). Le temps d'accumulation des photons avant la lecture des données peut être ajusté de 100  $\mu$ s à plusieurs heures.

Les huit cartes de comptage sont insérées dans un PC qui assure leur contrôle via les logiciels d'acquisition que nous décrivons dans le paragraphe II.1.2.4.

### II.2.3 Interfaces optiques

Selon l'objet d'intérêt placé entre la source et le système de détection, l'interface entre cet objet et l'appareil n'est pas soumise aux mêmes exigences. Nous décrivons les interfaces mises en place pour les mesures sur des objets test et pour les mesures en neurosciences. Nous introduisons

également une troisième interface, actuellement en construction, qui permettra de répondre aux impératifs de l'imagerie du petit animal.

Pour des raisons de souplesse d'utilisation, toutes les interfaces sont réalisées à l'aide de fibres optiques. Le choix de ces fibres doit concilier plusieurs exigences. Le signal à détecter peut être très faible, donc il faut pouvoir récolter le maximum de lumière en un point. Ainsi le diamètre de cœur des fibres doit être relativement important. Toutefois il ne peut pas être augmenté indéfiniment sans compromettre significativement l'approximation de mesures ponctuelles. Une autre possibilité est de choisir des fibres optiques ayant une grande ouverture numérique, mais cette solution augmente la largeur temporelle de l'impulsion par une augmentation de la dispersion modale le long des fibres. La longueur des fibres est également critique, car elle doit permettre une mesure relativement confortable pour le patient, sans compromettre la largeur temporelle des impulsions par la dispersion modale. Ces considérations ont guidées notre choix qui s'est porté, pour la détection des photons diffusés, sur des fibres multimodes (Fiber1000-VIS/NIR, Ocean Optics [154]) de 2 m de longueur, avec un diamètre de cœur de 1 mm et une ouverture numérique de 0,22. L'utilisation de fibres à gradient d'indice aurait permis de réduire la dispersion modale par rapport à la solution adoptée, toutefois nous n'avons pas trouvé de fournisseur pour des fibres de diamètre supérieur à quelques centaines de  $\mu\text{m}$  ce qui est insuffisant pour collecter suffisamment de signal. La solution du faisceau de fibres à gradient d'indice aurait conduit à des optodes de très grand diamètre, ce qui aurait remis en cause le caractère ponctuel des mesures.

Deux systèmes de fibres quadrifurquées (Ocean Optics [154]) permettent de réaliser des mesures à plusieurs longueurs d'ondes au même point. Les quatre fibres sont indépendantes d'un coté (vers les diodes lasers) et sont réunies côte à côte dans le même connecteur de l'autre coté (vers le milieu d'intérêt). Le faible diamètre des fibres (50  $\mu\text{m}$ ) assure que les zones d'illumination des quatre longueurs d'onde puissent être confondues.

### Interfaces pour les objets test.

Les objets test, décrits en détail au chapitre IV, ont deux types de géométrie. Les objets de la première catégorie sont des cylindres de grand diamètre ( $\approx 10$  cm) et de faible hauteur ( $\approx 4$  cm). Les optodes sont placées sur une des faces circulaires, à une certaine distance l'une de l'autre. Les autres objets sont des cylindres de diamètre légèrement inférieur (4 cm) et de plus grande hauteur ( $\approx 8$  cm). Les optodes sont placées sur le coté du cylindre (partie convexe) dans un même plan perpendiculaire à l'axe du cylindre. Ces deux géométries sont illustrées par la figure II.8.

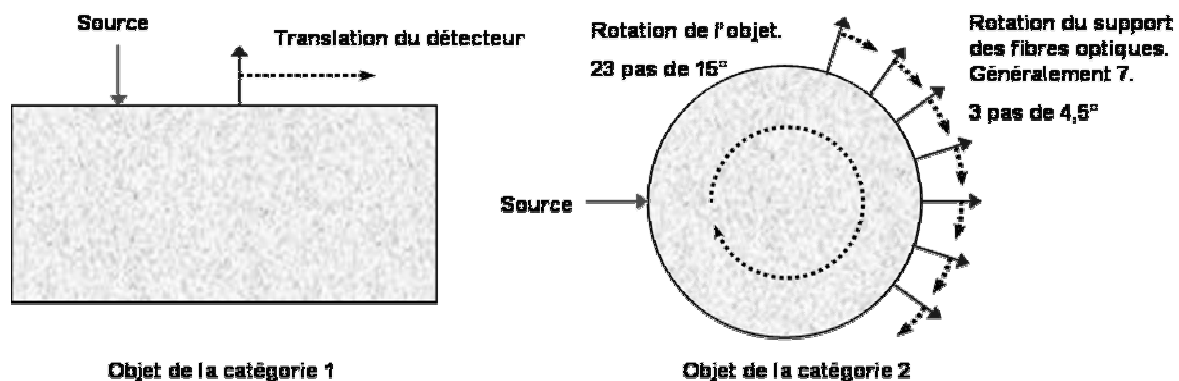


Figure II.8 : Géométrie des deux catégories d'objets test.



Les mesures réalisées sur les objets de la première catégorie utilisent une source et un détecteur. La distance entre les deux optodes peut être ajustée par l'intermédiaire de platines de translation manuelles.

Les mesures réalisées sur les objets de la deuxième catégorie, dans le but de réaliser leur image, nécessitent un grand nombre de mesures. L'interface a été mise en place au laboratoire durant la thèse de V. Zint [145]. Une des deux sources à quatre longueurs d'onde est utilisée. Une des voies de détection est utilisée comme référence. Les sept autres sont disposées autour de l'objet via un support circulaire de diamètre intérieur légèrement supérieur à 4 cm. Les optodes affleurent la surface de l'objet et sont disposées tous les 18°. Elles couvrent ainsi une plage de 108°. Il est difficile d'augmenter cette plage angulaire sans utiliser des filtres pour atténuer les différences d'intensité lumineuse entre les voies de mesure, puisque les gains de chaque voie du PMT sont sensiblement identiques. Trois tables motorisées (HVM 100, DMT65, DMT100, Owis GmbH [155]) soutiennent le support et permettent le déplacement de l'objet afin d'augmenter le nombre de mesures. Le premier moteur réalise un déplacement vertical ce qui permet de modifier le plan de mesure des optodes. Le deuxième moteur assure la rotation du support des optodes ce qui permet d'augmenter la largeur et la résolution angulaire de la plage de mesure. Typiquement quatre positions du support permettent l'enregistrement de 28 profils temporels. Ceci autorise une plage angulaire de mesure de 121,5° avec une résolution de 4,5°. Le dernier moteur permet la rotation de l'objet à l'intérieur du support. Typiquement un balayage de l'ensemble de la surface, tous les 15°, permet de porter le nombre de mesures à 672. Avec un temps d'accumulation de 10 s, l'ensemble du processus dure une quinzaine de minutes.

### **Interfaces pour les neurosciences.**

La tête impose des contraintes différentes. On peut difficilement placer le patient à l'intérieur d'une boîte noire. Donc il faut que l'interface puisse isoler les optodes de la lumière extérieure. De plus la surface en contact avec les optodes est le plus souvent recouverte de cheveux. Comme nous l'avons dit au chapitre I, suivant leur pigmentation les cheveux peuvent être très absorbants dans le PIR. Afin de ne pas trop limiter le choix de nos patients, il faut pouvoir s'affranchir des problèmes liés à l'intercalage de cheveux entre la peau et l'optode. Il faut également pouvoir placer un nombre suffisant de détecteurs autour de la tête, sans nuire à la stabilité de l'ensemble. Enfin l'interface doit être suffisamment souple pour assurer un confort acceptable au patient qui doit subir une épreuve pouvant durer plusieurs dizaines de minutes. Une interface trop encombrante pourrait modifier significativement l'objet de notre intérêt, l'activité cérébrale.

De nombreuses interfaces ont été envisagées et expérimentées. Nous décrivons deux de ces interfaces, celles satisfaisant le mieux aux exigences exposées ci-dessus.

La première catégorie d'interface repose sur l'utilisation d'un matériau thermoplastique (WFR Aquaplast [161]) qui est modelé à la forme de la tête du patient, voir figure II.9. Des connecteurs sont montés sur le casque ainsi réalisé, ils permettent d'amener les fibres optiques en contact avec la tête. Les avantages de ce casque sont intéressants, notamment car les optodes sont bien isolées de la lumière extérieure. Il est également aisé de disposer précisément un grand nombre de fibres, même autour d'une petite région d'intérêt. Par contre cette interface impose une phase de fabrication sur mesure du casque relativement fastidieuse. De plus le contact entre la fibre optique et la peau est difficilement contrôlable car le casque en bloque tout accès. La stabilité du signal optique s'en trouve fortement affectée.

Afin d'améliorer la stabilité du signal optique, nous avons mis au point un deuxième type d'interface, voir figure II.10. Son concept est basé sur l'adaptation d'un casque EEG (Casque Reega, Medical Equipement International [152]), largement répandu dans les milieux cliniques. L'avantage principal de ce casque est que le contact entre la peau et les optodes est beaucoup mieux maîtrisé. Par conséquent la stabilité du signal optique est significativement améliorée. Cet atout est précieux pour la réalisation de notre objectif principal, la détection des faibles variations du signal optique liées à l'activité cérébrale. Toutefois ce système devient relativement difficile à maîtriser, dès que le nombre d'optodes augmente significativement. L'isolation de la lumière extérieure est réalisée par un tissu absorbant entourant l'ensemble du dispositif.

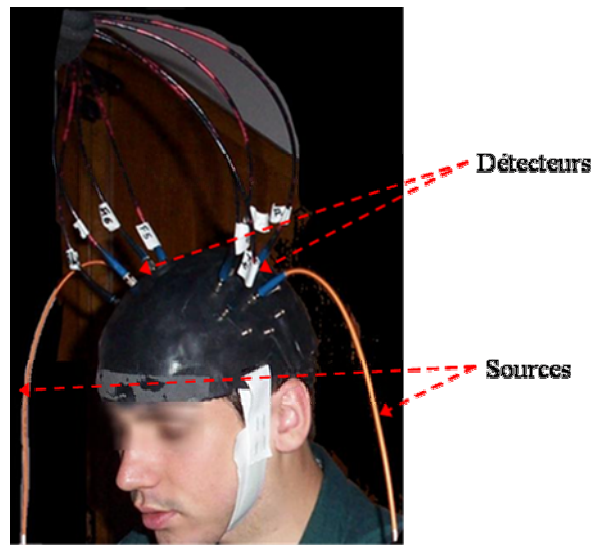


Figure II.9 : Casque thermoplastique pour la TOD neurofonctionnelle.

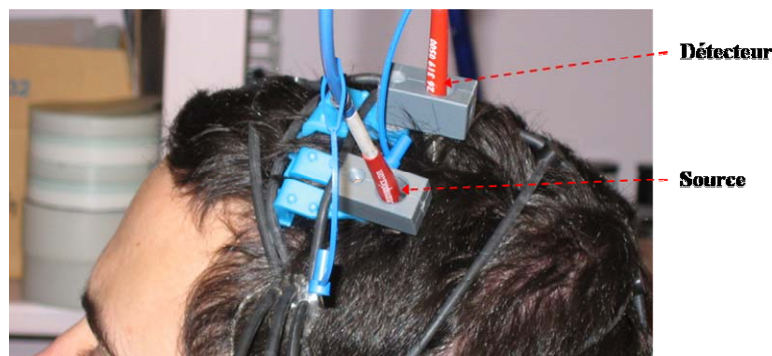


Figure II.10 : Casque EEG adapté pour la TOD neurofonctionnelle.

La position du patient durant l'expérience est importante. En effet nous avons vu au chapitre I que le LCR entourant le cerveau est faiblement diffusant. Nous verrons au chapitre III, qu'en raison de ces propriétés particulières, la propagation lumineuse dans la tête est fortement influencée par le LCR. Or le cerveau étant suspendu dans l'ESA contenant le LCR, la position de la tête par rapport au champ de pesanteur modifie l'épaisseur de la couche de LCR. La figure II.11 illustre ce problème. Deux IRM ont été réalisées à deux positions différentes, allongé sur le dos ou sur le ventre. Deux coupes axiales pondérées en T2, représentant approximativement le même plan, montrent la différence d'épaisseur de la couche de LCR (signal clair).

### Interfaces pour le petit animal.

L'imagerie du petit animal n'entre pas dans le cadre de cette thèse. Toutefois nous avons entrepris l'adaptation de notre système dans ce but. Nous exposons les raisons de ce choix dans le chapitre V, concernant les perspectives de ces travaux.

La conception de l'interface est guidée par le choix que nous avons fait d'un système d'imagerie sans contact [107]. En plus de l'adaptation de l'interface pour les objets test, il faut installer un système capable de déterminer la surface 3D de l'animal. Un système conoscopique est en cours de montage afin d'effectuer cette tâche. Nous reviendrons plus en détail sur ce système au chapitre V.

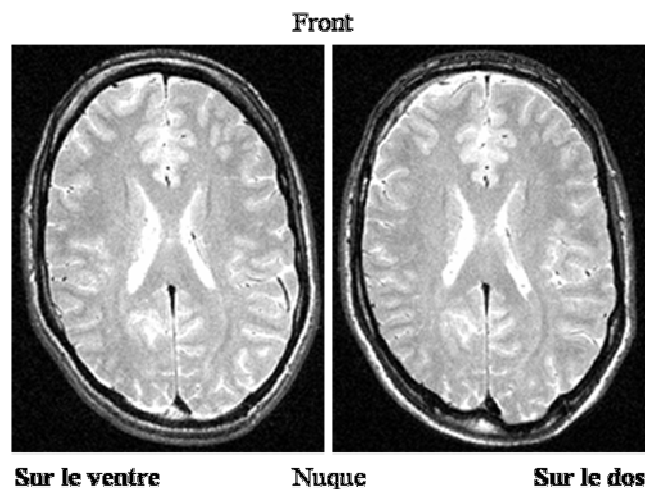


Figure II.11 : IRM à deux positions différentes, allongé sur le dos ou sur le ventre. Coupes axiales pondérées en  $T_2$ . Le LCR apparaît en clair.

#### II.2.4 Logiciels d'acquisition

Nous avons développé deux logiciels d'acquisition car les mesures des objets test et celles *in vivo* n'ont pas les mêmes impératifs. Pour les objets test il faut pouvoir piloter les moteurs de l'interface concernée. De plus la mesure continue, donc l'utilisation séquentielle des deux mémoires des cartes, n'est pas utile puisque il faut un certain temps au moteur pour positionner correctement les optodes autour de l'objet. Pour les mesures *in vivo* les moteurs sont inutiles et la mesure continue est un atout très important.

Nous avons utilisé le langage de programmation graphique Labview (National Instruments [153]) en raison de sa disponibilité au laboratoire d'une part, et du fait que les pilotes des moteurs et des cartes de comptage de photons étaient fournis dans ce langage d'autre part.

##### Logiciel pour les objets test.

Ce logiciel a été réalisé au laboratoire durant le stage de J.L. Brulez. Il permet de piloter les moteurs et les cartes de comptage en mode non continu.

##### Logiciel pour les neurosciences.

Les mesures *in vivo* à l'aide de l'interface pour la tête ne nécessitent pas de déplacements des optodes, elles peuvent donc se faire en continu. De plus quand on veut suivre avec une grande

résolution temporelle un évènement aussi long que la réponse hémodynamique (au moins une dizaine de secondes), la mesure continue revêt même un caractère indispensable. Nous avons donc réalisé un autre logiciel qui ne pilote que les cartes de comptage et utilise le mode séquentiel des deux mémoires. La figure II.12 présente l'interface graphique de ce logiciel.

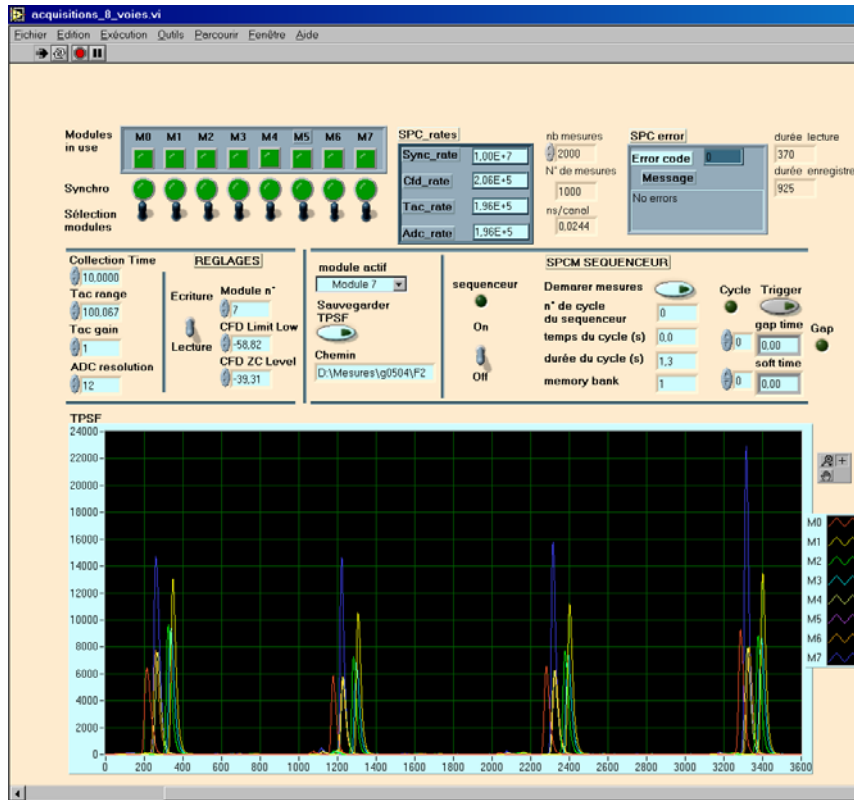


Figure II.12 : Interface graphique du logiciel d'acquisition *in vivo*.

Nous avons dit que la mesure en continu n'est possible que sous certaines conditions. En particulier il faut que le temps de lecture des données sur une des deux mémoires des cartes ne soit pas plus long que le temps d'écriture. De plus Labview ne permet pas le traitement de données, ou l'écriture sur le disque dur du PC, en parallèle du pilotage des cartes. La limitation est donc que la somme des temps de lecture et de stockage sur le disque dur du PC soit inférieure au temps d'écriture sur une mémoire.

Le temps d'écriture sur une mémoire des cartes dépend de sa configuration (nombre de courbes stockées entre 32 et 2048), donc de la valeur de ADC-Res. Il dépend également du temps d'accumulation d'une courbe. Par exemple avec ADC-Res à 12 (32 courbes stockés) et le temps d'accumulation à 50 ms il faut 1,6 s pour écrire sur une mémoire.

Le temps de lecture d'une mémoire est d'environ 150 ms. Le temps d'écriture sur le disque dur des données stockées sur une mémoire est d'environ 250 ms. Ainsi le temps total de stockage des données est d'environ 400 ms par carte, donc environ 3,2 s pour les huit cartes.

Si on reprend l'exemple précédent (ADC-Res à 12 et accumulation pendant 50 ms, donc 1,6 s d'écriture) on remarque que l'on ne peut pas utiliser les huit cartes avec une telle configuration car le temps de stockage est de 3,2 s. Pour réaliser la mesure il faut soit sacrifier la résolution temporelle microscopique (diminuer ADC-Res) ou macroscopique (augmenter le temps d'accumulation), soit diminuer le nombre de voies de mesures.

En résumé les résolutions temporelles macroscopiques (100  $\mu$ s) et microscopiques (800 fs) maximales sont très grandes mais ne peuvent pas être atteintes simultanément de façon continue, en particulier en utilisant toutes les cartes de comptage. Chaque mesure nécessite donc un compromis entre les résolutions souhaitées et le nombre de points de mesures.

### II.3 Performances du système

Après avoir décrit les performances individuelles des éléments constitutifs du système, nous allons maintenant évaluer ses performances dans son ensemble.

#### II.3.1 Sensibilité et efficacité de détection

La dégradation du rapport signal à bruit (RSB) d'un PMT est la conséquence de nombreux effets. L'avantage du comptage de photons est que théoriquement, le RSB du nombre de photons détectés est uniquement limité par le bruit Poissonien inhérent à la nature stochastique de la détection photonique. Dans un système réel il existe également un bruit de fond qui peut toutefois être fortement diminué grâce à un réglage adéquat des paramètres du CFD.

##### Rapport signal à bruit.

Lorsque le système est sous tension il fournit un signal même lorsqu'il ne reçoit aucun photon. Ce signal d'obscurité a pour origine la génération thermique de porteurs de charges à l'intérieur du MCP-PMT. Cette génération est régie par une statistique poissonnienne, ainsi le bruit associé à ce signal est égal à la racine carrée du nombre de charges thermiques. Le signal d'obscurité varie linéairement avec le temps d'accumulation, ainsi un ajustement linéaire du signal mesuré pour des temps d'accumulation croissant de 1 à 100 s donne un signal d'obscurité de 0,45 photons par canal et par seconde ( $\text{ph.can}^{-1}.\text{s}^{-1}$ ). L'ajustement de l'écart type des fluctuations du signal d'obscurité par un multiple de la racine carrée du temps d'accumulation donne un bruit d'obscurité ( $b_{\text{obs}}$ ) de 0,66  $\text{ph.can}^{-1}.\text{s}^{-1}$  en parfait accord avec la valeur théorique comme illustré par la figure II.13. Lors d'une mesure le bruit de photons ( $b_{\text{ph}}$ ), également poissonnien, lié à la nature de la détection photonique vient s'ajouter quadratiquement au bruit d'obscurité ( $b_{\text{tot}}^2 = b_{\text{ph}}^2 + b_{\text{obs}}^2$ ). Afin de comparer ce bruit total ( $b_{\text{tot}}$ ) théorique au bruit expérimental du système nous éclairons le détecteur avec une lumière continue (ampoule à filament « classique »). L'ajustement linéaire du signal donne une valeur de 9,7  $\text{ph.can}^{-1}.\text{s}^{-1}$ , après soustraction du signal d'obscurité, ce qui correspond à des valeurs théoriques du bruit de photon de 3,1  $\text{ph.can}^{-1}.\text{s}^{-1}$  et du bruit total de 3,2  $\text{ph.can}^{-1}.\text{s}^{-1}$ . La figure II.14 illustre l'accord de cette valeur théorique avec l'écart type des fluctuations du signal valant également 3,2  $\text{ph.can}^{-1}.\text{s}^{-1}$ .

##### Post impulsions.

Dans la plupart des PMT, des impulsions secondaires peuvent apparaître durant une période comprise entre quelques dizaines à quelques centaines de nanosecondes après la détection d'un photon. Ceci peut provoquer une augmentation du bruit de fond. Cet effet provient principalement de phénomènes de luminescence des matériaux du PMT ou d'ionisation des gaz résiduels dans le tube. Une mesure à très basse fréquence d'excitation a été réalisée avec un laser à 785 nm (voir figure II.15). Aucune apparition significative de post impulsions n'est observée.

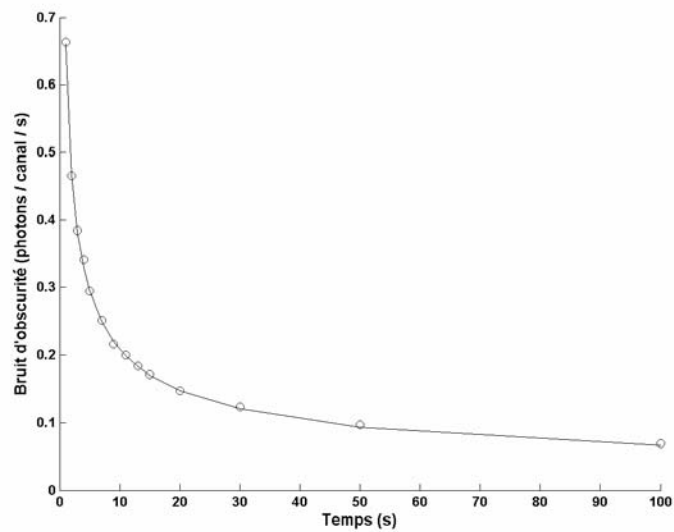


Figure II.13 : Bruit d'obscurité en photons par canal et par seconde en fonction du temps d'accumulation (cercle vide). La ligne continue est l'ajustement en  $(\text{Temps})^{-1/2}$ .

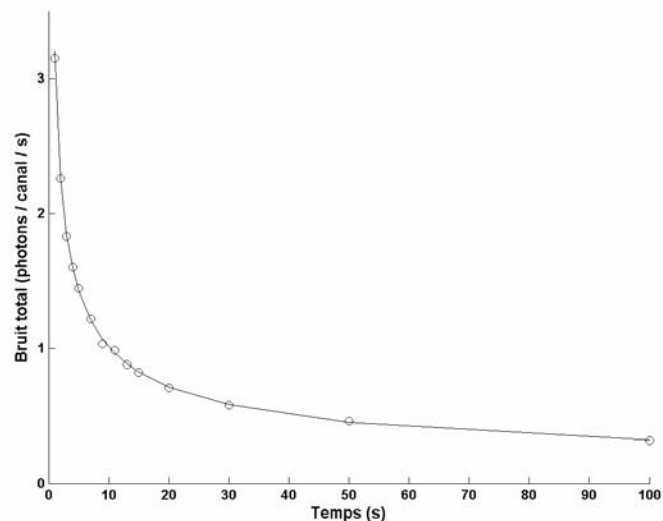


Figure II.14 : Bruit total en photons par canal et par seconde en fonction du temps d'accumulation (cercle vide) pour un signal de  $9,7 \text{ ph.can}^{-1}.\text{s}^{-1}$ . La ligne continue est le bruit total théorique c'est-à-dire la somme quadratique du bruit d'obscurité et du bruit de photons.

### Réflexions parasites.

Les réflexions au niveau des interfaces optiques, et notamment les terminaisons des fibres optiques, peuvent introduire des impulsions parasites d'amplitude significative (voir notamment la figure II.15). Il est délicat de se débarrasser de telles réflexions, et il est plus aisé de s'assurer qu'elles ne chevauchent pas la TPSF. En effet les fibres optiques utilisées ont des longueurs suffisamment importantes (2 m soit  $\sim 20 \text{ ns}$  pour faire l'aller retour) pour repousser les réflexions loin de la zone du signal d'intérêt.

**Linéarité de la plage de mesure.**

La réponse produite par le TAC et l'ADC n'est pas parfaitement linéaire. Ceci peut introduire une variabilité de la largeur des canaux temporels et par conséquent une distorsion de la TPSF. Afin de remédier à ce problème les cartes de comptage comportent un système de correction des erreurs. Son principe de fonctionnement repose sur le moyennage des non linéarités de l'ADC sur un certain nombre de canaux. Du nombre de canaux alloués à cette correction dépend la qualité de la linéarité du système, mais également la diminution consécutive du nombre de canaux affectés à la mesure. La figure II.16 illustre une évaluation de la linéarité par le biais d'une mesure de la réponse à une lumière continue. Les 256 premiers et derniers canaux sont sacrifiés pour la correction. Ce sacrifice assure une linéarité satisfaisante sur le reste de la plage de mesure.

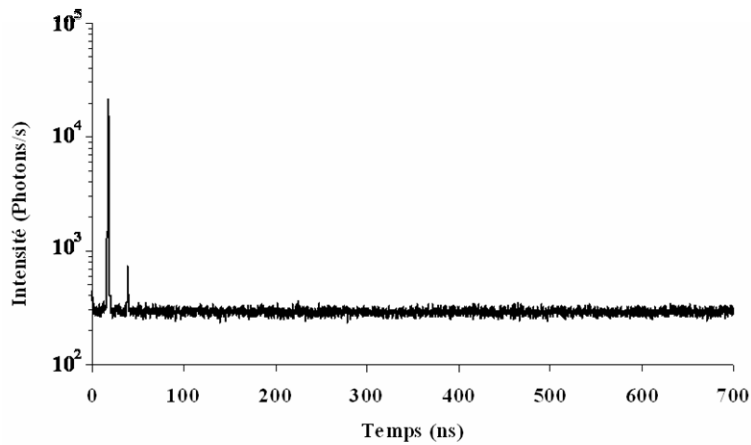


Figure II.15 : Mesure des post impulsions éventuelles. La faible impulsion suivant l'impulsion principale est due à une réflexion.

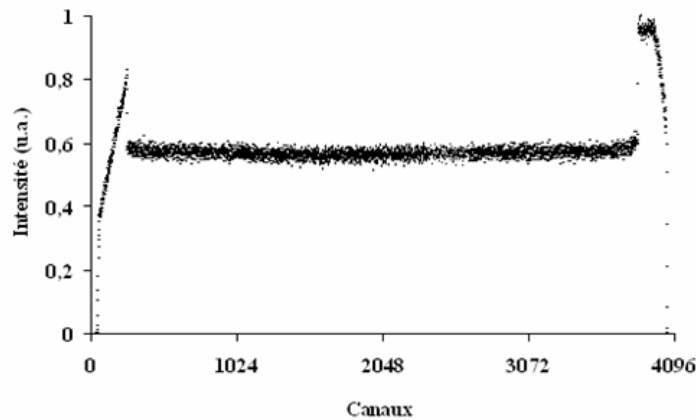


Figure II.16 : Linéarité de la réponse des 4096 canaux de mesure.

**Temps mort.**

Le TAC, et à plus faible amplitude le MCP-PMT, saturent pour des taux de comptage élevés à cause du phénomène de temps mort. Après la détection d'un photon il faut un certain temps pour que MCP-PMT puisse délivrer à nouveau une SER détectable, et pour que le TAC se remette à zéro. Le temps mort du MCP-PMT n'est pas donné par le constructeur. Celui du TAC est de 125 ns. Pour des faibles taux de comptage, tels ceux qui nous sont imposés par la sensibilité du MCP-PMT aux grandes intensités, la perte de taux de comptage est très faible [110]. Cet effet est donc négligeable pour notre application.

**Effet d'empilement.**

Une voie de détection ne peut pas enregistrer l'arrivée d'un deuxième photon lors d'une même période. La probabilité de l'arrivée, et de la perte, de ce deuxième photon augmente pour les photons tardifs. Ainsi la TPSF est distordue par cet effet. Cet effet n'est significatif que pour des taux de comptage élevés [11] (quelques pourcentages de la fréquence de la source). Nous avons déjà précisé que le taux de comptage est limité par le MCP-PMT à environ 0,1 % de la fréquence excitatrice. Cet effet est également négligeable pour notre application.

**II.3.2 Réponse impulsionnelle**

Les conditions expérimentales peuvent varier entre deux mises en route de l'ensemble des appareils. Il est donc nécessaire de calibrer chaque série de mesures. On considère la réponse impulsionnelle du système (RIS) et la réponse impulsionnelle de l'objet (RIO) à une impulsion source de Dirac. La RIO, signal d'intérêt, est le signal théorique que l'on détecterait à la surface de l'objet, en l'excitant avec une impulsion source de Dirac. Le signal effectivement détecté est la convolution de la RIS et de la RIO. Les éléments qui contribuent majoritairement à l'élargissement temporel de l'impulsion issue des sources, sont les fibres optiques et les faisceaux de fibres, le MCP-PMT et l'électronique de détection. L'ajustement optimal des paramètres du CFD est un réglage également très critique.

Evaluer la RIS consiste donc à mesurer un objet dont la RIO est une impulsion de Dirac. Cette condition est pratiquement réalisée en plaçant le détecteur en contact direct avec la source. Le problème est que cette mesure nous est impossible, car le MCP-PMT est trop sensible aux grandes intensités lumineuses. La solution est de réaliser un objet qui atténue fortement le signal optique, et qui possède une RIO la plus proche possible d'une impulsion de Dirac. Cet objet de calibration est un tube en verre contenant de l'eau et de l'encre de chine. L'atténuation de la lumière par l'encre de chine, peut être ajustée précisément et avec une grande dynamique. L'objet est placé entre la source et le détecteur placés à 180°, dans le support circulaire décrit ci-dessus. Afin de mesurer l'influence des réflexions au niveau des parois du tube de verre sur l'allure de la RIS, nous avons comparé deux RIS mesurées avec le tube droit ou incliné (voir la figure II.17). Ce phénomène n'induit aucune variation significative des caractéristiques de la RIS, dont la largeur à mi hauteur est égale à 130 ps dans les deux cas, comme indiqué par le tableau II.2.

Cette configuration pose encore un problème. En effet le détecteur (cœur :  $\varnothing$  1 mm) se trouve à 4 cm de la source (cœur :  $\varnothing$  50  $\mu$ m). Donc l'ouverture numérique sous laquelle le détecteur voit la source est de l'ordre de 0,013. Lors d'une mesure sur un objet diffusant, la lumière provient de tous les angles d'incidence possibles. Or la fibre de détection a une ouverture numérique de 0,22. Ainsi la dispersion modale introduite par la fibre de détection est pratiquement nulle lors de la calibration, alors qu'elle n'est pas négligeable lors d'une mesure. Afin de remédier à ce problème, nous introduisons une fine paroi diffusante (papier blanc) entre l'objet de calibration et le détecteur. Tous les modes de propagation sont alors présents dans la fibre, comme dans le cas d'une mesure. Afin de mesurer l'influence directe du papier diffusant sur la RIS nous avons mesuré deux RIS avec un ou deux papiers mis l'un sur l'autre. Les différentes RIS représentées sur la figure II.17 montrent que l'élargissement de la RIS n'est pas imputable directement au papier diffusant, mais bien aux conséquences induites par l'illumination de tous les modes de propagation dans la fibre. La largeur à mi hauteur de la RIS de notre système, mesurée avec une des diodes à 785 nm (à faible puissance moyenne  $\sim$  0,5 mW) est donc de 260 ps. La RIS de l'instrument est la somme quadratique des RIS des différents éléments constitutifs. Ainsi en tenant compte des RIS du MCP-PMT (61 ps) et des



diodes lasers (30 ps), on peut évaluer la RIS due à l'ensemble de l'électronique à environ 110 ps, et celle due à la dispersion modale dans les fibres optiques de détection à environ 225 ps.

Type d'objet de calibration	RIS largeur à mi hauteur (ps)
RIS (sans papier)	130
RIS (sans papier, tube incliné)	130
RIS (avec un papier)	260
RIS (avec deux papiers)	260

Tableau II.2 : Caractéristiques de la RIS en fonction de l'objet de calibration.

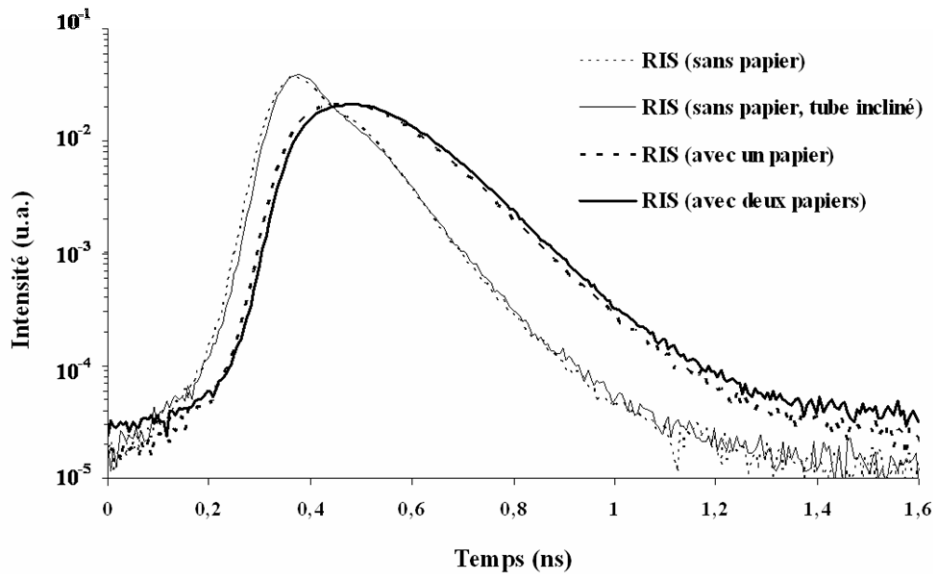


Figure II.17 : RIS en fonction de l'objet de calibration.

### II.3.3 Stabilité temporelle

Lors d'expériences relativement longues, les conditions expérimentales peuvent évoluer de manière significative au cours d'une mesure. Par exemple l'intensité lumineuse ou l'intervalle de temps entre le signal de synchronisation du système Sepia et l'impulsion laser peuvent fluctuer au cours du temps. Afin de remédier à ce problème, une des voies de mesure est utilisée comme référence temporelle. Un filtre est placé entre la source et la détection. La solution la plus évidente est de prélever une partie de la source, via un coupleur et de l'envoyer dans la voie de référence. Une deuxième possibilité est d'utiliser un autre laser comme voie de référence. La variation du temps moyen d'un laser à 785 nm a été mesurée et corrigée suivant les deux solutions exposées durant une période de deux heures à une fréquence de 1 Hz (tableau II.3 et figure II.18). Le temps moyen du signal temporel subit une dérive (lente variation au cours de la mesure) de près de 200 ps. Les fluctuations (variations rapides définies par l'écart type) après une période de chauffe de 20 minutes sont de l'ordre de 30 ps. Après correction par la référence, la dérive est éliminée et les fluctuations sont réduites à moins de 5 ps. On remarque que les deux références apportent une correction quasiment équivalente.

L'écart type des variations de l'intensité totale du laser au cours des deux heures est de l'ordre de 2 %. Dans ce cas la correction par l'une ou l'autre des deux méthodes est pratiquement sans incidence car l'intensité totale est généralement relativement stable. Toutefois la stabilité de

l'intensité non corrigée varie d'un jour à l'autre. Dans ce cas la voie de référence permet de ramener la variation de l'intensité à cette valeur de 2 %.

Types de mesures	Ecart type (ps)	Ecart type de 20 min à 2 h (ps)
Temps moyen relatif	51,1	32,7
Temps moyen relatif correction 1	5,3	4,8
Temps moyen relatif correction 2	8,2	4,2

Tableau II.3 : Stabilité temporelle du temps moyen. Ecart type de la variation du temps moyen relativement à la première mesure avant et après correction par la référence. Ecart type sur toute les mesures et écart type après une durée de chauffe de 20 minutes. Correction 1 : référence avec le coupleur. Correction 2 : référence avec un autre laser.

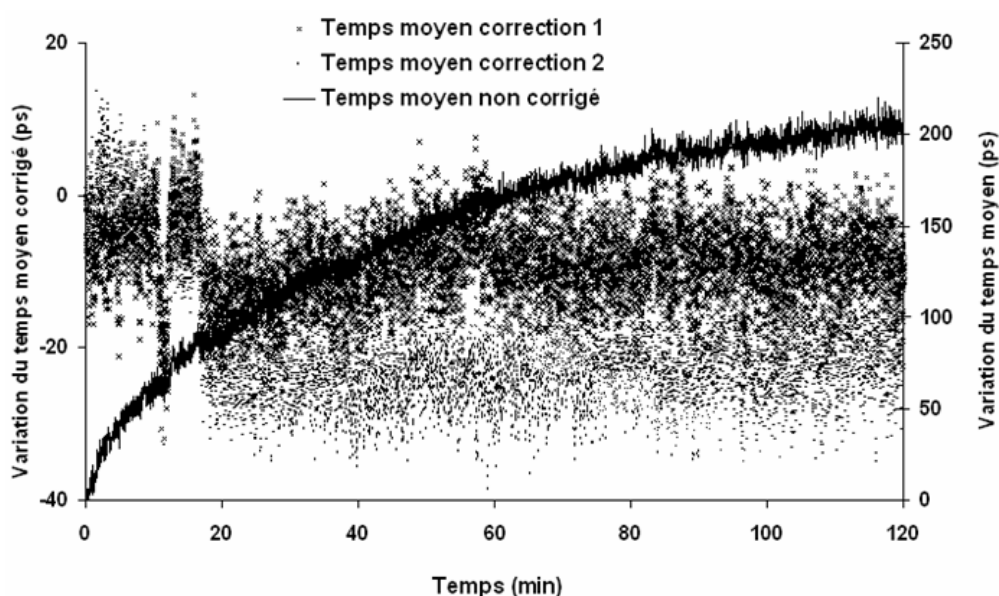


Figure II.18 : Stabilité temporelle du temps moyen du laser. Variations du temps moyen relativement à la première mesure (ligne continue). Correction 1 : référence avec le coupleur (croix). Correction 2 : référence avec un autre laser (points).

La correction par la voie de référence avec le deuxième laser est plus simple à mettre en œuvre et permet d'utiliser toute la lumière pour illuminer la tête. Or même si à première vue elle peut paraître moins justifiable que l'autre solution, elle améliore la stabilité temporelle de l'appareil de façon équivalente. La raison de cette efficacité est que les fluctuations des différents lasers suivent des évolutions très similaires car ils sont tous pilotés par le même signal de base. Ainsi nous utilisons généralement une des voies de mesure comme référence en mesurant le profil temporel d'un autre laser.

### II.3.4 Diaphonie

Il existe une diaphonie entre les différentes voies de mesure, principalement dans le MCP-PMT. Il est probable que la cause principale soit la diaphonie électronique entre les différentes voies du MCP-PMT. En effet la diaphonie optique en amont de la photocathode est fortement réduite par l'utilisation des faisceaux de fibres. La figure II.19 illustre une évaluation de la diaphonie. Une seule voie de mesure est éclairée, et l'intensité est mesurée sur une voie adjacente et sur une voie opposée du MCP-PMT en fonction du réglage des paramètres du CFD (CFD-LL et

CFD-ZCL). La diaphonie est évaluée comme le pourcentage du maximum du signal d'une voie non éclairée, relativement à la voie illuminée. Les paramètres du CFD se révèlent critiques pour l'optimisation de la diaphonie. Avec un réglage correct, il est possible d'annuler la diaphonie ( $< 5 \cdot 10^{-4} \%$ ) sur la voie opposée. Par contre la voie adjacente conserve une diaphonie non négligeable même en optimisant les réglages (diaphonie minimale de 0,6 %). Dans le cas de mesures de signaux d'amplitudes très différentes sur des voies adjacentes, le faible pourcentage de diaphonie peut devenir significatif sur la voie de faible amplitude. Toutefois, sous réserve de prendre les précautions nécessaires, la diaphonie peut être négligée dans les mesures.

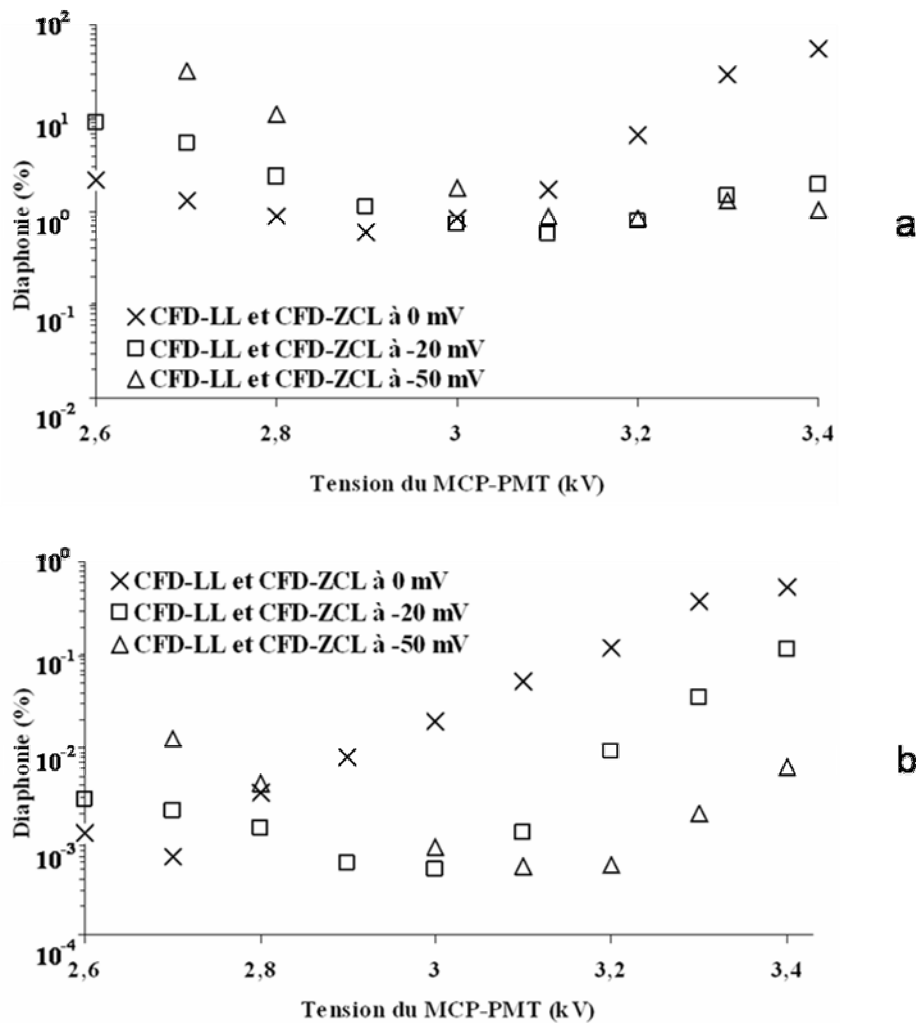


Figure II.19 : Diaphonie en fonction du réglage des paramètres du CFD.  
a: Diaphonie dans une voie adjacente. b: Diaphonie dans une voie opposée.

#### II.4 TPSF expérimentale

Dans ce paragraphe, la TPSF mesurée grâce à l'instrumentation décrite ci-dessus est comparée au signal théorique. L'objet test est un cylindre homogène ( $\varnothing$  10 cm et hauteur 4 cm) de coefficient d'absorption  $\mu_a = 0,007 \text{ mm}^{-1}$  et de coefficient de diffusion réduite  $\mu'_s = 0,7 \text{ mm}^{-1}$ . La source et le détecteur sont espacés de 35 mm et placés autour du centre d'une des deux faces. Le modèle suppose que l'objet est un milieu semi infini et utilise l'équation I.24 décrite au chapitre I. Le signal théorique est convolué par la RIS du système et est normé à l'intensité totale de la TPSF

expérimentale. La figure II.20 illustre que la TPSF expérimentale émergente du bruit est en bon accord avec la courbe théorique convoluée.

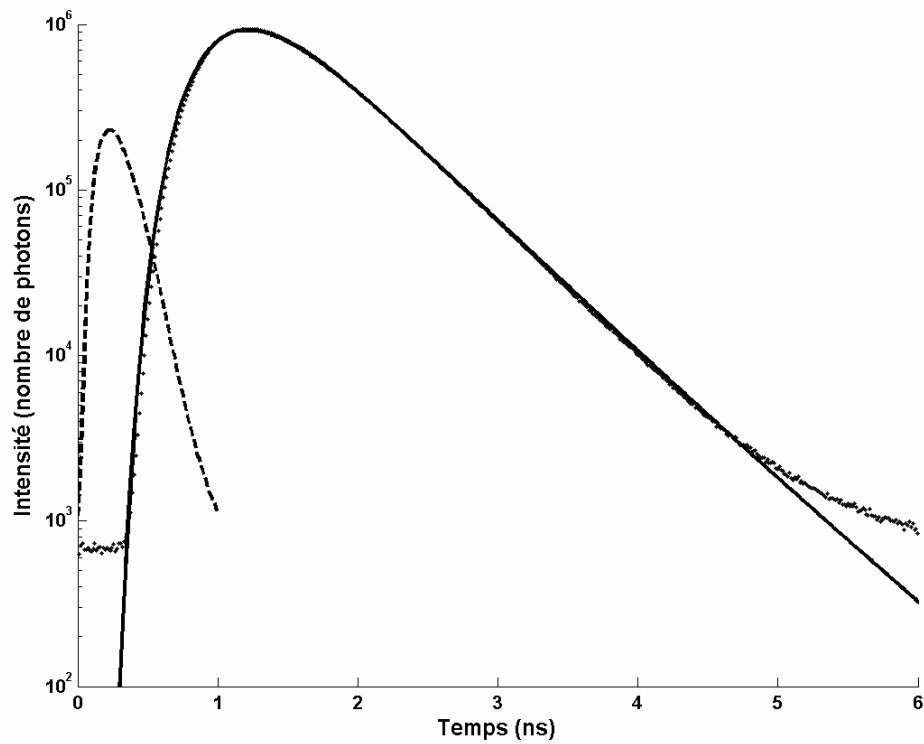


Figure II.20 : Comparaison d'un profil temporel expérimental (ligne en pointillé) et théorique (ligne continue) convolué par la RIS du système (ligne discontinue).



# Chapitre III

## Méthodes pour la reconstruction d'images

### Sommaire

III.1	Reconstruction d'images tomographiques	58
III.1.1	Simulation du problème direct	59
III.1.1.1	Initialisation du système matriciel	60
III.1.1.2	Paramètres caractéristiques des TPSF	61
III.1.2	Extraction et prétraitement des données expérimentales	64
III.1.3	Problème inverse	65
III.1.3.1	Cartes de sensibilité	65
III.1.3.2	Résolution linéaire du problème inverse	66
III.1.3.3	Résolution non linéaire du problème inverse	66
III.2	Informations fonctionnelles	67
III.2.1	TOD moléculaire	67
III.2.2	Paramètres fonctionnels en topographie résolue en temps	68
III.2.2.1	Mesures absolues des concentrations	70
III.2.2.2	Variations relatives quantitatives de concentrations	71
III.2.2.3	Loi de Beer-Lambert microscopique	72
III.3	Imagerie cérébrale	74
III.3.1	Simulation par la méthode des éléments finis	75
III.3.1.1	Modélisation de la tête et de l'activité cérébrale	75
III.3.1.2	Propagation lumineuse dans la tête	78
III.3.1.3	Cartes de sensibilités cérébrales	80
III.3.2	Méthodes pour l'imagerie cérébrale	82
III.3.2.1	Cartes de variations d'absorption résolues en temps	83
III.3.2.2	Topographie	84

Reconstruire des images de TOD nécessite la résolution d'un problème inverse, ce qui est rarement une entreprise triviale. Nous décrivons les algorithmes pour la reconstruction d'images en deux dimensions (2D) dans le cas d'objets test, car ils représentent les premiers pas vers la réalisation d'un véritable système d'imagerie de diffusion et de fluorescence du petit animal. Toutefois ils sont inutilisables pour l'imagerie neuro-fonctionnelle. En effet la qualité de la reconstruction en TOD est étroitement liée à la quantité de données mesurées. Or si l'interface pour les objets test permet la multiplication des données, celle pour l'imagerie de la tête limite fortement la quantité d'informations mesurées. En effet le nombre d'optodes est limité, et l'acquisition, dans le cas de l'imagerie neuro-fonctionnelle, doit être relativement rapide. C'est pourquoi nous avons développé des méthodes à l'ambition plus modeste que la TOD, mais qui permettent cependant d'ajouter une information de profondeur à la localisation surfacique des techniques topographiques classiques. La suite de ce chapitre présente les simulations de propagation lumineuse dans la tête dont les résultats ont inspiré les méthodes proposées. Enfin nous présentons les justifications théoriques de ces méthodes. L'ensemble des programmes de traitement des données et de reconstruction d'images est réalisé avec Matlab (Mathworks [151]).

### III.1 Reconstruction d'images tomographiques

La reconstruction des images de TOD repose sur la résolution d'un problème inverse. Pour un mathématicien, deux problèmes sont dits inverse l'un de l'autre si la formulation de chacun d'entre eux nécessite la connaissance de la solution de l'autre. Pour un physicien, un des deux problèmes revêt un caractère particulier puisqu'il est orienté suivant un processus de cause à effet, et que par conséquent son résultat est accessible à la mesure. Celui-ci est nommé le problème direct et l'autre est le problème inverse. Ainsi la résolution du problème inverse nécessite la modélisation du problème direct, c'est-à-dire la propagation lumineuse dans le tissu biologique d'intérêt. Nous décrivons ici les techniques de reconstruction d'image de TOD 2D mises en place au laboratoire durant la thèse de M. Torregrossa [126]

#### Problème direct et problème inverse en TOD.

On énonce le problème direct de la manière suivante :

*Etant donné une distribution de sources lumineuses  $\{\mathbf{q}\}$  disposées à la surface  $\partial\Omega$  d'un objet  $\Omega$ , et une distribution de paramètres optiques  $\{\mathbf{p}\}$  dans  $\Omega$ , il faut déterminer une série de grandeurs  $\{\mathbf{y}\}$  accessibles à la mesure correspondantes sur  $\partial\Omega$  à partir d'un modèle physique  $F$ .*

Ce qui s'écrit :

$$\{\mathbf{y}\} = F\{\mathbf{p}\} \quad (\text{III.1})$$

Avec  $F$  l'opérateur représentant le modèle physique que nous avons évoqué au chapitre I.

On énonce le problème inverse de la manière suivante :

*Etant donné une distribution de sources lumineuses  $\{\mathbf{q}\}$  et une distribution de mesures  $\{\mathbf{y}\}$  sur  $\partial\Omega$ , il faut déterminer la distribution de paramètres optiques  $\{\mathbf{p}\}$  dans  $\Omega$ .*

Ce qui s'écrit :

$$\{\mathbf{p}\} = F^{-1}\{\mathbf{y}\} \quad (\text{III.2})$$

Ou  $F^{-1}$  est l'opérateur inverse de  $F$ .

De nombreuses modalités d'imagerie médicale reposent sur des phénomènes physiques pouvant être modélisés par l'équation du transfert radiatif décrite au chapitre I. Ainsi quand la diffusion et les sources internes sont négligées, l'opérateur  $F$  est la transformée de Radon, ce qui est le cas pour le scanner X. Quand les sources internes ne sont plus négligeables, il s'agit de la transformée de Radon atténuée, utilisée pour la TEMP.

La reconstruction d'image de TOD est rendue délicate par les spécificités du problème inverse en TOD. Notamment par le fait que contrairement aux photons X (scanner) et  $\gamma$  (TEMP), les photons PIR subissent une diffusion non négligeable de la part des tissus biologiques. Le problème inverse en TOD est dit mal posé, c'est-à-dire qu'il ne satisfait pas à l'une des trois conditions de Hadamard : une solution existe, est unique et stable. Il est de plus fortement non linéaire. Enfin il doit reconstruire deux paramètres simultanément, en évitant une possible diaphonie entre les images des propriétés d'absorption et de diffusion.

### III.1.1 Simulation du problème direct

La propagation lumineuse dans les tissus biologiques est basée sur l'équation de diffusion (équation I.18) décrite au chapitre I. La résolution de cette équation par la méthode des éléments finis (MEF) a également été décrite au chapitre I. L'objectif de ce paragraphe est de décrire brièvement la programmation de la MEF en 2D pour une géométrie quelconque, une explication plus complète existant déjà [126].

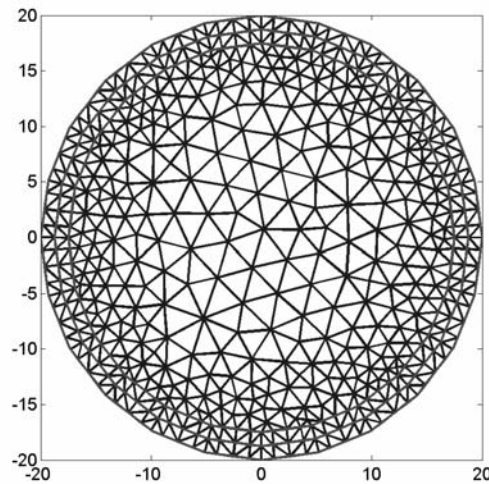


Figure III.1 : Maillage d'un objet test circulaire de diamètre 40 mm.

Comme nous l'avons dit au chapitre I, la MEF s'attache à trouver une approximation de la solution sur un espace vectoriel de dimension finie. Ainsi le milieu de propagation est divisé en éléments triangulaires qui constituent un maillage. La figure III.1 illustre le maillage d'un objet test circulaire de 40 mm de diamètre. Le contour extérieur délimite la surface de l'objet. Le contour troisième, le plus intérieur en partant de la surface, définit la position des sources, à  $1/\mu_s$  de la surface. Le contour intermédiaire permet de s'assurer que la source n'est pas située dans un élément de la surface de l'objet. L'avantage de la MEF est qu'elle peut s'appliquer à des géométries très complexes et à des distributions très hétérogènes de paramètres optiques.



### III.1.1.1 Initialisation du système matriciel

L'équation I.28 nous permet de calculer par récurrence la densité de photons diffus  $\Phi_n$  pour chaque pas temporel  $n$  et pour chaque nœud du maillage. Afin d'initialiser la récurrence, il est donc nécessaire d'évaluer les matrices composant le système linéaire suivant :

$$S\Phi = Q \quad (III.3)$$

avec

$$S = B \frac{\partial}{\partial t} + K(\kappa) + C(\mu_a) + \beta(A) \quad (III.4)$$

Afin de calculer la matrice  $Q_j = \int_{\Omega} q_0(\vec{r}, t) u_j(\vec{r}) d\Omega$  La source est placée à l'intérieur du tissu à une profondeur de  $l/\mu'_s$  comme expliqué au paragraphe I.2.2. La source est généralement localisée à l'intérieur d'un élément du maillage. On utilise les relations de passage des coordonnées cartésiennes aux coordonnées naturelles pour évaluer son influence aux différents nœuds de l'élément concerné. L'influence de la source sur chaque nœud du triangle élémentaire est :

$$\begin{bmatrix} \zeta_1 \\ \zeta_2 \\ \zeta_3 \end{bmatrix} = \frac{1}{2\Delta} \begin{bmatrix} x_2 y_3 - x_3 y_2 & y_2 - y_3 & x_3 - x_2 \\ x_3 y_1 - x_1 y_3 & y_3 - y_1 & x_1 - x_3 \\ x_1 y_2 - x_2 y_1 & y_1 - y_2 & x_2 - x_1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 \\ x \\ y \end{bmatrix} \quad (III.5)$$

Où  $\{x, y\}$  sont les coordonnées cartésiennes de la source,  $\Delta$  l'aire du triangle et  $\{x_i, y_i\}, i \in \{1, 2, 3\}$  les coordonnées cartésiennes de chacun de ses nœuds.

Pour initialiser les autres matrices on discrétise  $\mu_a$  et  $\kappa$  sur la même base  $u_j(\vec{r})$  et on utilise l'égalité suivante lorsque  $i$  et  $j$  se réfèrent aux nœuds d'un même élément [144] :

$$\iint_{\Delta} u_1^a u_2^b u_3^c dx dy = \frac{a!b!c!}{(a+b+c+2)!} 2\Delta \quad (III.6)$$

On obtient alors les matrices  $B$ ,  $C$  et  $K$ :

$$B_{ij} = \int_{\Omega} u_i u_j d\Omega = \frac{2\Delta}{4!} \begin{bmatrix} 2 & 1 & 1 \\ 1 & 2 & 1 \\ 1 & 1 & 2 \end{bmatrix} \quad (III.7)$$

$$C_{ij} = \sum_{k=1}^3 c \mu_{ak} \int_{\Omega} u_k u_i u_j d\Omega = \frac{2\Delta c}{5!} \left( \mu_{a1} \begin{bmatrix} 6 & 2 & 2 \\ 2 & 2 & 1 \\ 2 & 1 & 2 \end{bmatrix} + \mu_{a2} \begin{bmatrix} 2 & 2 & 1 \\ 2 & 6 & 2 \\ 1 & 2 & 2 \end{bmatrix} + \mu_{a3} \begin{bmatrix} 2 & 1 & 2 \\ 1 & 2 & 2 \\ 2 & 2 & 6 \end{bmatrix} \right) \quad (III.8)$$

$$K_{ij} = \sum_{k=1}^3 k_k \int_{\Omega} u_k \nabla u_i \nabla u_j d\Omega = \frac{(\kappa_1 + \kappa_2 + \kappa_3)}{12\Delta} \begin{bmatrix} y_2 - y_3 & x_3 - x_2 \\ y_3 - y_1 & x_1 - x_3 \\ y_1 - y_2 & x_2 - x_1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} y_2 - y_3 & y_3 - y_1 & y_1 - y_2 \\ x_3 - x_2 & x_1 - x_3 & x_2 - x_1 \end{bmatrix} \quad (III.9)$$

Pour les éléments situés sur la frontière on calcule  $\beta_{ij} = \frac{1}{2A} \int_{\partial\Omega} u_i u_j d(\partial\Omega)$  en considérant non plus un triangle mais une droite, car un des points du triangle n'est pas sur la frontière. Si  $i$  est le nœud qui n'est pas sur la frontière et  $j$  et  $k$  les autres, la colonne et la ligne  $i$  de la matrice sont nulles puis :

$$\begin{cases} \beta_{jj} = \beta_{kk} = \frac{1}{2A} \left\| \begin{matrix} x_j - x_k \\ y_j - y_k \end{matrix} \right\| \\ \beta_{jk} = \frac{1}{4A} \left\| \begin{matrix} x_j - x_k \\ y_j - y_k \end{matrix} \right\| \end{cases} \quad (\text{III.10})$$

Pour calculer l'exittance (grandeur mesurable) sur le détecteur on calcule une matrice  $P = -\kappa \frac{\partial}{\partial n}$  tel que :

$$P = \frac{(\kappa_1 + \kappa_2 + \kappa_3)}{6\Delta} \begin{bmatrix} x_{\text{détecteur}} & y_{\text{détecteur}} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} y_2 - y_3 & y_3 - y_1 & y_1 - y_2 \\ x_3 - x_2 & x_1 - x_3 & x_2 - x_1 \end{bmatrix} \quad (\text{III.11})$$

Les matrices  $B$ ,  $K$ ,  $C$  et  $\beta$  ne dépendent pas du temps. La source est modélisée par une impulsion de Dirac, elle est nulle pour les temps autres que le temps initial. La matrice  $S$  est symétrique définie positive. Ainsi il est possible d'utiliser la factorisation de Cholesky pour résoudre le système linéaire (équation III.3) et initialiser la récurrence. Il est ainsi possible de calculer l'ensemble de la TPSF.

### III.1.1.2 Paramètres caractéristiques des TPSF

Contrairement aux mesures sur la tête, le nombre de mesures sur les objets test n'est pas limité. Ainsi la quantité d'information à simuler et par conséquent la durée de la simulation sont énormes. Afin de réaliser une reconstruction d'image dans un temps raisonnable, il est plus judicieux de chercher des paramètres caractérisant au mieux les TPSF, et pouvant se calculer directement sans avoir à calculer entièrement les TPSF. Le choix de ces paramètres est guidé par les contraintes principales suivantes [113] :

- Robustesse au bruit expérimental.
- Pertinence et complémentarité du comportement des différents paramètres par rapport à  $\mu_a$  et  $\mu'_s$ .
- Gain significatif de temps de calcul.

Les moments temporels de la TPSF, l'intensité totale ( $E$ , moment d'ordre 0), le temps moyen ( $\langle t \rangle$ , moment d'ordre 1) et la variance ( $c_2$ , moment central d'ordre 2) satisfont relativement bien l'ensemble de ces critères.

Le temps moyen est relativement robuste au bruit expérimental. Par contre  $c_2$  et  $E$  y sont beaucoup plus sensibles. Ces paramètres se déduisent des TPSF expérimentales :

$$E = \sum_t I(t) \quad (\text{III.12})$$

$$\langle t \rangle = \frac{\sum_t t I(t)}{E} \quad (\text{III.13})$$

$$c_2 = \frac{\sum_t (t - \langle t \rangle)^2 I(t)}{E} \quad (\text{III.14})$$

La normalisation de  $\langle t \rangle$  et  $c_2$  par  $E$  permet de s'affranchir des variations de l'intensité absolue de la source.

Les figures III.2 à III.3 montrent les variations simulées par la MEF des trois paramètres en fonction des propriétés optiques de l'objet. Les paramètres remplissent bien le deuxième critère puisque il ne se comporte pas de la même façon sous l'influence de  $\mu_a$  et  $\mu'_s$ . En effet  $E$  diminue avec une augmentation de  $\mu_a$  ou  $\mu'_s$ , alors que  $\langle t \rangle$  et  $c_2$  diminuent avec  $\mu_a$  et augmentent avec  $\mu'_s$ .

La transformée de Mellin et la transformée du moment central permettent de calculer directement les premiers moments par récurrence [4] :

$$\begin{cases} E = M_0 = [K(\kappa) + C(\mu_a) + \beta(A)]^{-1} Q \\ \langle t^n \rangle = n [K(\kappa) + C(\mu_a) + \beta(A)]^{-1} B \frac{M_{n-1}}{M_0} \end{cases} \quad (\text{III.15})$$

avec  $\langle t^n \rangle$  le moment d'ordre  $n$ . Les moments centraux sont déduits des moments calculés ci-dessus. Ainsi  $c_2 = \langle t^2 \rangle - \langle t \rangle^2$ .

D'autres moments tels que le moment central d'ordre 3 ( $c_3$ ) sont attractifs du point de vue de l'apport d'information sur la TPSF. Malheureusement  $c_3$  est très sensible au bruit expérimental et est généralement inexploitable.

Afin de valider notre simulation par la MEF nous la comparons au modèle analytique sur un milieu semi infini, déjà utilisé pour valider la TPSF expérimentale, et décrit au chapitre I. L'objet 2D simulant un milieu semi infini en MEF est un rectangle de 1 m par 0,5 m. La source et le détecteur sont placés de part et d'autre du centre d'une des longueurs à 34 mm l'un de l'autre. La figure III.5 illustre la comparaison entre les deux TPSF simulées. Les différences entre les deux modèles s'expliquent par le fait que le modèle MEF est 2D et que le milieu simulé n'est pas semi infini.

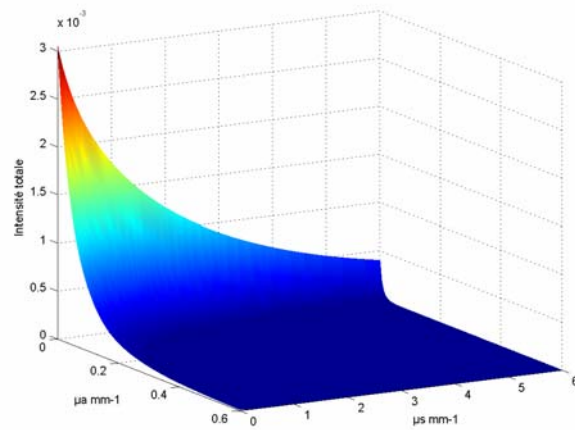


Figure III.2 : Variation de  $E$  en fonction des propriétés optiques  $\mu_a$  et  $\mu'_s$ .

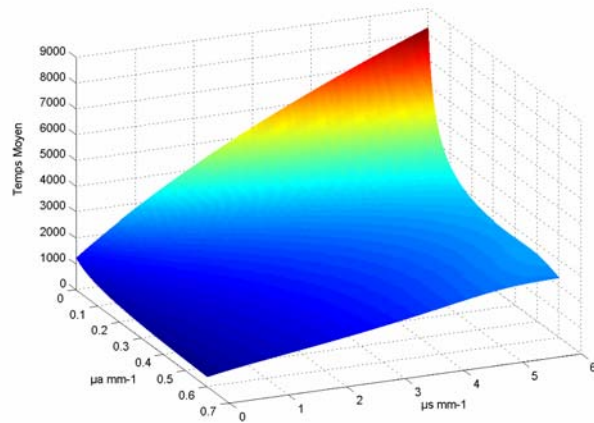


Figure III.3 : Variation de  $\langle t \rangle$  en fonction des propriétés optiques  $\mu_a$  et  $\mu'_s$ .

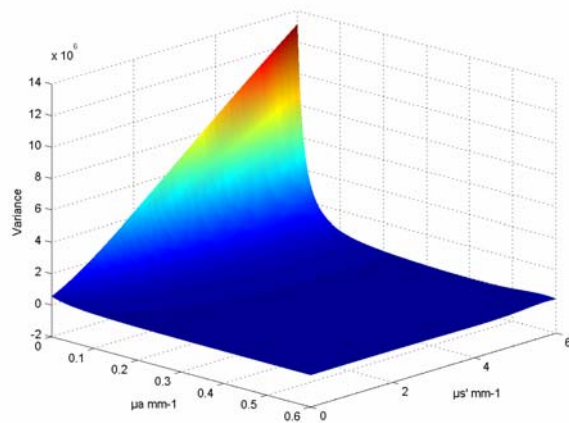


Figure III.4 : Variation de  $c_2$  en fonction des propriétés optiques  $\mu_a$  et  $\mu'_s$ .

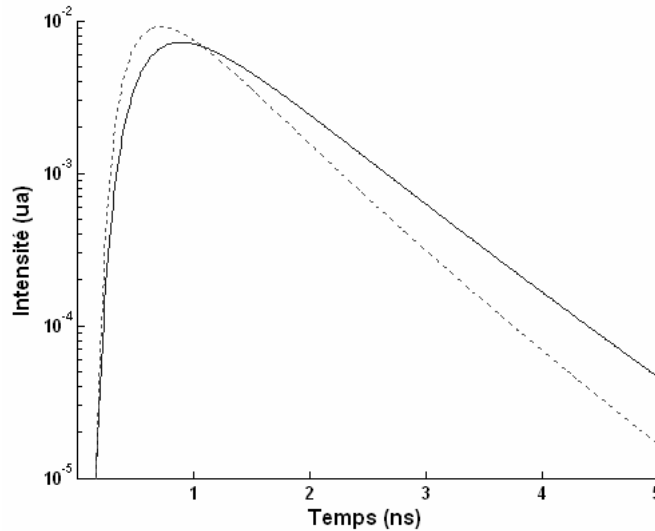


Figure III.5 : TPSF simulées avec un modèle analytique pour un milieu semi infini (ligne discontinue) et avec la MEF (ligne continue). Les propriétés optiques de l'objet sont :  $\mu_a = 0,005 \text{ mm}^{-1}$  et  $\mu'_s = 0,5 \text{ mm}^{-1}$ .

### III.1.2 Extraction et prétraitement des données expérimentales

L'autre avantage de l'utilisation des paramètres caractéristiques est que la déconvolution est grandement simplifiée par rapport à celle de l'ensemble de la TPSF. La déconvolution est rarement un problème trivial. Pourtant dans le cas de  $E$ ,  $\langle t \rangle$  et  $c_2$  il a été montré [60] que leur déconvolution est simplement réalisée par division ou soustraction des paramètres de la réponse impulsionnelle du système (RIS) tel que :

$$\left\{ \begin{array}{l} E_{\text{déconvolué}} = \frac{E_{\text{objet}}}{E_{\text{RIS}}} \\ \langle t \rangle_{\text{déconvolué}} = \langle t \rangle_{\text{objet}} - \langle t \rangle_{\text{RIS}} \\ c_{2\text{déconvolué}} = c_{2\text{objet}} - c_{2\text{RIS}} \end{array} \right. \quad (\text{III.16})$$

Les paramètres expérimentaux sont calculés suivant les équations III.12 à III.14 à partir des TPSF extraites du bruit de fond. En effet nous avons précisé que mis à part  $\langle t \rangle$ , les autres paramètres sont relativement sensibles au bruit expérimental. Le bruit de fond moyen est évalué sur une plage temporelle en amont de la TPSF. La zone temporelle utilisée pour le calcul des paramètres est choisie comme celle où le signal est supérieur à  $n$  fois le bruit moyen ( $n$  est généralement de l'ordre de 2 à 4).

Nous avons vu que l'utilisation de l'intensité totale  $E$  est importante pour la reconstruction d'image, car elle possède un comportement très différent de ceux de  $\langle t \rangle$  et  $c_2$  vis-à-vis des variations d'absorption et de diffusion. Ainsi la diaphonie entre absorption et diffusion est significativement réduite lorsque on utilise  $E$ . Le problème pratique posé par l'utilisation de  $E$  est que ce paramètre est difficile à calibrer de façon absolue, en raison de la fragilité du détecteur aux fortes intensités lumineuses. C'est pourquoi on utilise généralement un objet de géométrie identique à celle de l'objet étudié, qui possède des propriétés optiques homogènes égales à celles du fond (en

dehors des inclusions) de l'objet hétérogène étudié. On introduit alors des *paramètres relatifs*,  $E_{rel}$ ,  $\langle t \rangle_{rel}$  et  $c_{2rel}$  [60], tel que :

$$\begin{cases} E_{rel} = \frac{E_{heterogène}}{E_{homogène}} \\ \langle t \rangle_{rel} = \langle t \rangle_{heterogène} - \langle t \rangle_{homogène} \\ c_{2rel} = c_{2heterogène} - c_{2homogène} \end{cases} \quad (III.17)$$

### III.1.3 Problème inverse

La reconstruction d'image consiste à déduire les distributions internes des paramètres optiques à partir d'une série de mesures. La première étape est donc d'utiliser le modèle  $F$  pour obtenir une matrice reliant les variations des paramètres optiques internes aux variations des mesures.

#### III.1.3.1 Cartes de sensibilité

L'approche par perturbation linéaire est l'approximation qu'une variation des paramètres optiques se traduit par une modification des mesures qui peut être exprimée en une série de Taylor par rapport à l'état originel de l'objet. Ainsi pour une mesure  $y(p, t)$  sur un objet de paramètres optiques  $p = \begin{bmatrix} \mu_a(\vec{r}) \\ k(\vec{r}) \end{bmatrix}$  au temps  $t$ , on écrit :

$$y(p_1, t) = y(p_0, t) + \frac{\partial y(p_0, t)}{\partial p} (p_1 - p_0) + \frac{1}{2!} \frac{\partial^2 y(p_0, t)}{\partial p^2} (p_1 - p_0)^2 + \dots \quad (III.18)$$

Où  $p_0$  correspond à l'état initial et  $p_1$  à l'état perturbé. En se limitant au terme d'ordre 1, on introduit la carte de sensibilité  $J(p_0, t)$  (PMDF, Photon Measurement Density Function) telle que :

$$J(p_0, t) = \frac{\partial y(p_0, t)}{\partial p} = \frac{y(p_1, t) - y(p_0, t)}{(p_1 - p_0)} \quad (III.19)$$

La PMDF représente l'amplitude des modifications des mesures relativement aux variations d'une des propriétés optiques.

La matrice composée de toutes les PMDF pour tous les couples source-détecteurs est la matrice jacobienne  $J$ . Elle peut être obtenue par dérivation du problème direct, ou beaucoup plus rapidement par la méthode des adjoints [5]. Cette méthode repose sur la résolution du problème direct qui permet d'obtenir la fonction de Green directe  $G_{source}^+(\vec{r}, t)$ , et d'un problème direct adjoint qui permet d'obtenir la fonction de Green adjointe  $G_{détecteur}^-(\vec{r}, t)$ . Cette dernière représente la propagation lumineuse en sens inverse due à une source placée à la position du détecteur. On écrit :

$$J_{source,detecteur}(p_0, t) = \begin{bmatrix} G_{source}^+(\vec{r}, t) \otimes G_{detecteur}(\vec{r}, t) \\ \nabla G_{source}^+(\vec{r}, t) \otimes \nabla G_{detecteur}(\vec{r}, t) \end{bmatrix} \quad (III.20)$$

Les PMDF relatives aux variations du coefficient d'absorption nous intéressent particulièrement dans le cas du suivi de la réponse hémodynamique cérébrale. La première équation du système III.20 permet de calculer ces  $\mu$ -PMDF en convoluant pour chaque point du maillage la fonction de Green directe et la fonction adjointe. Ceci revient donc à convoluer la probabilité que la lumière atteigne un point du maillage à un instant  $t$ , à la probabilité qu'un photon se trouvant en ce point à l'instant  $t$  soit détecté à l'instant  $\tau$ . On obtient la probabilité qu'un photon émis à  $t=0$  et détecté à  $t=\tau$  soit passé par ce point du maillage. Ainsi la représentation graphique des  $\mu$ -PMDF peut être considérée comme une carte de probabilité de passage des photons détectés.

### III.1.3.2 Résolution linéaire du problème inverse

Si nous connaissons une estimation de la solution proche de la solution idéale, alors l'approche par perturbation linéaire permet de reconstruire l'image à partir de cette solution approchée. En effet l'équation III.19 peut être réécrite de telle façon que le calcul de la petite variation  $\Delta p$  des propriétés optiques se réduise à l'inversion de la matrice jacobienne :

$$\Delta y(p_0, t) = J(p_0, t) \Delta p \quad (III.21)$$

Le problème est mal posé et la matrice jacobienne est singulière et non carré. Son inversion directe est donc difficile. On résout généralement le problème en multipliant par la transposée ( $^T$ ) de la jacobienne pour rendre la matrice carrée et en introduisant un paramètre ( $\lambda$ ) et un opérateur ( $C$ ) de régularisation, tels que :

$$J(p_0, t)^T \Delta y(p_0, t) = (J(p_0, t)^T J(p_0, t) + \lambda C^T C) \Delta p \quad (III.22)$$

Le paramètre de régularisation est relié au rapport signal à bruit des mesures. Il permet d'introduire un compromis entre la résolution spatiale et le contraste de l'image reconstruite. Ainsi le problème peut être résolu à l'aide d'une technique mathématique pour la résolution des systèmes linéaires telle que la méthode des gradients conjugués.

### III.1.3.3 Résolution non linéaire du problème inverse

Quand on ne connaît pas de solution approchée, il n'est plus possible de considérer que la variation des propriétés optiques est petite. Il n'est alors plus envisageable de ne pas tenir compte du caractère non linéaire du problème. En général les méthodes non linéaires utilisent un processus itératif qui recalcule la jacobienne à chaque nouvelle estimation des paramètres optiques. Partant d'une estimation initiale  $p_i$  des propriétés optiques, le modèle direct permet de calculer les mesures correspondantes  $F\{p_i\}$ . La différence entre les mesures estimées et réelles  $y$ , permet de déterminer une meilleure estimation des paramètres optiques, et ainsi de suite :

$$\begin{aligned} y - F\{p_i\} &= J(p_i)[p_{i+1} - p_i] \\ y - F\{p_{i+1}\} &= J(p_{i+1})[p_{i+2} - p_{i+1}] \\ &\dots \end{aligned} \quad (III.23)$$

Le problème inverse est donc résolu à chaque itération, jusqu'à que  $p_{i+N}$  minimise :

$$\left( \frac{y - F\{p_{i+N}\}}{\sigma} \right)^2 \quad (\text{III.24})$$

où  $\sigma$  est l'écart type de la mesure  $y$ . Il existe de nombreuses méthodes pour optimiser l'estimation et pour inverser le problème. La méthode mise en place au laboratoire [126] repose sur la technique de reconstruction algébrique.

### III.2 Informations fonctionnelles

Le but ultime de la TOD est d'obtenir des images fonctionnelles de la tête en 3D pendant l'activation cérébrale. Nous avons vu au chapitre I que les paramètres fonctionnels sont principalement les variations de concentration de l'oxy-hémoglobine ( $[HbO_2]$ ) et de la déoxy-hémoglobine ( $[Hb]$ ), associées à la réponse hémodynamique cérébrale. Ces paramètres peuvent être combinés pour obtenir des paramètres physiologiquement plus significatifs tels que la *saturation en oxygène de l'hémoglobine* ( $SO_2$ ) et la *concentration totale d'hémoglobine* ( $[HbT]$ ) :

$$SO_2 = \frac{[HbO_2]}{[HbO_2] + [Hb]} \quad (\text{III.25})$$

$$[HbT] = [HbO_2] + [Hb]$$

Les spectres d'absorption de Hb et HbO<sub>2</sub> dans le PIR permettent de déduire leurs influences respectives à partir de mesures optiques à plusieurs longueurs d'onde. Toutefois le problème n'est pas posé de la même manière en TOD et en spectroscopie PIR (ou topographie PIR). En effet dans le cas de mesures spectroscopiques pour un couple source-détecteur, les méthodes sont basées sur la loi de Beer-Lambert modifiée. La localisation spatiale des phénomènes est fortement limitée par cette approche notamment en raison de la dépendance en longueur d'onde des chemins optiques suivis par les photons. La TOD fournit des images absolues des propriétés d'absorption qui sont reconstruites simultanément avec les images de diffusion. Ainsi ces images sont intrinsèquement exemptes de problèmes liés au chemin optique des photons. La résolution spatiale de ces images et la quantification des paramètres physiologiques, est donc beaucoup plus fiable que pour la topographie. Toutefois la TOD nécessite un grand nombre de mesures, et donc un temps d'acquisition élevé. A titre d'exemple, Hebden J.C. et al. rapporte une acquisition d'environ 9 minutes pour reconstruire une image 3D d'une tête de nouveau né prématuré [56]. La TOD n'est donc pas encore adaptée à une utilisation neuro-fonctionnelle, où la résolution temporelle est un des paramètres fondamentaux. Nous développons la présentation des méthodes pour la TOD fonctionnelle (ou TOD moléculaire) et celles pour la topographie dans la suite.

#### III.2.1 TOD moléculaire

Nous avons utilisé la méthode la plus simple pour obtenir les images moléculaires que nous présentons au chapitre IV. Elle consiste à reconstruire les images des propriétés optiques à chaque longueur d'onde en premier lieu, puis à combiner ces images afin d'obtenir les images moléculaires.

On considère une série de  $n$  images d'absorption ( $I_{\lambda}^{abs}$ ) d'un objet acquises à  $n$  longueurs d'onde différentes ( $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n$ ) reconstruites suivant la méthode explicitée ci-dessus. On souhaite



obtenir  $N$  images moléculaires ( $I_i^{mol}$ ,  $i = 1, \dots, N$ ) correspondant aux  $N$  chromophores pris en compte. Pour chaque pixel des images on peut écrire sous forme matricielle :

$$I^{abs} = \varepsilon I^{mol} \quad (III.26)$$

avec :

$$I^{abs} = \log_{10}(e) \cdot [I_{\lambda 1}^{abs} \quad I_{\lambda 2}^{abs} \quad \dots \quad I_{\lambda n}^{abs}]^T \quad (III.27)$$

$$\varepsilon = \begin{bmatrix} \varepsilon_{\lambda 1}^1 & \varepsilon_{\lambda 1}^2 & \dots & \varepsilon_{\lambda 1}^N \\ \varepsilon_{\lambda 2}^1 & \varepsilon_{\lambda 2}^2 & \dots & \varepsilon_{\lambda 2}^N \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \varepsilon_{\lambda n}^1 & \varepsilon_{\lambda n}^2 & \dots & \varepsilon_{\lambda n}^N \end{bmatrix} \quad (III.28)$$

$$I^{mol} = [I_1^{mol} \quad I_2^{mol} \quad \dots \quad I_N^{mol}]^T \quad (III.29)$$

$\varepsilon_{\lambda}^i$  est le *coefficient d'extinction spécifique* ( $\text{mol}^{-1} \text{m}^{-1}$ ) du  $i^{\text{ème}}$  parmi les  $N$  chromophores considérés, défini dans une unité logarithmique en base 10. Les images moléculaires peuvent être obtenues en résolvant le système III.26 par les moindres carrés :

$$I^{mol} = (\varepsilon^T \varepsilon)^{-1} \varepsilon^T I^{abs} \quad (III.30)$$

Cette méthode est très simple mais nécessite la reconstruction intermédiaire des images des propriétés optiques. Elle peut être significativement améliorée en éliminant cette étape intermédiaire et en reconstruisant directement les images moléculaires à partir des données expérimentales [78]. Il existe de nombreuses autres méthodes pour obtenir des images moléculaires à partir de données à plusieurs longueurs d'onde [60].

### III.2.2 Paramètres fonctionnels en topographie résolue en temps

Nous nous référons à une série de  $n$  mesures à  $n$  longueurs d'onde ( $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n$ ) pour un seul couple source-détecteur. En effet la topographie n'est généralement qu'une interpolation de mesures ponctuelles sur l'ensemble de la surface d'intérêt. La loi de Beer-Lambert modifiée [25] est une adaptation de la loi de Lambert (équation I.10) au cas de la lumière diffusée, celle ci ayant parcouru un chemin optique supérieur à la distance source-détecteur. Le concept du facteur d'augmentation du chemin optique dit *DPF* [30] (differential pathlength factor) permet de tenir compte de cette augmentation du chemin optique. La loi s'écrit pour une longueur d'onde  $\lambda$  :

$$I_{\lambda} = I_{0\lambda} \cdot e^{-\mu_{a\lambda} \cdot l \cdot DPF + G_{\lambda}}$$

$$I_{\lambda} = I_{0\lambda} \cdot 10^{-\sum_{i=1}^N \varepsilon_{\lambda}^i \cdot C^i \cdot l \cdot DPF + G_{\lambda}} \quad (III.31)$$

où  $I_{\lambda}$  et  $I_{0\lambda}$  sont respectivement les intensités émergente et incidente,  $l$  la distance entre la source et le détecteur,  $G_{\lambda}$  un facteur représentant les pertes liées à la géométrie du système et  $C^i$  la

concentration ( $\text{mol}^{-1}$ ) du  $i^{\text{ème}}$  parmi les  $N$  chromophores considérés. Le facteur  $DPF$  peut être mesuré par les appareils résolus en temps par le biais du temps moyen de la TPSF :

$$l.DPF = v_{\lambda} \langle t \rangle_{\lambda} = \frac{c}{n_{\lambda}} \langle t \rangle_{\lambda} \quad (\text{III.32})$$

avec  $c$  et  $v$  respectivement les vitesses de la lumière dans le vide et dans le tissu d'indice de réfraction  $n$ . On définit également l'absorbance  $A_{\lambda}$  du tissu par la relation :

$$A_{\lambda} = \log_{10} \left( \frac{I_{0\lambda}}{I_{\lambda}} \right) = v_{\lambda} \langle t \rangle_{\lambda} \sum_{i=1}^N \epsilon_{\lambda}^i C^i + G_{\lambda} \quad (\text{III.33})$$

Nous pouvons exprimer l'absorbance à toutes les longueurs d'onde sous forme matricielle comme :

$$A = EC + G \quad (\text{III.34})$$

avec :

$$A = [A_{\lambda 1} \quad A_{\lambda 2} \quad \dots \quad A_{\lambda n}]^T \quad (\text{III.35})$$

$$E = \begin{bmatrix} v_{\lambda 1} \langle t \rangle_{\lambda 1} \epsilon_{\lambda 1}^1 & v_{\lambda 1} \langle t \rangle_{\lambda 1} \epsilon_{\lambda 1}^2 & \dots & v_{\lambda 1} \langle t \rangle_{\lambda 1} \epsilon_{\lambda 1}^N \\ v_{\lambda 2} \langle t \rangle_{\lambda 2} \epsilon_{\lambda 2}^1 & v_{\lambda 2} \langle t \rangle_{\lambda 2} \epsilon_{\lambda 2}^2 & \dots & v_{\lambda 2} \langle t \rangle_{\lambda 2} \epsilon_{\lambda 2}^N \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ v_{\lambda n} \langle t \rangle_{\lambda n} \epsilon_{\lambda n}^1 & v_{\lambda n} \langle t \rangle_{\lambda n} \epsilon_{\lambda n}^2 & \dots & v_{\lambda n} \langle t \rangle_{\lambda n} \epsilon_{\lambda n}^N \end{bmatrix} \quad (\text{III.36})$$

$$C = [C^1 \quad C^2 \quad \dots \quad C^N]^T \quad (\text{III.37})$$

$$G = [G_{\lambda 1} \quad G_{\lambda 2} \quad \dots \quad G_{\lambda n}]^T \quad (\text{III.38})$$

Le facteur  $G$  est difficilement quantifiable, c'est pourquoi on calcule généralement la différence d'absorbance  $\Delta A_{\alpha-\beta}$  entre deux états  $\alpha$  et  $\beta$  qui peuvent être deux mesures à des instants différents ou à des longueurs d'onde différentes. En considérant que  $G$  est constant entre ces deux états on a :

$$\Delta A_{\alpha-\beta} = \log_{10} \left( \frac{I_{0\alpha} I_{\beta}}{I_{\alpha} I_{0\beta}} \right) = v_{\alpha} \langle t \rangle_{\alpha} \sum_{i=1}^N \epsilon_{\alpha}^i C^i - v_{\beta} \langle t \rangle_{\beta} \sum_{i=1}^N \epsilon_{\beta}^i C^i \quad (\text{III.39})$$

Il convient de noter ici que les appareils commercialisés, utilisant généralement des méthodes continues, utilisent un facteur  $DPF$  défini par le constructeur et issu de données bibliographiques.

De nombreuses méthodes ont été explorées afin d'obtenir des informations fonctionnelles à partir de mesures spectroscopiques [29, 95] et de choisir les combinaisons optimales de longueurs d'onde [26, 133]. Elles se classent généralement en deux grandes catégories selon qu'elles évaluent les concentrations absolues ou les variations relatives (quantitatives ou qualitatives) de

concentration. Nous décrivons également une troisième catégorie dont les méthodes sont basées sur la loi de Beer-Lambert microscopique.

### III.2.2.1 Mesures absolues des concentrations

On considère ici que les deux états  $\alpha$  et  $\beta$  sont des mesures à des longueurs d'onde différentes. Ainsi l'approximation proposée est que  $G$  ne varie pas avec la longueur d'onde ( $G_{\lambda_1} = G_{\lambda_2} = \dots = G_{\lambda_n}$ ).  $G$  correspond aux pertes liées à la géométrie du système. Il dépend donc du trajet des photons et donc des propriétés optiques. Cette approximation implique donc que les propriétés optiques soient indépendantes de la longueur d'onde. Ceci est strictement faux mais reste une approximation raisonnable si les différentes longueurs d'onde sont choisies convenablement.

Dans ce cadre l'équation III.39 peut s'écrire sous une forme matricielle similaire à III.34 telle que :

$$\Delta A_{\lambda-\lambda_1} = E_{\lambda-\lambda_1} C \quad (\text{III.40})$$

avec :

$$\Delta A_{\lambda-\lambda_1} = [A_{\lambda_2} - A_{\lambda_1} \quad A_{\lambda_3} - A_{\lambda_1} \quad \dots \quad A_{\lambda_n} - A_{\lambda_1}]^T \quad (\text{III.41})$$

$$E_{\lambda-\lambda_1} = \begin{bmatrix} v_{\lambda_2} \langle t \rangle_{\lambda_2} \epsilon_{\lambda_2}^1 - v_{\lambda_1} \langle t \rangle_{\lambda_1} \epsilon_{\lambda_1}^1 & \dots & v_{\lambda_2} \langle t \rangle_{\lambda_2} \epsilon_{\lambda_2}^N - v_{\lambda_1} \langle t \rangle_{\lambda_1} \epsilon_{\lambda_1}^N \\ \dots & \dots & \dots \\ v_{\lambda_n} \langle t \rangle_{\lambda_n} \epsilon_{\lambda_n}^1 - v_{\lambda_1} \langle t \rangle_{\lambda_1} \epsilon_{\lambda_1}^1 & \dots & v_{\lambda_n} \langle t \rangle_{\lambda_n} \epsilon_{\lambda_n}^N - v_{\lambda_1} \langle t \rangle_{\lambda_1} \epsilon_{\lambda_1}^N \end{bmatrix} \quad (\text{III.42})$$

Les concentrations absolues  $C$  peuvent être évaluées en résolvant le système III.40 par les moindres carrés :

$$C = (E_{\lambda-\lambda_1}^T E_{\lambda-\lambda_1})^{-1} E_{\lambda-\lambda_1}^T \Delta A_{\lambda-\lambda_1} \quad (\text{III.43})$$

On remarque que cette méthode n'a de sens que si l'on effectue des mesures à au moins une longueur d'onde de plus que le nombre de chromophores d'intérêt ( $n-1 \geq N$ ).

Cette approche est séduisante par son aspect quantitatif, mais ce dernier doit être considéré avec beaucoup de précaution. En effet les valeurs de concentration obtenues sont des moyennes sur l'ensemble de la zone explorée par la mesure. Ainsi elles n'ont de sens que pour des tissus ayant des propriétés optiques homogènes. Ce n'est bien sur pas le cas de la tête comme expliqué dans le chapitre I.

Il est important de souligner le fait que cette méthode nécessite la connaissance de l'intensité incidente sur le tissu, ou du moins du rapport des intensités incidentes de chaque source par rapport à la source à la longueur d'onde  $\lambda_l$ , comme le montre l'équation III.39. Or cette calibration est fastidieuse, car il faut tenir compte des sensibilités de chaque élément optique (fibres optiques, photocathode) et elle doit être réalisée à chaque mesure, car elle est dépendante du couplage optode-tête.

### III.2.2.2 Variations relatives quantitatives de concentrations

On considère maintenant que les deux états  $\alpha$  et  $\beta$  sont des mesures à la même longueur d'onde, mais à des instants différents. Lors d'une expérience faisant varier les propriétés optiques du tissu dans le temps, on introduit le temps macroscopique  $T$  de l'expérience (à opposer au temps microscopique  $t$  de la TPSF). La première approximation proposée est que  $G_\lambda$  ne varie pas durant l'expérience ( $G_\lambda(T) = G_\lambda(T_0)$  pour tous  $T$ , avec  $T_0$  la référence). Cette approximation est valide si l'expérience n'entraîne que de faibles variations des propriétés optiques, ce qui est le cas de l'activation cérébrale.

Dans ce cadre l'équation III.39 peut s'écrire sous une forme matricielle similaire à III.34 pour tous  $T$  :

$$\Delta A_{T-T_0} = E(T_0)\Delta C_{T-T_0} + \Delta E_{T-T_0}C(T_0) \quad (\text{III.44})$$

avec  $E(T_0)$  la matrice  $E$  (III.36) à l'instant  $T_0$  et :

$$\Delta A_{T-T_0} = [A_{\lambda 1}(T) - A_{\lambda 1}(T_0) \quad A_{\lambda 2}(T) - A_{\lambda 2}(T_0) \quad \dots \quad A_{\lambda n}(T) - A_{\lambda n}(T_0)]^T \quad (\text{III.45})$$

$$\Delta E_{T-T_0} = \begin{bmatrix} v_{\lambda 1} \varepsilon_{\lambda 1}^1 [\langle t \rangle_{\lambda 1}(T) - \langle t \rangle_{\lambda 1}(T_0)] & \dots & v_{\lambda 1} \varepsilon_{\lambda 1}^N [\langle t \rangle_{\lambda 1}(T) - \langle t \rangle_{\lambda 1}(T_0)] \\ \dots & \dots & \dots \\ v_{\lambda n} \varepsilon_{\lambda n}^1 [\langle t \rangle_{\lambda n}(T) - \langle t \rangle_{\lambda n}(T_0)] & \dots & v_{\lambda n} \varepsilon_{\lambda n}^N [\langle t \rangle_{\lambda n}(T) - \langle t \rangle_{\lambda n}(T_0)] \end{bmatrix} \quad (\text{III.46})$$

$$\Delta C_{T-T_0} = [C^1(T) - C^1(T_0) \quad C^2(T) - C^2(T_0) \quad \dots \quad C^N(T) - C^N(T_0)]^T \quad (\text{III.47})$$

L'avantage de cette approche est que les intensités incidentes n'ont plus besoin d'être connues puisque leur contribution s'élimine dans le calcul de  $\Delta A_{T-T_0}$ , si elles sont constantes au cours de l'expérience. Deux alternatives permettent le calcul des variations de concentrations, suivant que la concentration initiale est connue ou non.

#### Concentration initiale connue.

La première approche est envisageable si l'on possède un moyen d'évaluer la concentration initiale du tissu  $C(T_0)$ . Dans ce cas le système III.44 se résout par les moindres carrés :

$$\Delta C_{T-T_0} = (E(T_0)^T E(T_0))^{-1} E(T_0)^T [\Delta A_{T-T_0} - \Delta E_{T-T_0} C(T_0)] \quad (\text{III.48})$$

La concentration initiale peut être calibrée par un ajustement de la mesure initiale sur un modèle de propagation lumineuse dans la tête, ou par les valeurs de la littérature. Toutefois cette évaluation est délicate et fait perdre à la méthode son caractère exclusivement expérimental, au profit de méthodes basées sur des modèles simplistes, ou nécessitant d'autres modalités d'imagerie médicale.

#### Concentration initiale inconnue.

Cette approche nécessite une deuxième approximation qui consiste à supposer que  $v_{\lambda \langle t \rangle_\lambda}$  est constant au cours de la mesure. Or le temps moyen n'est pas constant lors d'une expérience d'activation cérébrale. Toutefois on peut considérer que les variations d'intensité, et donc les variations d'absorbance, sont prépondérantes sur les variations du temps moyen. Par exemple lors

d'une expérience d'activation cérébrale (décrite dans la partie IV.2.4) la variation relative moyenne de l'intensité pendant l'activation (+ 1,24 %) était plus de 10 fois supérieure à celle du temps moyen (+ 0,11 %). Ainsi l'équation III.44 se ramène au système suivant :

$$\Delta A_{T-T_0} = E(T_0) \Delta C_{T-T_0} \quad (\text{III.49})$$

que l'on peut résoudre par les moindres carrés tel que :

$$\Delta C_{T-T_0} = (E(T_0)^T E(T_0))^{-1} E(T_0)^T \Delta A_{T-T_0} \quad (\text{III.50})$$

Dans les deux cas, il faut au moins autant de mesures à différentes longueurs d'onde que de chromophores d'intérêt. La deuxième approche repose sur des approximations plus contraignantes, mais elle présente l'avantage de ne pas reposer sur l'utilisation d'un modèle de propagation lumineuse dans la tête, ou sur des données issues de la littérature.

### III.2.2.3 Loi de Beer-Lambert microscopique

Les systèmes résolus en temps permettent l'évaluation du DPF par l'intermédiaire du temps moyen de la TPSF, mais se contenter de ce paramètre conduit à ignorer une grande partie de l'information contenue dans la TPSF. Afin de prendre en compte toute l'information, on introduit la loi de Beer-Lambert microscopique [96] :

$$I_\lambda(t) = I_{0\lambda}(t) \cdot 10^{-\sum_{i=1}^N \varepsilon_\lambda^i \cdot C^i \cdot \nu_\lambda \cdot t} \quad (\text{III.51})$$

où  $I_\lambda(t)$  est la TPSF et  $I_{0\lambda}(t)$  la distribution de chemin optique des photons, qui correspond au profil temporel que l'on obtiendrait si le tissu ne contenait pas de chromophores et que l'on ne considérait que la diffusion. Cette distribution est indépendante des propriétés d'absorption [129] elle dépend uniquement de la géométrie du système et des propriétés de diffusion. Ainsi l'absorbance microscopique est :

$$A_\lambda^m(t) = \log_{10} \left( \frac{I_{0\lambda}(t)}{I_\lambda(t)} \right) = \sum_{i=1}^N \varepsilon_\lambda^i \cdot C^i \cdot \nu_\lambda \cdot t \quad (\text{III.52})$$

et sous forme matricielle :

$$A^m = \Gamma C t \quad (\text{III.53})$$

avec :

$$A^m = [A_{\lambda 1}^m(t) \quad A_{\lambda 2}^m(t) \quad \dots \quad A_{\lambda n}^m(t)]^T \quad (\text{III.54})$$

$$\Gamma = \begin{bmatrix} \nu_{\lambda 1} \varepsilon_{\lambda 1}^1 & \nu_{\lambda 1} \varepsilon_{\lambda 1}^2 & \dots & \nu_{\lambda 1} \varepsilon_{\lambda 1}^N \\ \nu_{\lambda 2} \varepsilon_{\lambda 2}^1 & \nu_{\lambda 2} \varepsilon_{\lambda 2}^2 & \dots & \nu_{\lambda 2} \varepsilon_{\lambda 2}^N \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \nu_{\lambda n} \varepsilon_{\lambda n}^1 & \nu_{\lambda n} \varepsilon_{\lambda n}^2 & \dots & \nu_{\lambda n} \varepsilon_{\lambda n}^N \end{bmatrix} \quad (\text{III.55})$$

De façon similaire au traitement appliqué à la loi de Beer-Lambert modifiée, on peut obtenir soit des concentrations absolues, soit des variations relatives de concentration.

### Concentrations absolues.

On suppose que la distribution de chemins optiques ne varie pas avec la longueur d'onde ( $I_{0\lambda 1}(t) = I_{0\lambda 2}(t) = \dots = I_{0\lambda n}(t)$ ). Cette approximation est raisonnable dans un cadre similaire à l'approximation de  $G$  constant avec la longueur d'onde, exposé au paragraphe III.2.2.1. Ceci permet de calculer la variation d'absorbance microscopique entre deux mesures à deux longueurs d'onde différentes indépendamment de la connaissance de  $I_{0\lambda}(t)$  :

$$\Delta A_{\lambda-\lambda 1}^m = \Gamma_{\lambda-\lambda 1} C t \quad (\text{III.56})$$

avec :

$$\Delta A_{\lambda-\lambda 1}^m = \left[ \log_{10} \left( \frac{I_{\lambda 1}(t)}{I_{\lambda 2}(t)} \right) \quad \log_{10} \left( \frac{I_{\lambda 1}(t)}{I_{\lambda 3}(t)} \right) \quad \dots \quad \log_{10} \left( \frac{I_{\lambda 1}(t)}{I_{\lambda n}(t)} \right) \right]^T \quad (\text{III.57})$$

$$\Gamma_{\lambda-\lambda 1} = \begin{bmatrix} v_{\lambda 2} \mathcal{E}_{\lambda 2}^1 - v_{\lambda 1} \mathcal{E}_{\lambda 1}^1 & \dots & v_{\lambda 2} \mathcal{E}_{\lambda 2}^N - v_{\lambda 1} \mathcal{E}_{\lambda 1}^N \\ \dots & \dots & \dots \\ v_{\lambda n} \mathcal{E}_{\lambda n}^1 - v_{\lambda 1} \mathcal{E}_{\lambda 1}^1 & \dots & v_{\lambda n} \mathcal{E}_{\lambda n}^N - v_{\lambda 1} \mathcal{E}_{\lambda 1}^N \end{bmatrix} \quad (\text{III.58})$$

Généralement l'absorbance microscopique est évaluée par un ajustement linéaire de la courbe expérimentale [98]. La pente de la droite ainsi ajustée permet d'obtenir  $\frac{\Delta A_{\lambda-\lambda 1}^m}{t}$  à toutes les longueurs d'ondes. Ainsi les concentrations absolues  $C$  peuvent être évaluées en résolvant le système III.56 par les moindres carrés :

$$C = (\Gamma_{\lambda-\lambda 1}^T \Gamma_{\lambda-\lambda 1})^{-1} \Gamma_{\lambda-\lambda 1}^T \left[ \frac{\Delta A_{\lambda-\lambda 1}^m}{t} \right] \quad (\text{III.59})$$

Comme précédemment, cette méthode nécessite la connaissance du rapport des intensités incidentes de chaque source par rapport à la source à la longueur d'onde  $\lambda_l$ .

### Variations relatives de concentration.

De façon identique au paragraphe III.2.2.2, on considère maintenant des mesures à la même longueur d'onde mais à des instants différents, et on utilise le temps macroscopique  $T$  de l'expérience. L'approximation proposée est que la distribution de chemins optiques ne varie pas durant l'expérience ( $I_{0\lambda}(t, T) = I_{0\lambda}(t, T_0)$  pour tous  $T$ , avec  $T_0$  l'instant de la référence). Cette approximation est valide si l'expérience n'entraîne que de faibles variations des propriétés optiques, ce qui est le cas de l'activation cérébrale. Dans ce cadre on calcule la variation d'absorbance microscopique entre deux instants de l'expérience indépendamment de la connaissance de  $I_{0\lambda}(t, T)$ , pour tous  $T$  telle que :

$$\Delta A_{T-T_0}^m = \Gamma \cdot \Delta C_{T-T_0} \cdot t \quad (\text{III.60})$$

En supposant que la vitesse de la lumière dans le tissu est constante au cours de l'expérience et avec :

$$\Delta A_{T-T_0}^m = \left[ \log_{10} \left( \frac{I_{\lambda 1}(t, T_0)}{I_{\lambda 1}(t, T)} \right) \quad \log_{10} \left( \frac{I_{\lambda 2}(t, T_0)}{I_{\lambda 2}(t, T)} \right) \quad \dots \quad \log_{10} \left( \frac{I_{\lambda n}(t, T_0)}{I_{\lambda n}(t, T)} \right) \right]^T \quad (\text{III.61})$$

$$\Delta C_{T-T_0} = \left[ C^1(T) - C^1(T_0) \quad C^2(T) - C^2(T_0) \quad \dots \quad C^N(T) - C^N(T_0) \right]^T \quad (\text{III.62})$$

Généralement l'absorbance microscopique est évaluée par un ajustement linéaire de la courbe expérimentale [97]. La pente de la droite ainsi ajustée permet d'obtenir  $\frac{\Delta A_{T-T_0}^m}{t}$  à tous les instants  $T$ . Ainsi les variations relatives de concentration peuvent être évaluées en résolvant le système III.60 par les moindres carrés :

$$\Delta C_{T-T_0} = (\Gamma^T \Gamma)^{-1} \Gamma^T \left[ \frac{\Delta A_{T-T_0}^m}{t} \right] \quad (\text{III.63})$$

Cette approche ne nécessite pas la connaissance du rapport des intensités incidentes. De plus, contrairement au traitement par la loi de Beer-Lambert non microscopique, le fait de ne pas connaître la concentration initiale n'impose pas de négliger les variations du temps moyen, puisque ce dernier n'est pas utilisé dans les équations.

Les méthodes basées sur la loi de Beer-Lambert microscopique permettent de mieux prendre en compte l'ensemble de l'information contenue dans la TPSF. Toutefois le calcul de l'absorbance microscopique par ajustement linéaire [98, 97] est difficilement justifiable pour une variation d'absorption très hétérogène. C'est pourquoi nous exposons au paragraphe III.3 les fondements théoriques de la méthode que nous avons mise en place afin de tenir compte de l'hétérogénéité des variations d'absorption liées au signal hémodynamique accompagnant l'activité cérébrale.

### III.3 Imagerie cérébrale

Nous avons vu que parmi les différentes méthodes optiques résolues en temps permettant l'investigation des tissus, l'approche tomographique est la plus élégante. En effet la prise en compte simultanée de l'absorption et de la diffusion permet de reconstruire fidèlement des images d'objets ayant des propriétés optiques très hétérogènes. Toutefois la performance des systèmes de TOD est étroitement liée à la quantité de données mesurées. Or les contraintes expérimentales imposées par les expériences d'activité cérébrale limitent fortement la quantité d'information mesurée. En raison notamment de l'encombrement des optodes et de la résolution temporelle nécessaire à l'étude des processus physiologiques. C'est pourquoi, à notre connaissance, les seules tomographies cérébrales 3D rapportées dans la littérature concernaient des cas particuliers tels la tête du rat [28], ou celle du nouveau né prématuré [55, 56]. Des images ont également été obtenues à travers des têtes d'adultes à l'aide de modèles multicouches simplifiés [80]. De plus, la TOD permet d'accéder à des informations quantitatives qui ne sont pas indispensables au suivi de l'activation cérébrale. En effet la localisation spatiale de la zone activée du cerveau est plus importante, dans la pratique actuelle, que l'amplitude quantitative de l'activation. C'est la raison pour laquelle nous avons choisi de proposer des méthodes plus simples que la TOD, et qui permettent de profiter de l'ensemble de l'information apportée par notre système résolu en temps. Nos choix étaient guidés par l'intention

d'améliorer la détection de l'activité cérébrale d'une part, et par celle d'obtenir des informations sur la profondeur des réactions physiologiques à l'origine des variations du signal optique mesuré d'autre part. Nous nous concentrons sur le traitement des données issues d'un seul couple source-détecteur, puisque la topographie n'est généralement qu'une interpolation de mesures ponctuelles sur l'ensemble de la surface d'intérêt. Nous présentons la modélisation de la tête et de l'activité cérébrale à partir de données issues de l'IRM et de l'IRMf, ainsi que les simulations par la MEF. Ensuite nous exposons les bases théoriques des méthodes inspirées par les résultats des simulations.

### III.3.1 Simulation par la méthode des éléments finis

Afin de proposer des méthodes adaptées au cas de l'activité cérébrale, il est primordial de pouvoir simuler la propagation lumineuse dans un milieu aussi complexe que la tête. Nous avons choisi d'utiliser les techniques de simulation par la MEF en 2D décrites ci-dessus. Plusieurs objections peuvent être opposées à ce choix, notamment la validité de l'équation de diffusion et celle de l'utilisation d'un modèle 2D, au cas de la tête. L'approximation de diffusion n'est valide que pour les tissus ayant des coefficients de diffusion très supérieurs aux coefficients d'absorption. Dans la tête, une des catégories principales de tissu, définies au chapitre I, nécessite des justifications. Il s'agit des méninges. En effet le liquide céphalorachidien est pratiquement non diffusant et non absorbant. Cependant nous avons déjà précisé que les trabécules arachnoïdiennes sont diffusantes, et forment un maillage de l'ensemble de l'espace sub-arachnoïdien [47, 99]. De plus les méninges sont vascularisées. Ainsi, bien que faible, les coefficients adoptés pour notre modèle satisfont aux conditions du régime de diffusion. L'approximation d'un modèle 2D introduit des erreurs supplémentaires entre les données mesurées et simulées. Toutefois, les différences entre deux plans de coupes successives, définis par la droite reliant la source au détecteur, sont faibles par rapport à un plan de coupe quelconque. Ainsi la tête possède des caractéristiques symétriques par rapport à cet axe. C'est pourquoi nous pensons que les erreurs introduites par notre modèle 2D lors de la simulation de la propagation lumineuse pour un couple source-détecteur, ne justifient pas l'investissement en temps, et surtout en ressources informatiques, que nécessiterait un modèle 3D. Ce choix serait moins justifiable si notre but était de réaliser une image tomographique à partir de données provenant des multiples couples source-détecteur. Les travaux présentés dans ce paragraphe ont été publiés dans B. Montcel et al. [94, 104].

#### III.3.1.1 Modélisation de la tête et de l'activité cérébrale

Nous avons vu au chapitre I que la tête est un milieu complexe. Il serait illusoire de vouloir modéliser chaque type de tissu, que se soit d'un point de vue des contraintes imposées par la méthode de simulation elle-même, ou des possibilités offertes par les techniques d'imagerie anatomique conventionnelles en terme de résolution spatiale. C'est pourquoi nous avons défini cinq catégories de tissus (voir chapitre I) : la peau, le crâne, les méninges, la matière grise (MG) et la matière blanche (MB). La sixième catégorie, les sinus veineux, ne satisfait pas les conditions de l'approximation de diffusion. De plus en raison de leur très forte absorption, ils se comportent comme des "pièges" à photons. La lumière pénétrant dans un gros sinus veineux à peu de chance d'en ressortir. Par conséquent on essayera d'éviter de positionner les optodes au dessus des gros sinus superficiels, et en particulier au sommet du crâne où siège le sinus sagittal supérieur.

Nous avons choisi d'utiliser l'IRM pour obtenir les images anatomiques de la tête. Principalement parce le laboratoire possède une IRM (IRM 2T), et parce cette modalité d'imagerie permet une bonne identification des différents tissus mous de la tête. La coupe coronale de l'IRM



du sujet utilisé pour les simulations est présentée par la figure III.6. De plus l'IRM fonctionnelle permet de suivre le signal hémodynamique et ainsi de localiser les zones cérébrales activées lors de paradigmes expérimentaux donnés. Ainsi la disposition des optodes au dessus de la peau est assistée par les informations issues de l'IRMf.

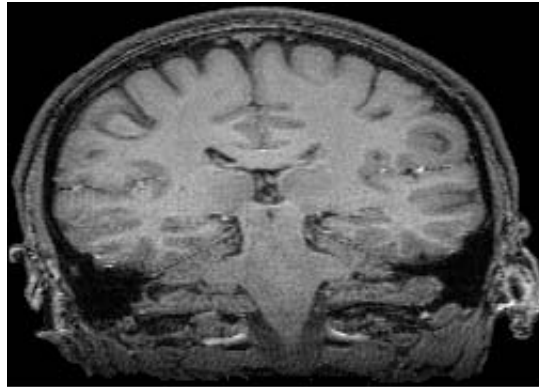


Figure III.6 : Coupe coronale d'IRM anatomique pondérée en  $T_1$ .  
Temps de répétition 26,3 ms et temps d'écho 5 ms.

Le processus de modélisation comporte deux étapes principales depuis l'IRM jusqu'au modèle MEF : la segmentation et le maillage.

### **Segmentation des IRM.**

La segmentation est l'opération qui consiste à allouer une catégorie à chaque pixel d'une image, suivant les caractéristiques de cette image et avec l'aide éventuelle d'informations à priori. Ce procédé est complexe à automatiser pour les IRM de la tête, en raison de la diversité anatomique inter individus, et de la variance des propriétés auxquelles est sensible le signal de résonance magnétique nucléaire. Nous avons choisi deux voies différentes pour la segmentation, et donc deux genres de modèle pour la simulation par la MEF. La première approche consiste à segmenter manuellement l'IRM. L'avantage de cette méthode est qu'il est facile d'obtenir cinq zones distinctes et imbriquées les unes dans les autres (voir figure III.7), correspondant aux cinq catégories de tissu. Ceci constitue un atout dans le processus de maillage que nous décrivons ci-dessous. L'inconvénient majeur est que cette technique est difficilement applicable à grande échelle ou sur des images 3D. Nous l'utilisons pour bâtir le modèle sur lequel reposent toutes les simulations présentées par la suite. Pour segmenter les IRM de plusieurs patients, nous utilisons une méthode de segmentation automatique développée par l'équipe de traitement d'images du laboratoire. L'inconvénient de cette méthode est qu'il est difficile d'obtenir un modèle composé de catégories distinctes l'une de l'autre, comme illustré par la figure III.7.



Figure III.7 : Image segmentée manuellement (droite) et automatiquement (gauche) en cinq catégories de tissus. De l'extérieur vers l'intérieur : la peau, le crâne, les méninges, la matière grise et la matière blanche.

### Maillage.

La MEF nécessite le maillage du modèle en éléments triangulaires. Chaque élément se voit attribuer une des cinq catégories anatomiques. Une des méthodes de maillage les plus adaptées à des géométries quelconques repose sur le critère de Delaunay. Ce critère permet d'obtenir une triangulation d'un ensemble de points, en définissant les voisins naturels de chaque point. Cette technique offre l'avantage de permettre le maillage de l'objet à partir de ses contours externes, et aussi internes. Cette fonctionnalité est déjà implémentée sous Matlab. Nous utilisons également Femlab (Comsol [149]) dont l'interface graphique facilite grandement l'adaptation du maillage aux contraintes de l'IRM segmentée.

Le maillage du modèle issu de la segmentation manuelle est beaucoup plus simple, à condition que chaque zone anatomique respecte une épaisseur minimum et que les contours ne présentent pas des angles trop aigus. En effet l'algorithme peut échouer à mailler une zone dont les contours présentent des angles trop importants. De plus, une zone de très faible épaisseur sera maillée par des triangles de très faibles dimensions. Par conséquent le nombre d'éléments peut rapidement devenir prohibitif en terme de ressources informatiques disponibles. L'épaisseur des méninges, telle que révélée par l'IRM, est parfois très faible. La segmentation manuelle tient compte de l'impératif d'obtenir une épaisseur minimale et surestime légèrement, par endroits, l'épaisseur des méninges. Le maillage obtenu pour l'image segmentée manuellement est représenté par la figure III.8. Le maillage est plus fin (éléments plus petits) dans la zone où sont placées les optodes (en haut à gauche).

Le modèle issu de la segmentation automatique ne contient pas de zones anatomiques distinctes, et ne respecte pas les impératifs en terme d'épaisseur minimale. La technique utilisée consiste à mailler le modèle selon son contour externe seulement. Ensuite la proportion de chaque catégorie, définie par l'IRM segmentée, dans chaque élément est calculée. L'élément se voit attribué la catégorie anatomique qui correspond à la proportion maximale. L'avantage de ce modèle est qu'il permet de s'affranchir de l'impératif d'obtenir des zones anatomiques distinctes et imbriquées les unes dans les autres. Il permet aussi de prendre en compte les faibles épaisseurs. Toutefois le nombre d'éléments est limité par les ressources informatiques disponibles. Ainsi ce modèle augmente artificiellement le poids des zones anatomiques homogènes au détriment des zones plus hétérogènes comme les méninges ou la MG. De plus, les tissus situés sous la MB sont inutilement pris en compte dans ce modèle. En effet nous verrons par la suite que les propriétés optiques de la MB la rendent peu perméable à la lumière. Par conséquent négliger l'influence de zones anatomiques, telles par exemple les ventricules, est tout à fait légitime.

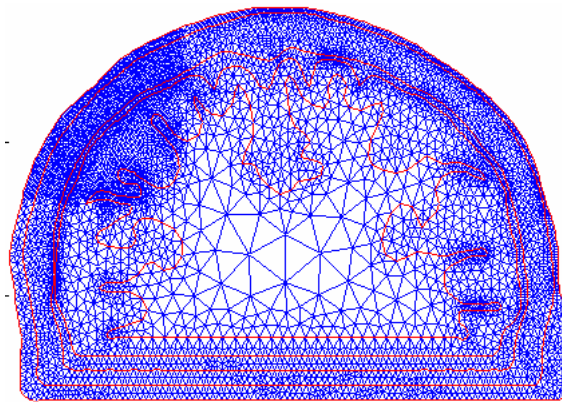


Figure III.8 : Maillage du modèle segmenté manuellement.

Nous avons vu au chapitre I que parmi les processus physiologiques liés à l'activité cérébrale, certains influencent le signal optique, et donc les propriétés d'absorption ou de diffusion des tissus cérébraux. Parmi ces derniers, la réponse hémodynamique est prépondérante. Elle induit des variations localisées de la perfusion cérébrale, et donc de l'absorption des tissus, ainsi qu'une augmentation de la concentration en  $\text{HbO}_2$ . Nous simulons la réponse hémodynamique en introduisant une inclusion absorbante (+ 10 %) dans le modèle à l'emplacement du cortex moteur, préalablement localisé par IRMf (voir figure III.9). Le maillage est le même que précédemment et les éléments de l'inclusion sont affectés à une sixième catégorie.



Figure III.9 : Modèle simulant la réponse hémodynamique. L'échelle de gris représente l'inverse du coefficient d'absorption.

Afin de comparer l'influence de variations superficielle ou profonde de l'absorption sur le signal optique, nous simulons également une augmentation superficielle de la perfusion en augmentant (+ 10 %) le coefficient d'absorption dans toute la peau.

### III.3.1.2 Propagation lumineuse dans la tête

La MEF développée au paragraphe III.1 permet de résoudre le problème direct sur le modèle décrit ci-dessus, et donc de simuler la propagation lumineuse dans la tête. Nous rappelons les coefficients optiques de chaque catégorie de tissu définie au chapitre I dans le tableau III.1.

La figure III.10 illustre cette propagation à partir d'une source spatialement et temporellement ponctuelle. Les fronts de progression correspondent aux lieux où la densité de photons atteint une certaine proportion de son maximum sur chaque image. Ainsi cette figure met l'accent sur la

progression des fronts, sans montrer la forte diminution de la densité de photons au cours du temps. On remarque principalement que la lumière reste relativement superficielle. Ceci est dû aux propriétés optiques des méninges qui se comportent comme un "guide" de lumière.

Types de tissus	$\mu_a$ (cm <sup>-1</sup> )	$\mu'_s$ (cm <sup>-1</sup> )
Peau	0,18	19
Crâne	0,16	16
Méninges	0,04	2,4
MG	0,36	22
MB	0,14	91

Tableau III.1 : Propriétés optiques des catégories anatomiques choisies pour la tête.

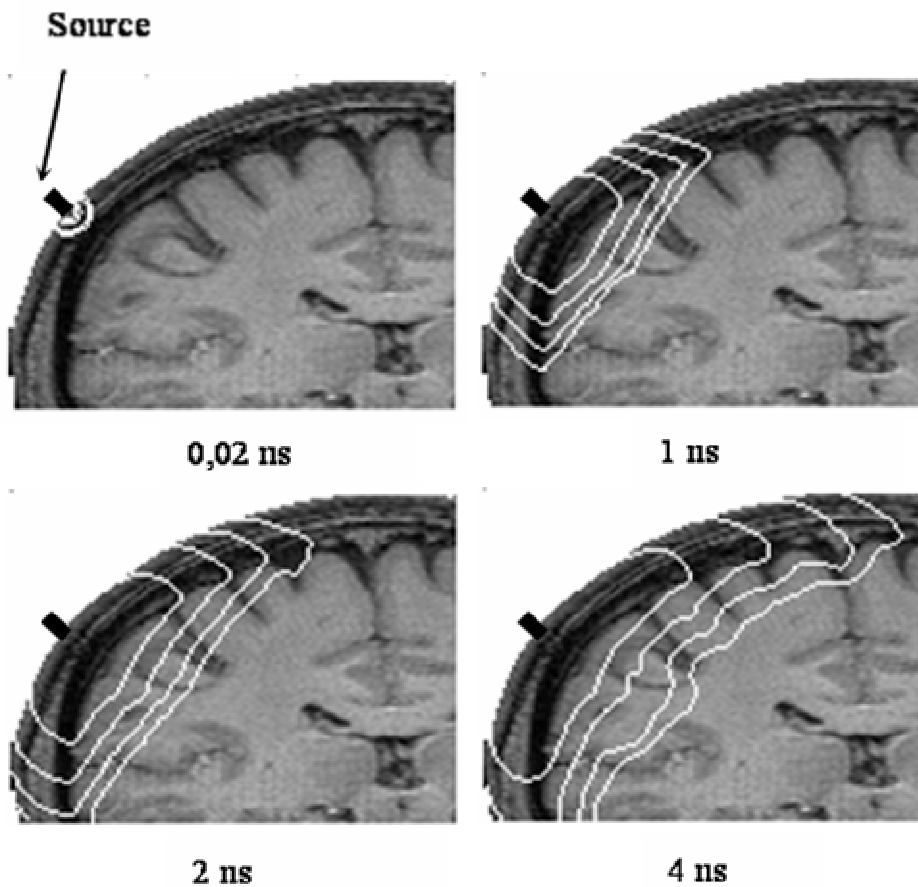


Figure III.10 : Propagation lumineuse dans la tête simulée par la MEF superposée à la coupe coronale IRM. Echelle logarithmique : les lignes blanches représentent les lieux où la densité de photons est  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$  fois le maximum.

La MEF permet également d'obtenir le signal détecté à la surface de la peau, la TPSF, pour une source et un détecteur donnés.

### III.3.1.3 Cartes de sensibilité cérébrale

Nous avons déjà introduit les cartes de sensibilité ou PMDF. Elles définissent la sensibilité d'une mesure aux variations des propriétés optiques, pour un couple source-détecteur. Physiquement parlant, on peut les considérer comme des cartes de probabilité de passage des photons détectés, dans les différents éléments du modèle. La figure III.11 illustre les PMDF relatives à l'absorption ( $\mu_a$ -PMDF), simulées pour quatre couples source-détecteur positionnés sur le modèle défini ci-dessus. Ces PMDF montrent que la profondeur de la zone explorée par la mesure augmente avec la distance entre la source et le détecteur. Cette idée est à la base des méthodes cherchant à quantifier les variations profondes liées à l'activation cérébrale à l'aide de mesures simultanées à plusieurs distances [100, 64].

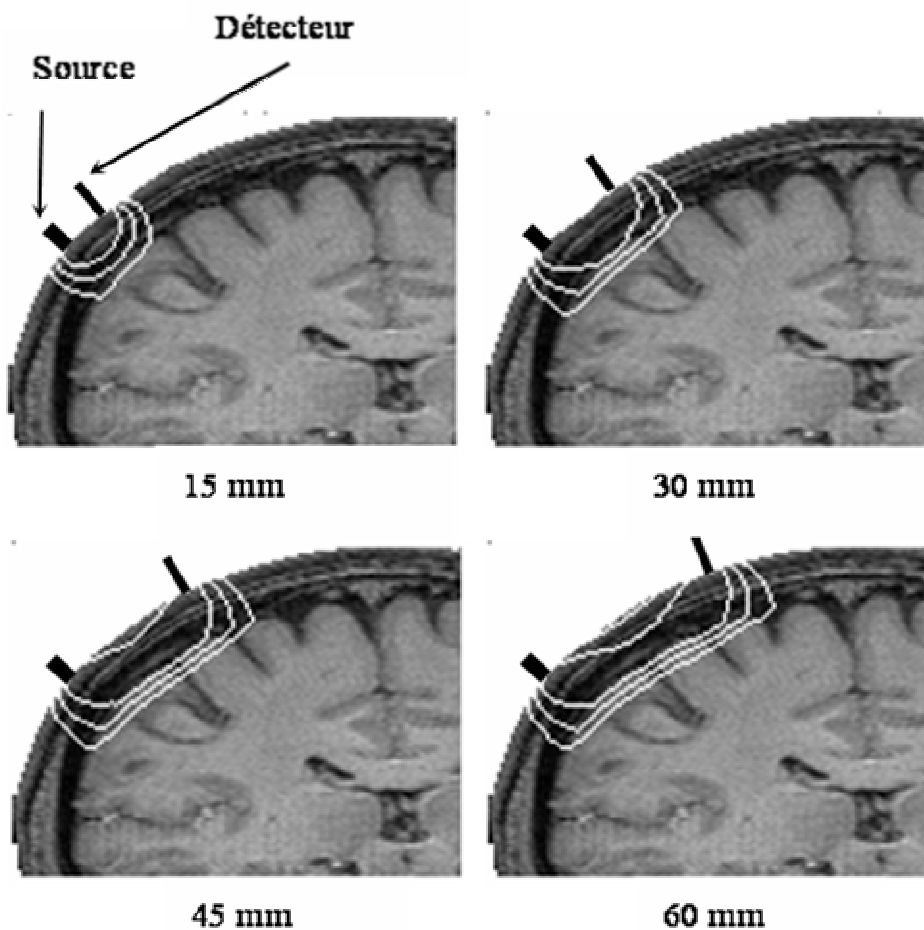


Figure III.11 :  $\mu_a$ -PMDF dans la tête pour quatre distances source-détecteur, superposée à la coupe coronale IRM. Détecteurs à 15, 30, 45 et 60 mm de la source. Echelle logarithmique : les lignes blanches représentent les lieux où la densité de photons est  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$  fois le maximum.

Contrairement à la distribution de chemins optiques des photons, introduite au paragraphe III.2.2.3, les PMDF sont sensibles au coefficient d'absorption du modèle, comme illustré par la figure III.12. La raison de cette différence est que les PMDF ne considèrent que les photons détectés, qui n'ont pas été absorbés dans la tête.

La MEF permet également de calculer les PMDF en fonction du temps d'arrivée des photons, au lieu de prendre en compte l'ensemble du profil temporel. La figure III.13 illustre les  $\mu_a$ -PMDF pour différents instants d'arrivée des photons et pour une distance source-détecteur de 30 mm. Il apparaît que les photons tardifs, qui ont parcouru un chemin optique plus long, ont exploré des zones plus profondes de la tête.

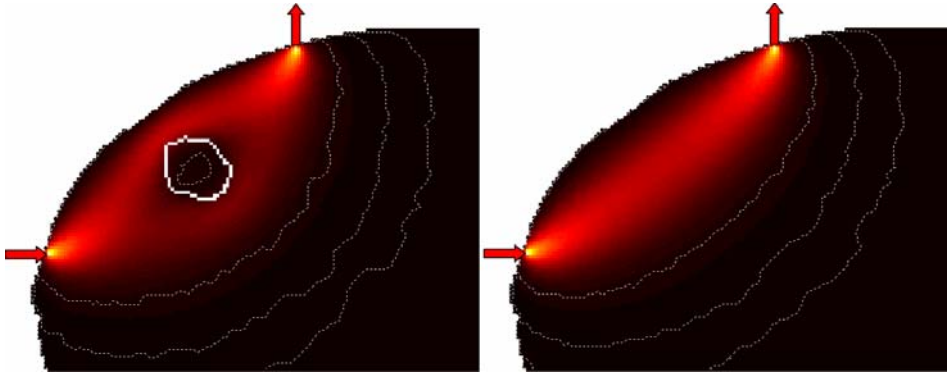


Figure III.12 :  $\mu_a$ -PMDF pour un modèle homogène en absorption et en diffusion (droite) et un modèle avec une inclusion absorbante (gauche, contour de l'inclusion en trait plein blanc). Echelle de couleur linéaire (0 : noir ; 1 : blanc). Echelle logarithmique : les lignes blanches en pointillé représentent les lieux où la densité de photons est  $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$  et  $10^{-6}$  fois le maximum.

Deux enseignements principaux sont à tirer de ces simulations. Comme attendu, les systèmes résolus en temps apportent plus d'informations que les systèmes continus, ce qui laisse présager une amélioration de la détection de l'activité cérébrale. De plus les mesures résolues en temps contiennent intrinsèquement une information de profondeur de pénétration de la lumière, et donc une information de localisation de l'origine des variations mesurées à la surface de la peau. Ainsi il est possible d'obtenir des informations sur la profondeur des variations des propriétés optiques, sans avoir besoin de passer nécessairement par un processus de reconstruction tomographique, toujours complexe à mettre en oeuvre. C'est ce que nous essayons de montrer dans le paragraphe suivant.

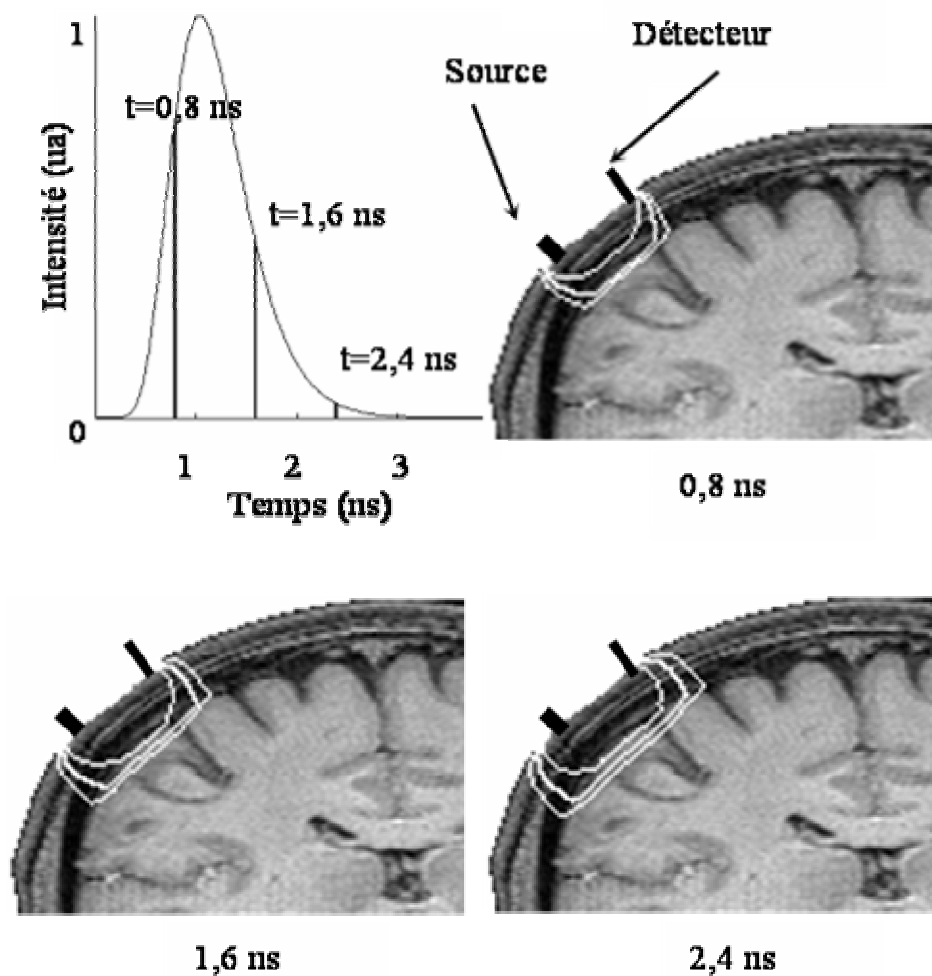


Figure III.13 :  $\mu_a$ -PMDF en fonction du temps d'arrivée des photons superposée, à la coupe coronale IRM, ainsi que la TPSF correspondante. Distance source-détecteur de 30 mm. Echelle logarithmique : les lignes blanches représentent les lieux où la densité de photons est  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$  fois le maximum.

### III.3.2 Méthodes pour l'imagerie cérébrale

Nous exposons ici les justifications théoriques d'une méthode expérimentale permettant d'obtenir une information sur la profondeur des variations d'absorption mesurées à la surface de la peau. L'avantage de cette méthode expérimentale est qu'elle ne repose sur aucun modèle à priori de la tête, nécessitant la plupart du temps une autre modalité d'imagerie médicale, ou des données issus de la littérature. De plus il n'y a aucune étape de reconstruction, ce qui facilite un traitement en temps réel des données. Nous exposons également les conditions d'extension de cette méthode à des données fonctionnelles. Enfin nous discutons des méthodes topographiques permettant d'étendre les données ponctuelles, à l'ensemble de la zone couverte par une série de couples source-détecteur. Les travaux présentés dans ce paragraphe ont été publiés dans B. Montcel et al. [89].

### III.3.2.1 Cartes de variations d'absorption résolues en temps

Cette méthode repose sur la loi de Beer-Lambert microscopique, introduite au paragraphe III.2.2.3. On déduit la variation d'absorbance microscopique par rapport à un instant de référence  $T_0$  telle que :

$$\Delta A_{T-T_0}^m = \ln\left(\frac{I_\lambda(t, T_0)}{I_\lambda(t, T)}\right) = \Delta\mu_{a\lambda}^{T-T_0} v_\lambda t \quad (\text{III.64})$$

Généralement l'absorbance microscopique est évaluée par un ajustement linéaire de la courbe expérimentale [97]. La pente de la droite ainsi ajustée permet d'obtenir  $\frac{\Delta A_{T-T_0}^m}{t}$  à tous les instants  $T$ .

Cette approche est implicitement basée sur la supposition que la variation d'absorption ( $\Delta\mu_a^{T-T_0}$ ) ne dépend pas du temps de vol des photons  $t$  (temps microscopique), mais seulement du temps de l'expérience  $T$  (temps macroscopique). En effet cette condition est nécessaire afin de pouvoir assimiler la variation d'absorbance microscopique à une droite. Or les simulations présentées par la figure III.14 montrent que ceci n'est valide que pour un milieu subissant une variation homogène de l'absorption. Nous avons simulé la variation d'absorption en fonction du temps microscopique, pour une augmentation homogène du coefficient d'absorption sur l'ensemble d'un milieu donné, par rapport à ce même milieu servant de référence. Puis nous avons répété les simulations pour des variations hétérogènes ; l'une superficielle, l'autre profonde. Les résultats montrent que la variation d'absorption ne peut être considérée constante, en fonction du temps microscopique, que pour une variation homogène de l'absorption dans le milieu. De plus elle montre des comportements symétriques l'un de l'autre dans le cas de variations superficielle ou profonde.

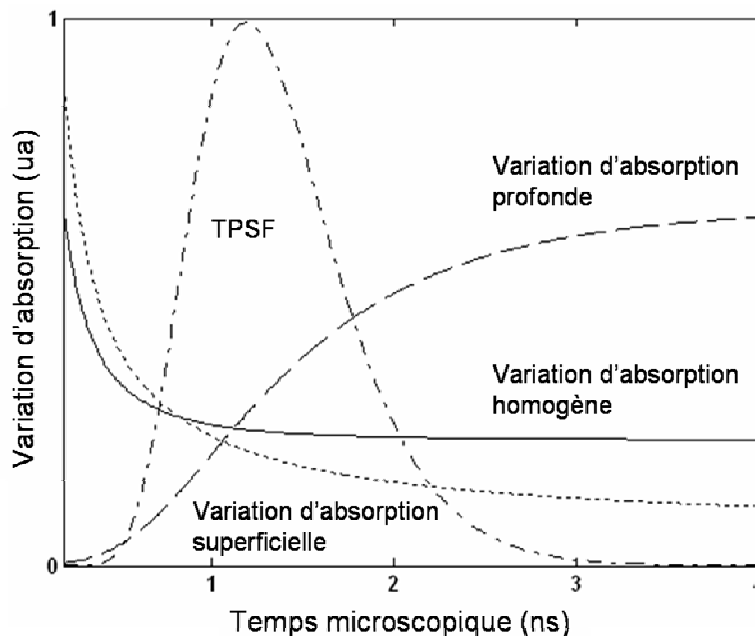


Figure III.14 : Simulations MEF de la variation d'absorption en fonction du temps microscopique pour une variation homogène (ligne continue) de l'absorption et pour des variations superficielle (ligne en pointillé) et profonde (ligne discontinue). TPSF (ligne discontinue et en pointillé)



Les PMDF résolues en temps montrent que chaque pas temporel expérimental correspond à une zone, explorée par la mesure, différente. De plus, la profondeur de la zone explorée augmente pour les pas temporels tardifs. Ainsi l'idée sur laquelle repose la méthode est que le signal mesuré sur chaque pas temporel correspond à une zone explorée donnée, ayant une absorption moyenne, et donc une variation d'absorption moyenne donnée. Par conséquent on définit la variation d'absorption résolue en temps comme une fonction à la fois des temps microscopique et macroscopique. Ainsi :

$$\Delta\mu_{a\lambda}(t, T - T_0) = \frac{\ln\left(\frac{I_\lambda(t, T_0)}{I_\lambda(t, T)}\right)}{v_\lambda t} \quad (\text{III.65})$$

L'échelle de temps microscopique nous renseigne sur la profondeur des variations d'absorption mesurées en surface, puisque l'influence des régions profondes augmente au fur et à mesure que l'on considère des pas temporels plus tardifs. Toutefois, il est important d'insister sur le fait que le temps microscopique n'est pas une échelle de profondeur. En effet les signaux mesurés dans chaque pas temporel sont tous fortement pondérés par les propriétés optiques des régions superficielles.

Les caractéristiques de la réponse hémodynamique cérébrale rendent cette méthode bien adaptée à son étude. En effet on considère que la réponse hémodynamique n'induit que des variations de volume sanguin et d'oxygénation de l'hémoglobine. Ainsi elle ne provoque que des variations de l'absorption et laisse la diffusion inchangée. Il est donc possible d'évaluer la variation d'absorbance microscopique par rapport à un instant de référence, durant l'expérience, sans connaître la distribution de chemin optique des photons. Cette distribution est supposée constante au cours de l'expérience puisque qu'elle est indépendante de l'absorption. Enfin la réponse hémodynamique est essentiellement localisée dans la matière grise. Les concentrations d'oxy- et de déoxy-hémoglobine dans les couches superficielles de la tête sont relativement constantes au cours de l'activité cérébrale. Ainsi le milieu subit des variations d'absorption fortement hétérogènes.

Le premier avantage de cette méthode est qu'elle repose seulement sur des paramètres expérimentaux, c'est-à-dire les pas temporels imposés par les caractéristiques expérimentales. Ainsi aucune information a priori sur la géométrie ou les propriétés optiques du milieu ne sont nécessaires. De plus elle ne nécessite aucune étape de reconstruction, ce qui est un atout décisif dans l'optique d'un fonctionnement en temps réel. Enfin, en plus d'apporter une information sur la profondeur des variations mesurées, cette méthode est un moyen fiable d'attester du caractère superficiel ou profond d'une variation d'absorption. En effet les comportements induits, selon la profondeur de la modification, sont symétriques l'un par rapport à l'autre.

#### III.3.2.2 Topographie

La topographie est simplement l'interpolation de mesures ponctuelles sur l'ensemble de la zone couverte par les différents couples source-détecteur. Toute la difficulté consiste à choisir un point, ou une zone, auquel affecter la mesure effectuée pour un couple source-détecteur. Généralement on choisit le milieu du segment défini par la source et le détecteur. L'extension topographique de la méthode présentée ci-dessus est difficilement concevable, car les régions explorées par deux couples source-détecteurs distincts ne correspondent pas entre elles. Ainsi on peut utiliser l'ensemble des méthodes décrites dans la partie III.2.2 pour obtenir des données sur

l'absorption du milieu, ou des données fonctionnelles dans le cas de mesures à plusieurs longueurs d'onde. Toutefois on peut dépasser la simple topographie de l'intensité totale, en considérant l'intensité pour les photons tardifs et pour les photons précoces. La distinction des photons tardifs est basée sur un critère relatif à chaque TPSF, et non sur un intervalle de temps absolu. Par exemple on peut choisir un intervalle de temps où la TPSF atteint une certaine proportion de son maximum, ou de son temps moyen. Ainsi on définit une zone superficielle (photons précoces) et une zone profonde (photons tardifs). Les variations de la position de la frontière entre ces deux zones, en fonction du couple d'optodes considéré, sont négligées. Toutefois choisir un nombre d'intervalles de temps supérieurs à 2, imposerait de négliger la variation de la localisation en profondeur des zones intermédiaires (entre la zone profonde et la zone superficielle) en fonction du couple d'optodes considéré. Ceci serait beaucoup plus difficile à justifier car ces zones intermédiaires correspondent à des régions beaucoup moins étendues que celles définies par les photons précoces ou tardifs.



## Chapitre IV

# Validation expérimentale des méthodes d'imagerie

### Sommaire

IV.1	Validation sur objets test calibrés	88
IV.1.1	Caractérisation des objets test	88
IV.1.1.1	Conception des objets test	88
IV.1.1.2	Caractérisation optique à partir de mesures résolues en temps	89
IV.1.2	Imagerie des propriétés optiques	92
IV.1.2.1	Conception des objets test	92
IV.1.2.2	Reconstruction d'images des propriétés optiques	92
IV.1.3	Imagerie moléculaire	95
IV.1.3.1	Conception des objets test	95
IV.1.3.2	Reconstruction d'images moléculaires	96
IV.1.4	Imagerie cérébrale	97
IV.1.4.1	Conception des objets test	97
IV.1.4.2	Variation d'absorption résolue en temps	98
IV.1.4.3	Topographie	101
IV.2	Validation <i>in vivo</i> des méthodes d'imagerie cérébrale	102
IV.2.1	Détection d'activation cérébrale	103
IV.2.2	Amélioration de la détection	105
IV.2.3	Cartes de variations d'absorption résolues en temps	108
IV.2.4	Topographie	112

Ce chapitre présente la validation expérimentale des méthodes proposées dans le chapitre III. Il s'agit d'une étape fondamentale puisque la conformité à l'expérience est le seul juge de validité en Physique. La première partie décrit la validation sur des objets test aux propriétés optiques calibrées, ce qui permet de simuler fidèlement leur comportement. Ensuite les méthodes proposées pour l'imagerie cérébrale sont validées sur des expériences neuro-fonctionnelles. Cette étape est primordiale pour s'assurer de la transposition des méthodes aux expériences *in vivo*, malgré les impératifs expérimentaux.

### IV.1 Validation sur objets test calibrés

Nous présentons la fabrication des objets test ainsi que la caractérisation de leurs propriétés optiques. Ensuite nous présentons la reconstruction d'images des propriétés optiques et moléculaires. Nous décrivons la comparaison entre les variations d'absorption résolues en temps simulées et expérimentales pour des inclusions absorbantes profondes ou superficielles. Enfin nous présentons la reconstruction d'une image topographique.

#### IV.1.1 Caractérisation des objets test

Les choix de conception des objets sont guidés par l'impératif d'obtenir des propriétés optiques aussi fidèles que possible à celles des tissus biologiques. Un tissu est un milieu hétérogène complexe, qui présente des fluctuations aléatoires de l'indice de réfraction et de la répartition des différentes espèces chimiques absorbantes. Il serait illusoire, et inutile, de vouloir réaliser, et calibrer, un objet test reproduisant ces structures. En effet nous avons précisé au chapitre I que notre modèle de propagation lumineuse ne repose que sur deux paramètres optiques, les coefficients d'absorption  $\mu_a$  et de diffusion réduit  $\mu'_s$ . Il assimile le tissu à un milieu d'indice de réfraction constant, contenant des centres diffuseurs et absorbeurs répartis localement de façon uniforme. Ainsi le seul critère définissant la validité des objets test, est la conformité de leurs coefficients d'absorption et de diffusion à ceux des tissus biologiques dans le PIR. Un objet test est l'assemblage de trois ingrédients, une matrice transparente, des éléments diffusants et des éléments absorbants. Nous présentons la conception et la caractérisation expérimentale des matériaux utilisés pour les objets test, réalisées au laboratoire durant la thèse de V. Zint [145]. Nous présentons également une technique de caractérisation basée sur les mesures résolues en temps des deux appareils décrits au chapitre II.

##### IV.1.1.1 Conception des objets test

Le matériau transparent choisi est une résine polyester polymérisable (Pascal-Rosier [156]) d'indice de réfraction de 1,54 et de coefficient d'absorption d'environ  $0,01 \text{ cm}^{-1}$  dans la plage de longueur d'onde de 690 à 870 nm. Le choix d'objets test solides complique leur réalisation. Toutefois le gain que représente leur utilisation, en terme de contraintes expérimentales et de stabilité de l'objet au cours du temps, est suffisamment significatif pour justifier ce choix. En effet les objets test liquides sont souvent composés de matériaux résistant mal à la dégradation à l'air libre. De plus, l'indispensable récipient perturbe généralement les conditions expérimentales.

Le chromophore utilisé est de l'encre de Chine (Conté). Son spectre d'absorption dans la résine, mesuré à l'aide d'un spectrophotomètre, est illustré sur la figure IV.8. Les éléments diffusants sont des particules de dioxyde de titane ( $\text{TiO}_2$ , Sigma-Aldrich [159]). Leur indice de réfraction est d'environ 2,6 mais leur taille est mal maîtrisée. Ainsi le calcul des propriétés de

diffusion des objets test est impossible. C'est pourquoi des expériences de caractérisation ont été réalisées. Elles sont basées à la fois sur des mesures de la transmission collimatée à l'aide d'un spectrophotomètre et d'une sphère d'intégration, et sur des mesures de réflexion diffuse [145]. Les résultats de ces caractérisations nous fournissent le coefficient de diffusion réduit  $\mu'_s$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) en fonction de la longueur d'onde d'un objet en résine contenant 10 mg/ml de  $\text{TiO}_2$  :

$$\mu'_s = 1,211 \cdot 10^7 \lambda^{-1.668} (1 - g) \quad (\text{IV.1})$$

avec  $\lambda$  (nm) la longueur d'onde et  $g$  le coefficient d'anisotropie tel que :

$$g = 0,78 - 1,07 \cdot 10^{-4} \lambda \quad (\text{IV.2})$$

Le protocole de fabrication des objets, détaillé ailleurs [145], peut être subdivisé en 3 étapes principales :

- Choix du récipient : Le moule, permettant de définir la forme de l'objet test, doit être constitué d'un matériau non réactif lors de la réaction catalysée de polymérisation de la résine. Notre choix se porte généralement sur des récipients en polypropylène.
- Dosage des différents produits : Afin d'obtenir un objet test ayant les propriétés de diffusion et d'absorption voulues il faut mélanger les différents éléments dans les proportions adéquates et suivant un protocole défini. Tout d'abord le  $\text{TiO}_2$  et l'encre de Chine sont mélangés dans de l'éthanol, sachant que le volume d'éthanol ne doit pas dépasser 1 à 2 % du volume total de l'objet. Ce mélange est homogénéisé par ultrason. Ensuite le  $\text{TiO}_2$  et l'encre de Chine sont ajoutés à la résine polyester et l'ensemble est de nouveau homogénéisé. Enfin 0,5 % en volume de catalyseur est incorporé et mélangé à l'ensemble. L'échantillon doit rester 24 heures sous une hotte ventilée avant démoulage.
- Usinage : L'objet durci est usiné à la bonne dimension ce qui permet d'éliminer les irrégularités de surface et de dépolir les faces externes.

La précision des mesures de  $\mu_a$  et  $\mu'_s$  d'un objet test en résine est satisfaisante ( $\pm 10\%$  [145]), toutefois cette validation est longue et fastidieuse, et les propriétés optiques des différents matériaux peuvent évoluer d'un arrivage à l'autre. De plus la résine utilisée pour les nouveaux objets ne provient malheureusement plus du même fournisseur. Pour ces raisons, nous avons mis en place une technique reposant sur les mesures résolues en temps, afin de pouvoir calibrer les objets test à l'aide de notre système.

#### IV.1.1.2 Caractérisation optique à partir de mesures résolues en temps

La méthode de caractérisation est basée sur l'ajustement des données mesurées sur un objet de la première catégorie (voir paragraphe II.1.2.3). C'est un cylindre de 10 cm de diamètre et de 3,5 cm de hauteur. La nouvelle résine polyester (Roth-Sochiel [158]) a un indice de réfraction de 1,54, similaire à celui de l'ancienne résine, mais son coefficient d'absorption est largement supérieur, soit environ  $0,05 \text{ cm}^{-1}$  dans la plage de longueur d'onde de 690 à 870 nm. Nous assimilons l'objet à une tranche semi infinie afin de pouvoir utiliser le modèle analytique décrit au paragraphe I.2.3.1, qui nous permet de calculer le signal réfléchi à la surface de la tranche d'épaisseur  $d$ , pour une distance inter-optodes  $\rho$  tel que :

$$R(\rho, d, t) = A(4\pi\kappa)^{-3/2} t^{-5/2} \exp(-\mu_a ct - \frac{\rho^2}{4\kappa ct}).$$

$$\left[ z_0 \exp(-\frac{z_0^2}{4\kappa ct}) - (2d - z_0) \exp(-\frac{(2d - z_0)^2}{4\kappa ct}) + (2d + z_0) \exp(-\frac{(2d + z_0)^2}{4\kappa ct}) \right] \quad (\text{IV.3})$$

Avec  $A$  un facteur d'amplitude, indispensable puisque la TPSF est mesurée dans une unité arbitraire. L'ajustement de la TPSF sur ce modèle repose sur la minimisation de la différence entre la TPSF simulée et la TPSF expérimentale convoluée par la RIS de l'appareil. Ce processus est délicat puisqu'il s'agit, comme pour la TOD, de résoudre un problème inverse. Avec en plus de  $\mu_a$  et  $\mu_s'$ , le facteur  $A$  à ajuster. Ainsi la fonction décrivant l'erreur en fonction de  $\mu_a$  et  $\mu_s'$  possède de nombreux minima locaux qui ne correspondent pas à la véritable valeur des coefficients de l'objet. L'étape de régularisation, décrite au chapitre III, permet d'améliorer cet ajustement, mais le nombre de données dans une seule TPSF est insuffisant pour assurer une convergence fiable à partir de propriétés initiales arbitraires. Ainsi il est important que les paramètres initiaux soient aussi proches que possible de la solution. Dans cette perspective, la caractérisation s'effectue en trois étapes. Premièrement le coefficient d'absorption  $\mu_a$  de la résine et de l'encre de Chine est évalué par une mesure sur un spectrophotomètre. Ensuite le ratio entre les TPSF mesurées à deux distances inter-optodes différentes nous permet d'évaluer le coefficient de diffusion réduit  $\mu_s'$ . En effet en s'inspirant d'une technique décrite par Vernon M.L. et al. [135], nous montrons que ce ratio peut s'écrire ainsi :

$$\frac{R(\rho_1, d, t)}{R(\rho_2, d, t)} = \exp\left(\frac{\rho_2^2 - \rho_1^2}{4\kappa ct}\right) \quad (\text{IV.4})$$

Où  $\rho_1$  et  $\rho_2$  correspondent aux deux distances inter-optodes. Or en négligeant  $\mu_a$  par rapport à  $\mu_s'$  dans l'expression de la constante de diffusion  $\kappa = 1/3(\mu_a + \mu_s')$  on remarque que ce ratio est indépendant de  $\mu_a$  et de  $A$ . La comparaison des ratios expérimental et simulé impose que la RIS du système soit négligeable, puisque la convolution d'un rapport de deux fonctions, n'est pas égale au rapport des fonctions convoluées. C'est pourquoi nous utilisons un autre appareil (décrit au paragraphe ci dessous) pour cette étape. La dernière étape consiste à ajuster la TPSF sur le modèle, (équation IV.3) en prenant pour propriétés optiques initiales celles définies par les étapes précédentes.

### Appareil pour la caractérisation des objets test.

Un premier système expérimental basé sur un laser femtoseconde et une caméra à balayage de fente a été mis en place au laboratoire durant la thèse de V. Zint [145]. Il est inadapté à l'imagerie neurofonctionnelle, mais la faible largeur à mi hauteur de sa RIS, permet de la négliger, et donc évite l'étape de déconvolution. Ce paragraphe se borne à décrire globalement le système ainsi que les performances présentant un intérêt pour nous. Une description plus complète existe ailleurs [145, 146]. La source est un laser impulsif Ti-Sa (Tsunami, Spectra Physics [160]) pompé par un laser continu (Millenia, Spectra Physics [160]). Elle délivre des impulsions femtoseconde (<100 fs) dans le PIR (700 à 910 nm) à une fréquence élevée (82 MHz). La puissance moyenne est de l'ordre du Watt. La caméra à balayage de fente permet de convertir la dimension temporelle de l'impulsion en une dimension spatiale qui est projetée sur une caméra CCD. La fréquence de répétition du laser impose une utilisation en mode synchroscan. Le paramètre qui nous intéresse est la résolution temporelle de ce système. Son évaluation est réalisée à l'aide d'un interféromètre de Michelson. L'impulsion femtoseconde est envoyée à l'entrée de l'interféromètre.

Les chemins optiques suivis par les deux bras sont décalés l'un par rapport à l'autre de 1 cm. On visualise à l'aide du système de détection les deux impulsions séparées de 67 ps. Ce montage permet de définir la résolution temporelle pour chaque pixel. En effet cette résolution n'est pas linéaire sur l'ensemble de la plage de mesure. La résolution maximale (au centre) était d'environ 4 ps lors de nos expériences.

Les résultats de la caractérisation à 785 nm d'un objet contenant 0,74 mg/ml de  $\text{TiO}_2$  et 6,5 ppm d'encre de Chine sont présentés ci-dessous à titre d'exemple. La mesure de  $\mu_a$  par le spectrophotomètre a donné une valeur de  $0,1 \text{ cm}^{-1}$ . L'ajustement de l'ensemble des ratios des TPSF mesurées entre 1 cm et 1,5 cm (par pas de 0,1 cm) a donné un  $\mu_s'$  de  $6,3 \text{ cm}^{-1}$ . Le résultat de l'ajustement du ratio entre les TPSF à 1 cm et 1,3 cm est illustré par la figure IV.1 à titre d'exemple. Cet ajustement a été effectué sur la plage temporelle allant de 0,058 ns à 0,492 ns, car les données précédant et suivant cette plage affichaient un rapport signal à bruit trop faible pour assurer la fiabilité des mesures. Enfin l'ajustement sur l'ensemble des TPSF a donné un  $\mu_a$  de  $0,09 \text{ cm}^{-1}$  et un  $\mu_s'$  de  $6,4 \text{ cm}^{-1}$ . Les équations IV.1 et IV.2 donneraient un  $\mu_s'$  de  $4 \text{ cm}^{-1}$ . L'augmentation de  $\mu_s'$  par rapport à l'ancienne résine et la diminution de  $\mu_a$  par rapport à la mesure sur le spectrophotomètre, peuvent s'expliquer par une légère diffusion intrinsèque de la nouvelle résine. Le résultat de l'ajustement de la TPSF à 1 cm est illustré par la figure IV.2 à titre d'exemple.

L'ajustement sur l'ensemble de la TPSF est une étape délicate. Ainsi à partir de paramètres initiaux différents, l'algorithme trouvera des solutions complètement différentes minimisant le critère de façon identique. Les caractérisations effectuées lors de la thèse de V. Zint [145] et les deux premières étapes de la caractérisation résolue en temps, sont les garantes que les paramètres initiaux sont proches de la véritable solution. Dans ces conditions, la caractérisation des propriétés optiques des objets test peut être considérée comme fiable.

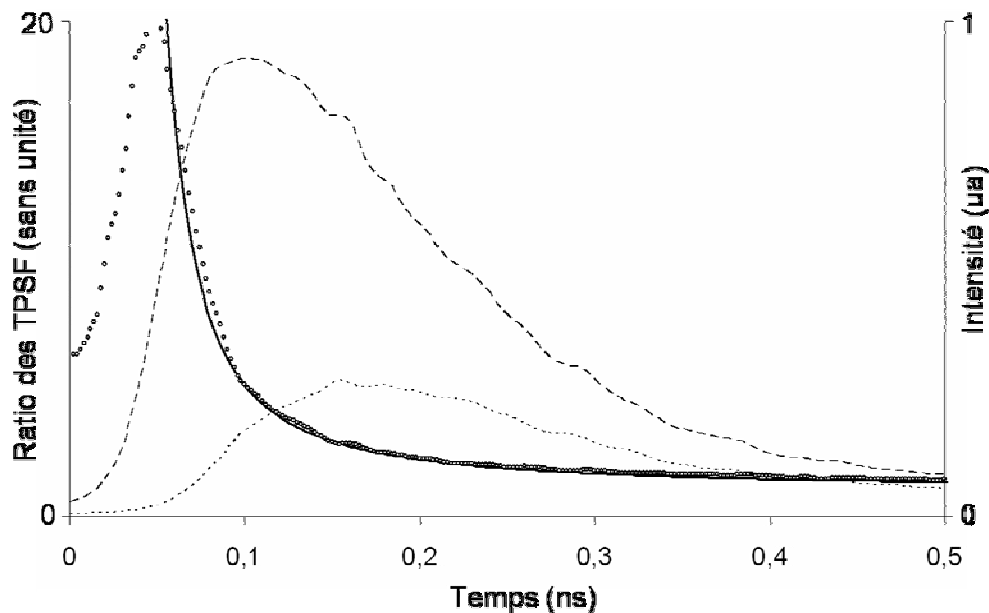


Figure IV.1 : Ajustement du ratio simulé (ligne épaisse continue) et expérimental (cercles) entre la TPSF à 1 cm (ligne discontinue) et la TPSF à 1,3 cm (ligne en pointillé).



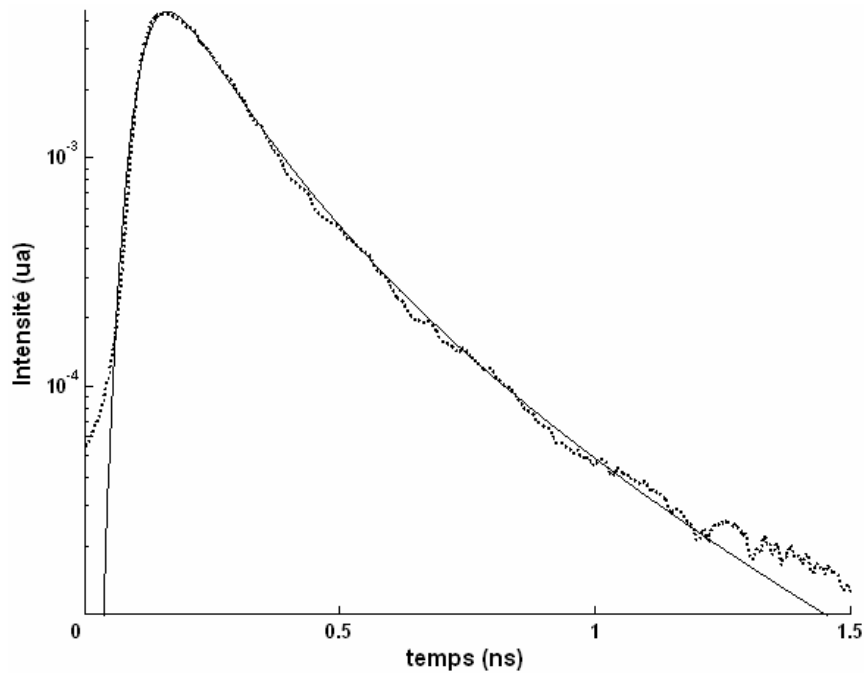


Figure IV.2 : Ajustement de la TPSF expérimentale (ligne en pointillé) et de la TPSF simulée puis convoluée (ligne continue) par la RIS.

## IV.1.2 Imagerie des propriétés optiques

### IV.1.2.1 Conception des objets test

L'objet test présenté est de la deuxième catégorie. Il s'agit d'un cylindre de 8 cm de hauteur et de 4 cm de diamètre, ayant un  $\mu_a$  de  $0,05 \text{ cm}^{-1}$  et un  $\mu_s'$  de  $4 \text{ cm}^{-1}$ . Il contient trois inclusions de propriétés optiques différentes du fond (figure IV.4). Une inclusion est 10 fois plus absorbante, une est 5 fois plus diffusante et la dernière est à la fois 2 fois plus diffusante et 2 fois plus absorbante.

### IV.1.2.2 Reconstruction d'images des propriétés optiques

La mesure est effectuée suivant le protocole, relatif aux objets de la deuxième catégorie, décrit au paragraphe II.1.2.3. Les paramètres caractéristiques ( $E$ ,  $\langle t \rangle$  et  $c_2$ ) sont extraits des TPSF (équations III.12 à III.14). Ensuite ils sont déconvolués (équation III.16) ce qui permet de supprimer l'influence des RIS de chaque voie de mesure (figure IV.3).

Les images reconstruites avec les paramètres absolus sont illustrées par la figure IV.5. Des mesures effectuées sur un objet homogène, ayant les mêmes propriétés que le fond de l'objet hétérogène, permettent de calculer les paramètres caractéristiques relatifs (équation III.17). Les images reconstruites avec les paramètres relatifs sont illustrées par la figure IV.6. La taille ainsi que la localisation des inclusions sur les images sont relativement fidèles à la réalité. Il y a des différences notables selon les paramètres choisis pour la reconstruction. Ainsi la reconstruction à partir de paramètres absolus a du mal à distinguer l'inclusion faiblement absorbante. De plus, un phénomène de diaphonie, entre l'absorption et la diffusion, fait apparaître une inclusion absorbante à la place de l'inclusion diffusante. Ceci s'explique par le manque de complémentarité des comportements de  $\langle t \rangle$  et  $c_2$  par rapport à des variations des propriétés optiques.  $E$  est par contre

complémentaire de  $\langle t \rangle$  et  $c_2$ . C'est pourquoi les images reconstruites à partir des paramètres relatifs sont moins sensibles à ce phénomène de diaphonie. La qualité de la reconstruction dépend de nombreux paramètres tels la finesse du maillage, le type d'algorithme utilisé, la combinaison de paramètres caractéristiques choisie ou encore l'utilisation d'information à priori ou de technique de maillage adaptatif. Ces questions sont discutées en détail ailleurs [126].

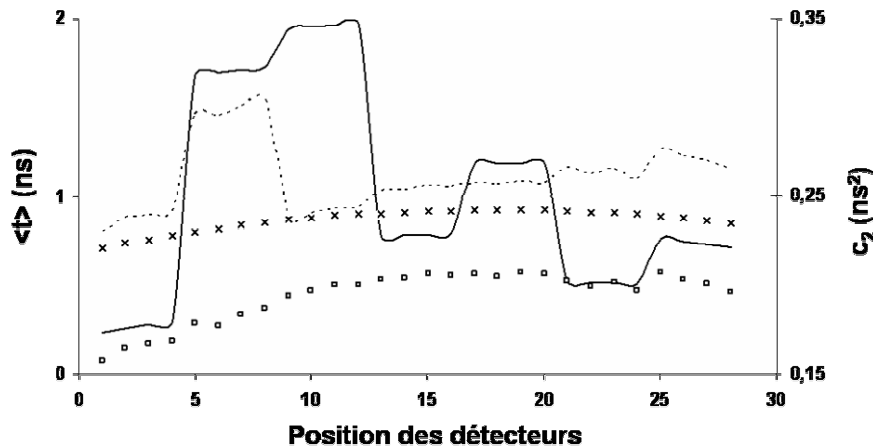


Figure IV.3 : déconvolution des paramètres caractéristiques.  $\langle t \rangle$  brute (ligne continue) et déconvolué (croix),  $c_2$  brute (ligne en pointillé) et déconvolué (carré vide).

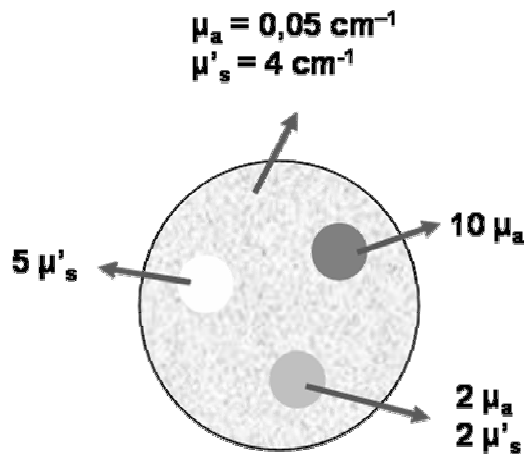


Figure IV.4 : Schéma de l'objet hétérogène en résine pour l'imagerie des propriétés optiques.

Afin de démontrer l'adéquation entre la localisation spatiale des inclusions réelles et de l'image reconstruite, nous avons réalisé des objets test dont les inclusions présentent également un contraste en IRM. A cet effet la résine est remplacée par un gel d'agarose (2%), et les inclusions contiennent des nano-particules de fer superparamagnétique (Endorem) dont la concentration ( $[\text{Fe}] = 50 \mu\text{mol}$ ) est suffisamment faible pour négliger leur influence sur les propriétés optiques. Les images reconstruites, présentées par la figure IV.7, montrent la qualité de la localisation des inclusions. Toutefois ces images illustrent également que la TOD est attractive avant tout parce qu'elle est une technique d'imagerie fonctionnelle. En effet il est peu probable qu'elle concurrence les techniques d'imagerie anatomiques classiques (IRM, scanner X), dans un avenir proche.

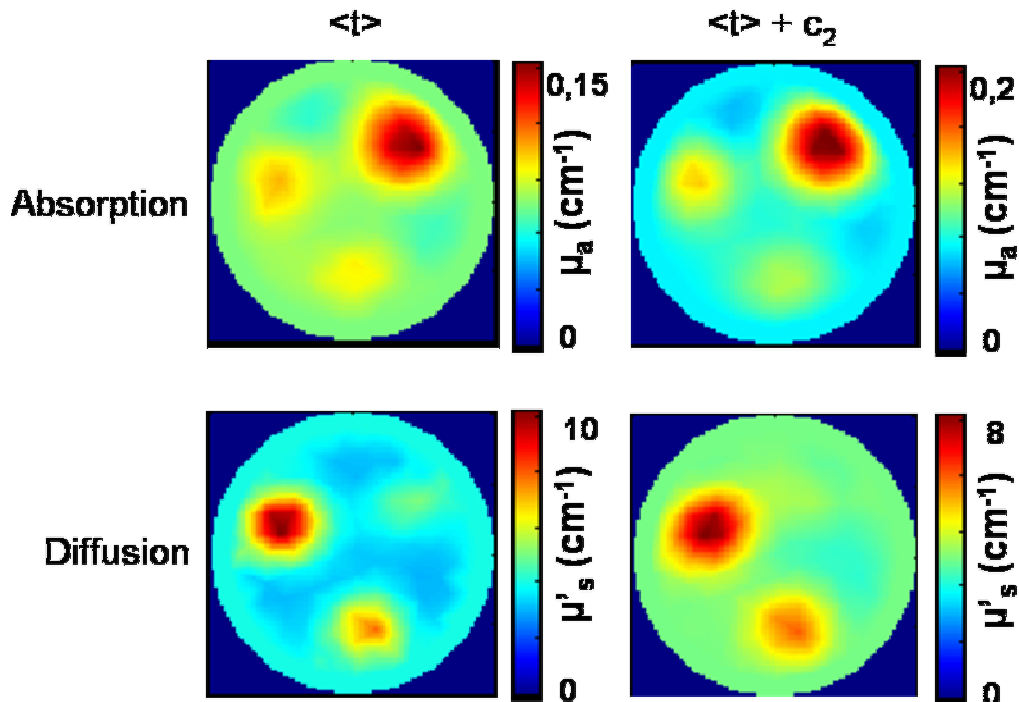


Figure IV.5 : Objet hétérogène en résine. Images d'absorption et de diffusion à 785 nm reconstruites à partir de combinaisons de paramètres absolus.

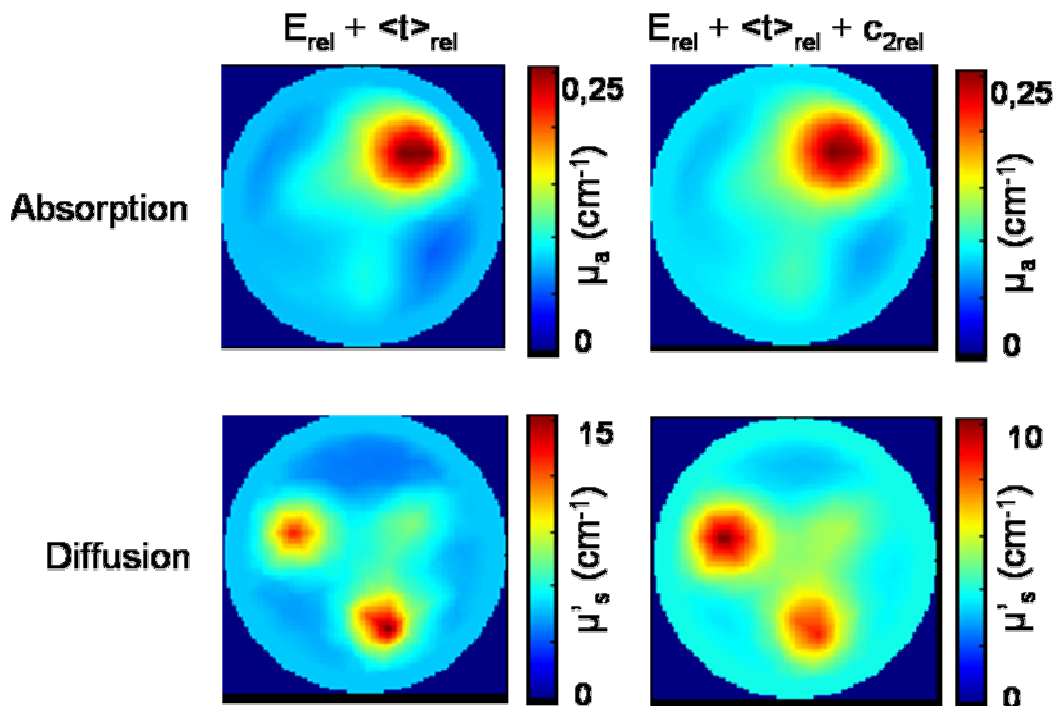


Figure IV.6 : Objet hétérogène en résine. Images d'absorption et de diffusion à 785 nm reconstruites à partir de combinaisons de paramètres relatifs.

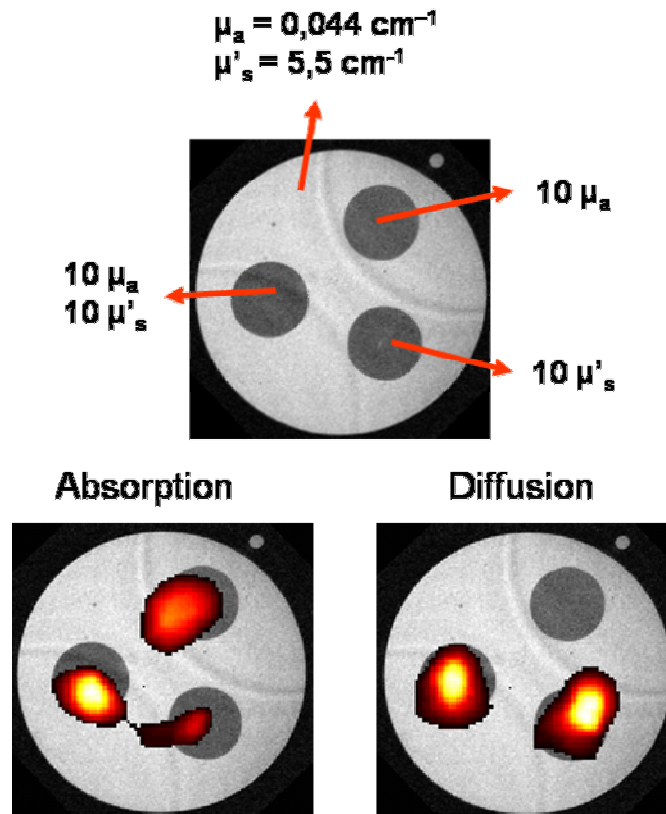


Figure IV.7 : Images d'absorption et de diffusion à 785 nm superposées à l'IRM (pondérée en  $T_2$ ) de l'objet hétérogène en agarose (IRM 4,7 T).

### IV.1.3 Imagerie moléculaire

Comme nous venons de le préciser, la TOD est surtout prometteuse en terme d'imagerie fonctionnelle, ou moléculaire. C'est pourquoi la deuxième étape, après la reconstruction des images des propriétés optiques, est la reconstruction d'images moléculaires, c'est-à-dire d'images de concentration d'un chromophore donné.

#### IV.1.3.1 Conception des objets test

Afin de valider la reconstruction d'images fonctionnelles d'oxy- et de déoxy-hémoglobine, il nous faut deux chromophores supplémentaires dans le PIR, dont les spectres d'absorption soient suffisamment distincts l'un de l'autre. Ainsi l'encre de Chine représentera l'ensemble des autres absorbeurs (eau, lipide, etc.) des tissus biologiques. Cette tâche est compliquée par le fait que la plupart des chromophores PIR perdent leur pouvoir d'absorption lors de la polymérisation de la résine. Les deux produits, dont les spectres d'absorption sont illustrés par la figure IV.8, sont le Bleu Luxol (Solvent Blue 38, CAS # 1328-51-4) et le Projet 900 (Avecia, [147]). Le Bleu Luxol est très stable, mais le Projet 900 perd une partie de son pouvoir absorbant avec le temps. Toutefois son absorption reste suffisante pour permettre la reconstruction d'images moléculaires.

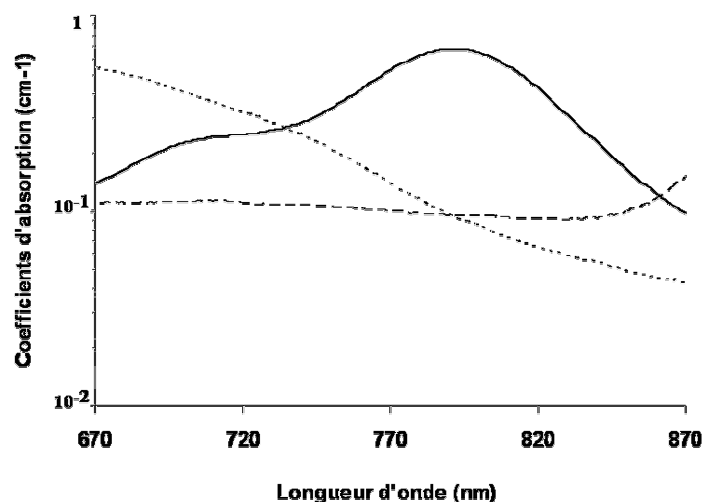


Figure IV.8 : Spectres d'absorption des chromophores de l'objet test. Résine et encre de Chine (6,5 ppm, ligne discontinue), Bleu Luxol (25  $\mu\text{mol}$ , ligne en pointillé) et Projet 900 (6,3  $\mu\text{mol}$ , ligne continue).

L'objet test est de la deuxième catégorie. Il s'agit d'un cylindre de 8 cm de hauteur et de 4 cm de diamètre. L'ensemble de l'objet possède des propriétés d'absorption ( $\mu_a$  de  $0,1 \text{ cm}^{-1}$ ) et de diffusion ( $\mu_s'$  de  $6 \text{ cm}^{-1}$ ) dues uniquement au  $\text{TiO}_2$  et à l'encre de Chine. Il contient trois inclusions qui possèdent également des concentrations variables de Bleu Luxol et de Projet 900 (figure IV.9). Une inclusion contient 25  $\mu\text{mol}$  de Bleu Luxol, une autre contient 6,3  $\mu\text{mol}$  de Projet 900 et la dernière contient à la fois 12,5  $\mu\text{mol}$  de Bleu Luxol et 3,1  $\mu\text{mol}$  de Projet 900.

#### IV.1.3.2 Reconstruction d'images moléculaires

La mesure est effectuée suivant le protocole, relatif aux objets de la deuxième catégorie, décrit au paragraphe II.1.2.3 à 3 longueurs d'onde (690 nm, 785 nm et 830 nm). Les paramètres caractéristiques ( $E$ ,  $\langle t \rangle$  et  $c_2$ ) sont extraits des TPSF (équations III.12 à III.14). Ensuite ils sont déconvolués (équation III.16) ce qui permet de supprimer l'influence des RIS de chaque voie de mesure (figure IV.3). Les images des propriétés optiques à chaque longueur d'onde sont reconstruites comme précédemment. Ensuite le processus explicité au paragraphe III.2.1 permet la reconstruction des images de concentration de Bleu Luxol et de Projet 900 (figure IV.9). La concentration d'encre de Chine est considérée comme homogène et connue dans cette étape de reconstruction. Comme précédemment les inclusions des différents chromophores sont retrouvées et placées convenablement. Par contre les valeurs quantitatives sont plus faibles qu'en réalité, en particulier pour le Projet 900. Pour ce dernier, cela peut être dû à un problème de stabilité de son pouvoir d'absorption dans la résine. Nous avons précisé au chapitre III que la technique utilisée pour la reconstruction d'images moléculaires est très basique. Ainsi en éliminant l'étape de reconstruction des images des propriétés optiques il est possible d'améliorer significativement la qualité des images [78]. Ces premiers résultats ont pour seule intention la validation du principe de la TOD moléculaire, afin d'envisager son application *in vivo*, en particulier pour des études sur le petit animal.

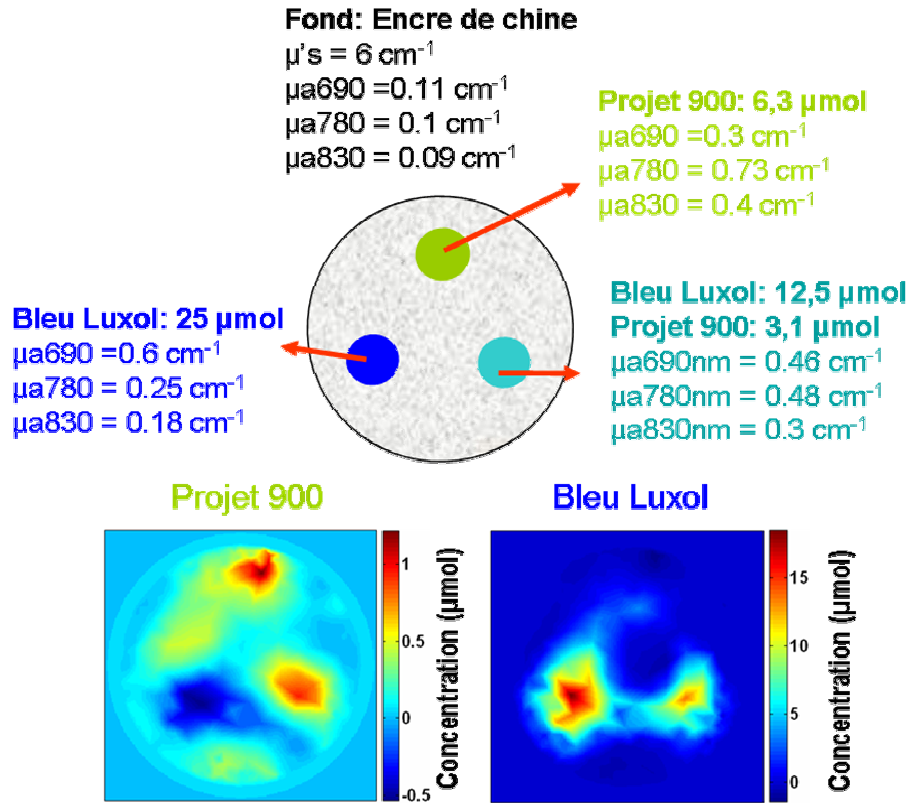


Figure IV.9 : Objet hétérogène en résine. Images de concentration du Bleu Luxol et du Projet 900. Mesures à 690 nm, 785 nm et 830 nm.

#### IV.1.4 Imagerie cérébrale

Nous avons proposé des méthodes pour l'imagerie cérébrale au chapitre III, notamment l'idée de la variation d'absorption résolue en temps. En effet les simulations MEF montrent qu'une variation d'absorption hétérogène induit une variation d'absorption variable en fonction du temps microscopique. Afin de valider ces méthodes, nous fabriquons des objets permettant de simuler les variations d'absorption hétérogènes se produisant dans la tête.

##### IV.1.4.1 Conception des objets test

L'objet test fabriqué pour la validation de cette méthode est de la première catégorie (voir paragraphe II.1.2.3). C'est donc un cylindre de 10 cm de diamètre et de 3,5 cm de hauteur (figure IV.10). Il est composé d'une succession de couches d'épaisseur et de propriétés optiques équivalentes à celles du modèle de la tête. Le tableau IV.1 décrit l'ensemble des caractéristiques de cet objet dit "objet cerveau".

Couches de l'objet	Epaisseur (cm)	$\mu_a \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	$\mu'_s \text{ (cm}^{-1}\text{)}$
Peau	0,4	0,18	19
Crâne	1,1	0,16	16
Méninges	0,1	0,04	2,4
MG	0,6	0,36	22
MB	1,3	0,14	91

Tableau IV.1 : Caractéristiques de l'objet "cerveau".

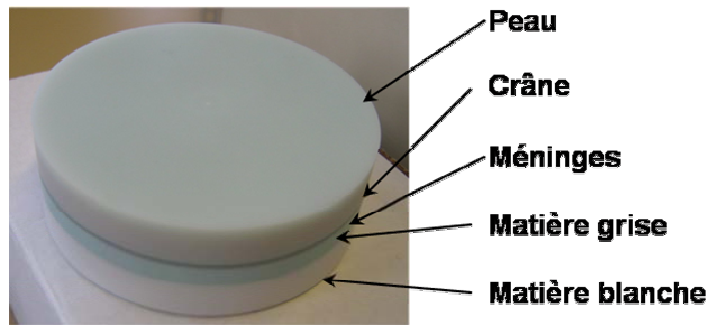


Figure IV.10 : Objet test "cerveau".

Nous évidons une partie du centre de l'objet en laissant intacte une fine couche superficielle de peau (1,5 mm). Nous fabriquons des inclusions, de taille correspondante au trou, ayant la même configuration en couches que l'objet, mais présentant des propriétés optiques différentes dans les couches d'intérêt. Ainsi les interfaces entre l'objet et les optodes ne sont pas modifiées par l'interversion des différentes inclusions. Cette configuration est indispensable car les conditions aux interfaces ne sont jamais les mêmes d'un montage à l'autre. Une solution aqueuse, d'encre de Chine et de microsphère de polystyrène calibrées, ayant les mêmes propriétés optiques que la peau assure l'interface entre l'objet et l'inclusion. Deux configurations ont été testées. Le cas d'une variation profonde, où l'inclusion absorbante est située dans la couche de la MG (profondeur 1,6 cm, diamètre 2,7 cm, épaisseur 0,6 cm). Ainsi que le cas d'une inclusion superficielle, où l'inclusion absorbante est située dans la couche de la peau (profondeur 0,15 cm, diamètre 4 cm, épaisseur 0,25 cm)

#### IV.1.4.2 Variation d'absorption résolue en temps

Les simulations MEF montrent que la variation d'absorption résolue en temps se comporte différemment selon que l'inclusion absorbante est profonde ou superficielle. Nous présentons la comparaison entre ces simulations et les expériences sur l'objet "cerveau".

##### **Inclusion absorbante profonde**

La source et le détecteur sont placés à 4 cm l'un de l'autre à la surface de l'objet. Les TPSF à 690 nm avec et sans l'inclusion absorbante sont présentées par la figure IV.11. La comparaison entre les variations d'absorption résolues en temps simulées et expérimentales est présentée par la figure IV.12. Les valeurs expérimentales sont très bruitées au début, mais la majeure partie de la courbe, pour les temps auxquels la TPSF est significativement supérieure au bruit, confirme les résultats des simulations. Il convient de noter ici que les simulations ont nécessité un ajustement des propriétés optiques, par rapport aux valeurs souhaitées pour l'objet test, afin de faire correspondre la TPSF expérimentale à la TPSF simulée et convoluée. La fabrication de cet objet test est beaucoup plus complexe que celle des objets utilisés pour la caractérisation des propriétés optiques. Ainsi l'épaisseur et les concentrations des différents éléments absorbants et diffusants de chaque couche de l'objet "cerveau" sont difficiles à contrôler lors de la fabrication. De plus nous avons déjà précisé que le pouvoir d'absorption du Projet 900 n'est pas stable dans le temps. Tous ceci permet d'expliquer la nécessité de cet ajustement des propriétés optiques dans les simulations. Toutefois il est important d'insister sur le fait que l'ajustement ne modifie pas le comportement général de la variation d'absorption résolue en temps simulée, à savoir une croissance monotone en fonction du temps microscopique. Or c'est bien ce comportement, et uniquement le comportement, que nous voulions vérifier expérimentalement.

**Inclusion absorbante superficielle**

La source et le détecteur sont placés à 3 cm l'un de l'autre à la surface de l'objet. Les TPSF à 830 nm avec et sans l'inclusion absorbante sont présentées par la figure IV.13. La comparaison entre les variations d'absorption résolues en temps simulées et expérimentales est présentée par la figure IV.14. Les valeurs expérimentales sont également très bruitées au début, mais la majeure partie de la courbe présente un comportement similaire à celui des données simulées, à savoir une décroissance monotone en fonction du temps microscopique. Il convient de noter ici aussi que les simulations ont nécessité le même ajustement des propriétés optiques que précédemment, par rapport aux valeurs souhaitées pour l'objet test, afin de faire correspondre la TPSF expérimentale à la TPSF simulée et convoluée.

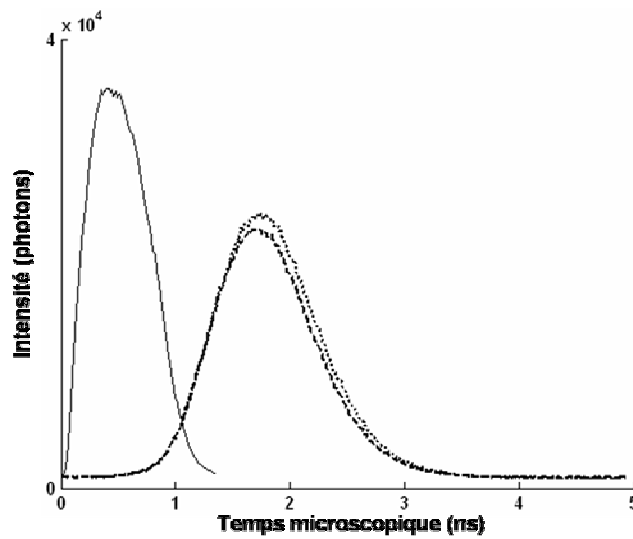


Figure IV.11 : TPSF a 690 nm pour une distance source-détecteur de 4 cm sur l'objet "cerveau". TPSF avec (ligne en pointillé) et sans (ligne discontinue) l'inclusion absorbante. RIS lors de la mesure (ligne continue). Echelle linéaire pour l'intensité en nombre de photons.

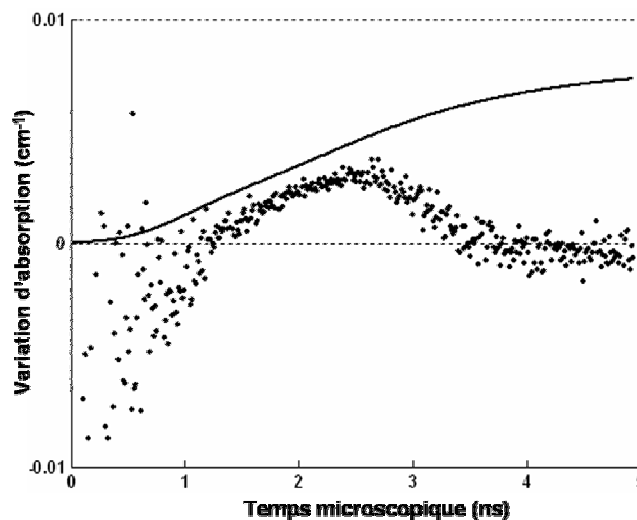


Figure IV.12 : Objet "cerveau". Comparaison entre la variation d'absorption résolue en temps simulée (ligne continue) et expérimentale (points) pour une inclusion absorbante profonde (1,6 cm sous la surface). Echelle linéaire pour la variation d'absorption.



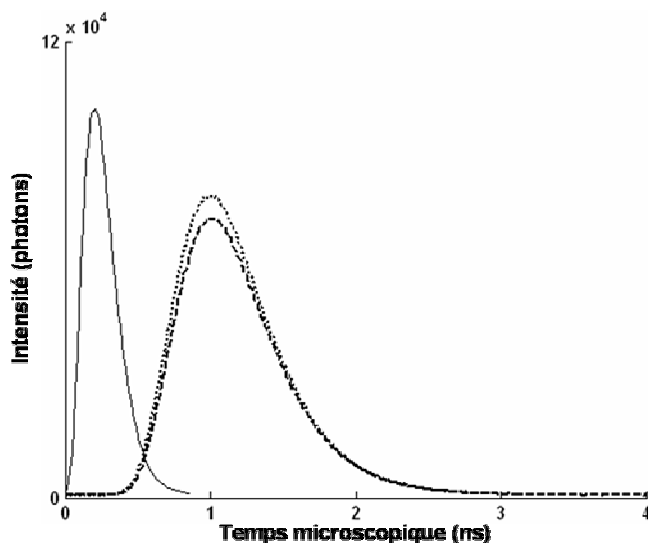


Figure IV.13 : TPSF a 830 nm pour une distance source-détecteur de 3 cm sur l'objet "cerveau". TPSF avec (ligne discontinue) et sans (ligne en pointillé) l'inclusion absorbante. RIS lors de la mesure (ligne continue). Echelle linéaire pour l'intensité en nombre de photons.

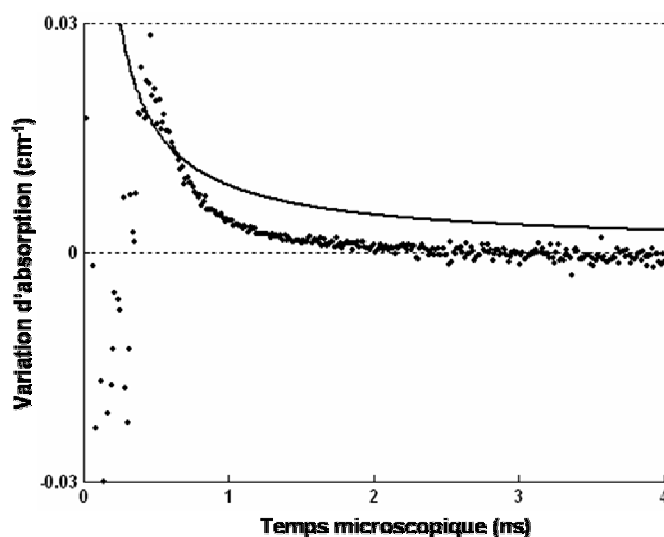


Figure IV.14 : Objet "cerveau". Comparaison entre la variation d'absorption résolue en temps simulée (ligne continue) et expérimentale (points) pour une inclusion absorbante superficielle (0,15 cm sous la surface). Echelle linéaire pour la variation d'absorption.

L'ensemble de ces résultats confirme la validité du principe de la variation d'absorption résolue en temps, et de l'information sur la profondeur que peut apporter cette méthode.

### IV.1.4.3 Topographie

Afin de réaliser une image topographique, nous avons multiplié les mesures, et donc les positions source-détecteurs, sur l'ensemble de la surface de l'objet. La figure IV.15 illustre la disposition des optodes qui permettent de réaliser les mesures à 12 positions différentes.

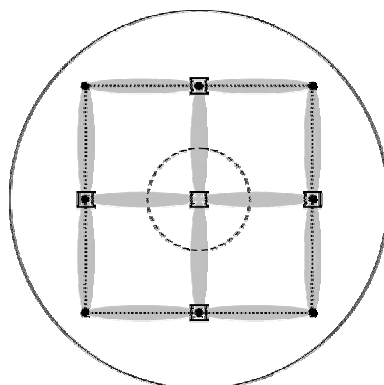


Figure IV.15 : Disposition des optodes sur l'objet pour la topographie. Limite de l'objet (ligne continue), limite de l'inclusion profonde (ligne discontinue), limite de la zone d'interpolation (ligne en pointillé), positions des sources (carrés), positions des détecteurs (points) et mesures correspondantes (zones grisées reliant une source et un détecteur).

L'interpolation linéaire de ces mesures sur l'ensemble de la surface est réalisée à partir des positions des sources et des détecteurs, qui sont affectés de la valeur moyenne de toutes les mesures qui les concernent. Par exemple la position centrale est la moyenne de 4 mesures, alors qu'une position dans un angle est la moyenne de seulement 2 mesures. Ainsi les 12 mesures conduisent à 9 positions de mesure. Cette disposition a l'avantage de ne pas affecter une mesure à une seule position. Par contre elle réduit la quantité d'information puisque le nombre de positions est inférieur au nombre de mesures. Nous mesurons les TPSF à 690 nm. Les données interpolées sont la variation d'absorption sur l'ensemble de la zone explorée par la mesure (calculée sur l'intensité totale), la variation d'absorption sur l'ensemble d'une zone superficielle (calculée sur l'intensité des photons précoces) et la variation d'absorption sur l'ensemble d'une zone plus profonde (calculée sur l'intensité des photons tardifs). Le critère définissant le caractère tardif ou précoce des photons est le temps moyen de la TPSF sans inclusion absorbante pour chaque couple d'optodes. Les résultats, présentés par la figure IV.16, montrent que l'inclusion absorbante est retrouvée par les mesures sur l'intensité totale. Toutefois sa surface s'étend sur une zone très étendue par rapport à la réalité. Ce phénomène pourrait être dû à de faibles variations d'absorption superficielle. En effet l'objet est réalisé de telle manière qu'entre deux mesures, avec et sans inclusion absorbante, et bien que l'inclusion superficielle soit maintenue constante, des modifications minimales du positionnement de la zone superficielle peuvent se produire. La topographie des photons précoces et tardifs confirme cette hypothèse, puisque l'absorption superficielle a varié en haut à gauche et que l'absorption profonde est conforme aux contours de l'inclusion. Ainsi cet incident expérimental met en valeur l'atout principal de la topographie des photons tardifs ou précoces, qui est bien la discrimination des événements superficiels et profonds.

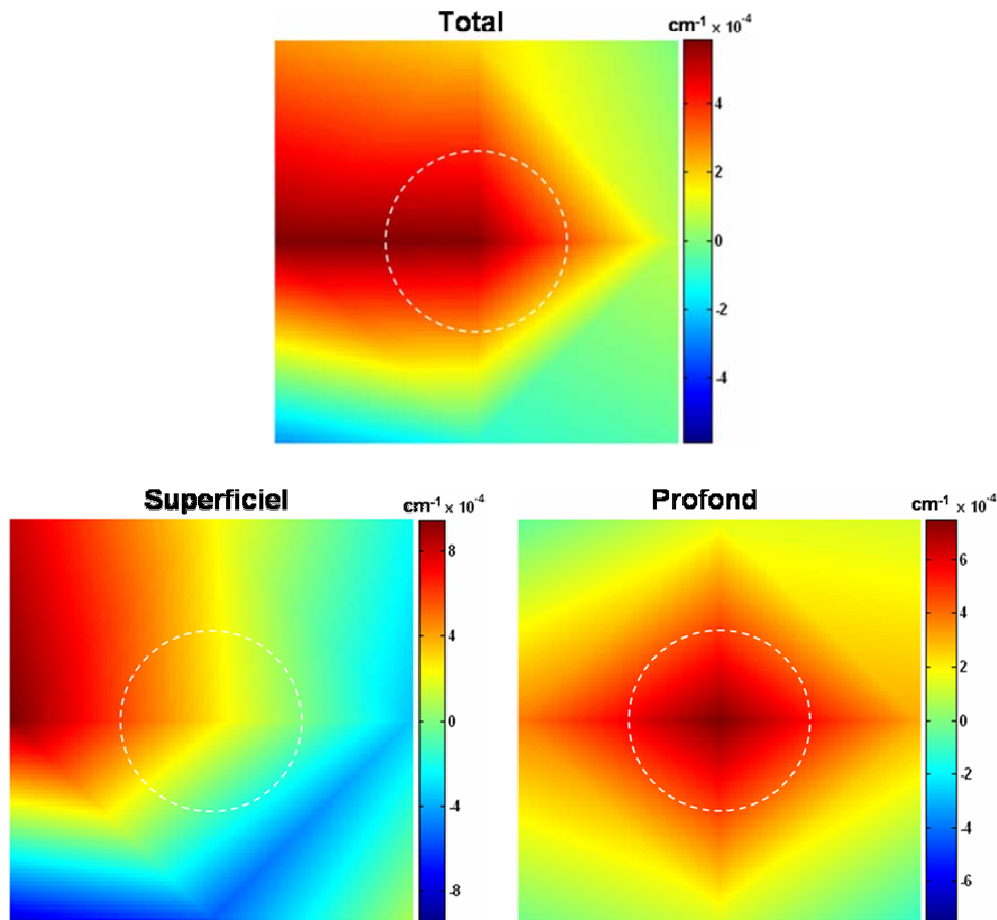


Figure IV.16 : Objet avec une inclusion profonde. Image topographique des variations d'absorption pour l'ensemble des photons (total) et pour les photons précoces (superficiel) ou tardifs (profond). L'emplacement de l'inclusion profonde est indiqué (ligne blanche discontinue).

D'autres méthodes d'interpolation sont envisageables, par exemple on peut affecter une mesure au milieu du segment délimité par les positions de la source et du détecteur. La quantité d'information est conservée, mais la localisation de la mesure par rapport aux optodes concernées n'est pas forcément améliorée. Les résultats de toutes ces méthodes doivent être considérés avec beaucoup de précaution, car elles sont toutes basées sur des approximations relativement grossières. Ainsi la topographie des photons tardifs ou précoces doit surtout être considérée comme un moyen d'éliminer l'influence des couches superficielles. Une discussion de la localisation spatiale précise des variations d'absorption nécessitant l'utilisation de processus de reconstruction tomographique.

## IV.2 Validation *in vivo* des méthodes d'imagerie cérébrale

Le paragraphe précédent a exposé la validation expérimentale sur des objets test calibrés des méthodes proposées pour l'imagerie cérébrale. Nous présentons maintenant les résultats de validation *in vivo* de ces méthodes pour des expériences neuro-fonctionnelles chez l'homme. L'ensemble des paradigmes fonctionnels est basé sur la stimulation du cortex moteur par des mouvements d'opposition des doigts. Les avantages de ce choix sont notamment la simplicité du paradigme, la taille et la localisation de la zone cérébrale activée et l'amplitude des variations induites dans le signal optique. De plus le fonctionnement du cortex moteur est relativement bien connu par rapport à d'autres fonctions cérébrales. Or le but de ces travaux est d'abord de valider des

techniques d'imagerie cérébrale. Le dernier chapitre consacré aux perspectives de ces travaux présentera des expériences de stimulations magnétiques trans-crâniennes, dont le but n'est plus la validation des méthodes, mais l'exploration de processus mal connus. Afin de localiser le cortex moteur nous avons utilisé les informations issues de l'IRMf, puisque il existe une corrélation spatiale entre le signal BOLD et les variations d'absorption liées à la réponse hémodynamique cérébrale [125]. C'est pourquoi nous ne présentons dans ce chapitre que les résultats concernant le sujet qui a subi les IRM et les IRMf permettant la simulation de la propagation lumineuse et la localisation du cortex moteur. Pour retrouver rapidement la position du cortex moteur, d'une expérience à une autre, nous utilisons le système de positionnement 10-20 utilisé en EEG. Le suivi de la réponse hémodynamique impose des résolutions temporelles relativement faibles ( $< 1$  s). Ainsi le nombre de photons détectés dans chaque TPSF est relativement faible ( $\sim 5 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$ ). C'est pourquoi nous répétons le même paradigme expérimental un certain nombre de fois, et les mesures de chaque cycle sont accumulées. Le rapport signal à bruit des TPSF augmente en conséquence de l'augmentation du nombre de photons par TPSF. Le premier paragraphe expose la validation de l'origine cérébrale des variations observées sur le signal optique. Puis nous présentons une méthode pour évaluer l'amélioration de la détection des activations cérébrales, par rapport à des mesures non résolues en temps. Enfin nous présentons les résultats des cartes de variations d'absorption résolues en temps.

### IV.2.1 Détection d'activation cérébrale

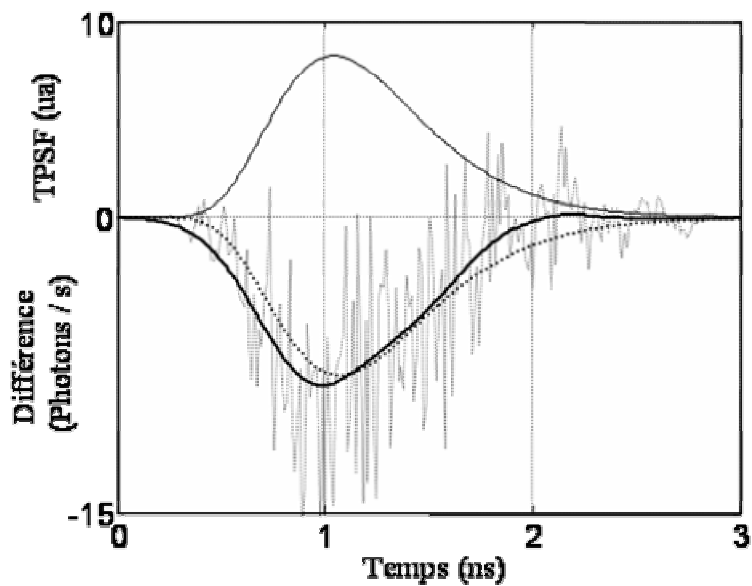
La première étape, avant toute tentative de validation des méthodes, est de s'assurer que les variations du signal optique mesuré ont bien une origine cérébrale, et ne proviennent pas de modifications des propriétés optiques superficielles. En effet nous avons vu au chapitre III que le signal optique est extrêmement sensible aux propriétés des tissus superficiels.

Nous avons simulé l'influence d'une activation cérébrale et d'une variation superficielle de l'absorption grâce au modèle décrit au paragraphe III.3.1.1. Expérimentalement, il est possible d'induire une augmentation superficielle de l'absorption grâce à une manœuvre de Valsalva. Cette technique, bien connue des plongeurs, consiste à expirer en gardant la bouche et le nez fermés. Elle produit une augmentation de la pression intra-thoracique qui freine le retour veineux, ce qui induit une augmentation de la perfusion superficielle, notamment au niveau de la tête. Un moyen d'attester de l'origine cérébrale des variations du signal optique serait de répondre à ces questions : Est-il possible de différencier une activation cérébrale d'une manœuvre de Valsalva en terme de profondeur des variations observées ? Est-ce que ces différences sont conformes aux simulations ? Dans ce but, nous avons évalué la différence entre les TPSF au repos et durant les stimulations à chaque pas temporel.

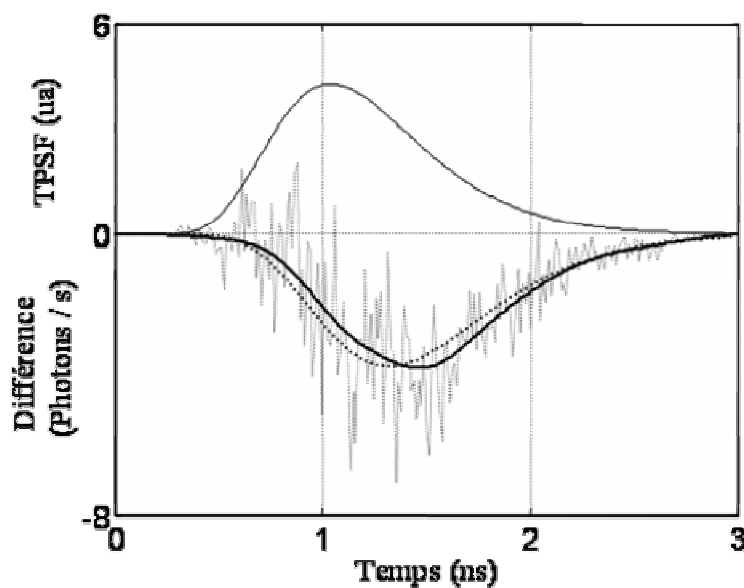
#### Paradigme expérimental

Le cortex moteur est stimulé pendant une période de 32 s, entre deux périodes de repos de 32 s chacune. Les données sont accumulées sur 5 cycles. La manœuvre de Valsalva est tenue pendant 15 s et située entre deux périodes de repos de 32 s et 49 s. Les données sont accumulées sur 4 cycles. Une source et un détecteur sont placés au dessus du cortex moteur contra latéral à la main effectuant le mouvement, et séparés de 30 mm. Les TPSF à 830 nm sont mesurées à une fréquence d'acquisition de 1 Hz.

Résultats



(a)



(b)

Figure IV.17 : TPSF au repos (fine ligne continue). Différences, entre les TPSF durant la stimulation et au repos, simulées (ligne discontinue), expérimentales (ligne en pointillé) et filtrées (ligne continue et épaisse). Les intensités totales de la TPSF et des différences simulées sont normalisées à la valeur de l'intensité totale de la différence expérimentale. a : Manœuvre de Valsalva. b : Activation cérébrale.

Les résultats illustrés par la figure IV.17 ont été publiés dans B. Montcel et al. [88]. Les différences expérimentales et simulées, superposées à la TPSF au repos, sont présentées. Dans le cas de l'activation cérébrale, la différence simulée culmine à environ 1,4 ns durant la phase descendante de la TPSF. Pour la manœuvre de Valsalva, le maximum de la différence se produit au même instant que le maximum de la TPSF, soit à environ 1 ns. Les données expérimentales sont filtrées afin d'éliminer le bruit haute fréquence. Les données filtrées sont également fournies par la figure IV.17. Ce filtrage permet d'évaluer l'écart type du bruit. Les écarts types pour la manœuvre de Valsalva et l'activation cérébrale sont respectivement de 2,60 et 0,96 photons par secondes. Dans les deux cas nous remarquons que l'amplitude maximale de la différence, entre le repos et la stimulation, est au moins 3 fois plus grande que le bruit. Nous soustrayons les deux différences, pour la manœuvre de Valsalva et l'activation cérébrale, l'une de l'autre. Le signal résultant est filtré et présente un comportement bipolaire (figure IV.18). Son amplitude maximale est 2,5 fois plus grande que l'écart type du bruit (2,84 photons par secondes). Ceci démontre la différence de comportement entre les deux expériences. Les données simulées exhibent le même comportement, ce qui atteste du caractère superficiel des variations induites pas la manœuvre de Valsalva, et de l'origine profonde, donc cérébrale, des variations associées à la stimulation du cortex moteur.

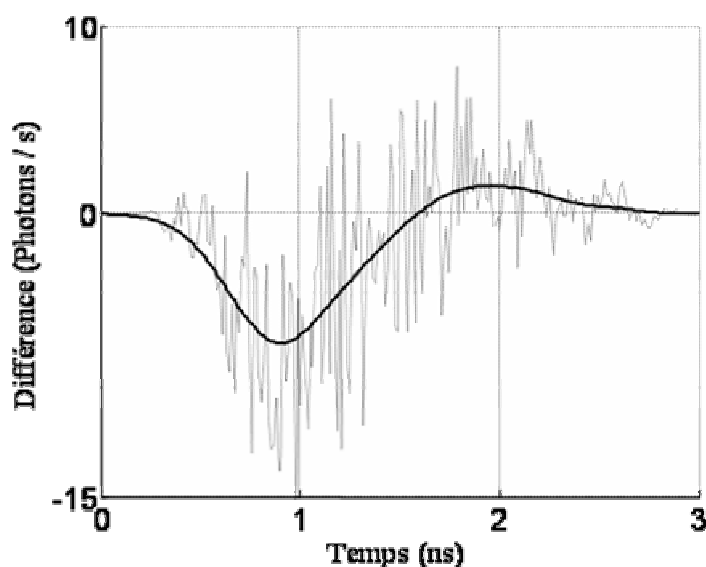


Figure IV.18 : Différences, entre les deux signaux précédents (illustrés par la figure IV.6a et IV.6b), expérimentale (ligne en pointillé) et filtrées (ligne continue et épaisse).

## IV.2.2 Amélioration de la détection

Nous avons expliqué que les systèmes résolus en temps recueilleraient plus d'informations que n'importe quel autre type d'appareil. Ainsi les simulations, et notamment les PMDF résolues en temps, laissent présager que ces systèmes pourraient améliorer la détection des activations cérébrales, car les photons tardifs contiennent plus d'informations sur les zones profondes que les photons précoces. Afin de confirmer cette hypothèse nous évaluons la sensibilité de la détection d'activation cérébrale de notre appareil, par rapport à un appareil continu équivalent. L'appareil continu équivalent est représenté par la mesure de l'intensité totale de la TPSF. Nous le comparons à des mesures de l'intensité de la TPSF sur des pas temporels de 300 ps de large. Evidemment les performances d'un appareil continu ne sont pas celles de l'intensité totale d'un appareil résolu en temps, et elles varient fortement d'un type de système continu à un autre. Toutefois nous ne

souhaitons pas comparer les types d'instrumentation entre eux, mais bien le principe de la détection résolue en temps par rapport à la détection continue. Le critère de comparaison est le rapport contraste à bruit (RCB). Le contraste est évalué comme la variation relative du signal entre la période de stimulation et la période de repos. Le bruit est estimé par l'écart type du signal au cours de la mesure. Par conséquent il ne représente pas seulement le bruit de l'instrumentation, mais également le bruit "physiologique", dû aux variations des propriétés optiques non liées à l'activation cérébrale. Ainsi le RCB est un critère pertinent pour décider si les mesures résolues en temps permettent d'améliorer la détection des variations profondes liées à l'activité cérébrale.

### **Paradigme expérimental**

Les données utilisées sont les mêmes que celles du paragraphe précédent (IV.2.1).

### **Résultats**

Les résultats illustrés par la figure IV.19 ont également été publiés dans B. Montcel et al. [88]. Dans le cas de l'activation du cortex moteur, la TPSF est découpée en 8 pas temporels de 300 ps. Le contraste augmente en fonction du délai du pas temporel considéré, car les photons arrivés tardivement contiennent plus d'information sur les régions cérébrales. Toutefois le RCB atteint son maximum pour la zone 6. Ceci s'explique par le fait que le bruit de l'instrumentation augmente pour des faibles taux de comptage, alors que le bruit physiologique est relativement constant d'un pas temporel à l'autre. Dans la zone temporelle optimale le RCB atteint un maximum de 1,87. Ceci représente une amélioration de 24 % par rapport au RCB du système continu équivalent (RCB = 1,51).

Dans le cas de la manœuvre de Valsalva (figure IV.20), la TPSF est découpée en 7 pas temporels de 300 ps. Le contraste est significatif dans les premiers pas temporels, mais nous ne remarquons aucune évolution remarquable dans les pas temporels plus tardifs, puisque la variation d'absorption est superficielle. Le RCB atteint un maximum de 1,26 dans la zone 3, correspondante au maximum de la TPSF. Toutefois aucune amélioration du RCB n'est constatée par rapport au système continu équivalent (RCB = 1,34). Ceci démontre que les systèmes résolus en temps peuvent améliorer la détection des activités cérébrales qui induisent des variations profondes des propriétés optiques.

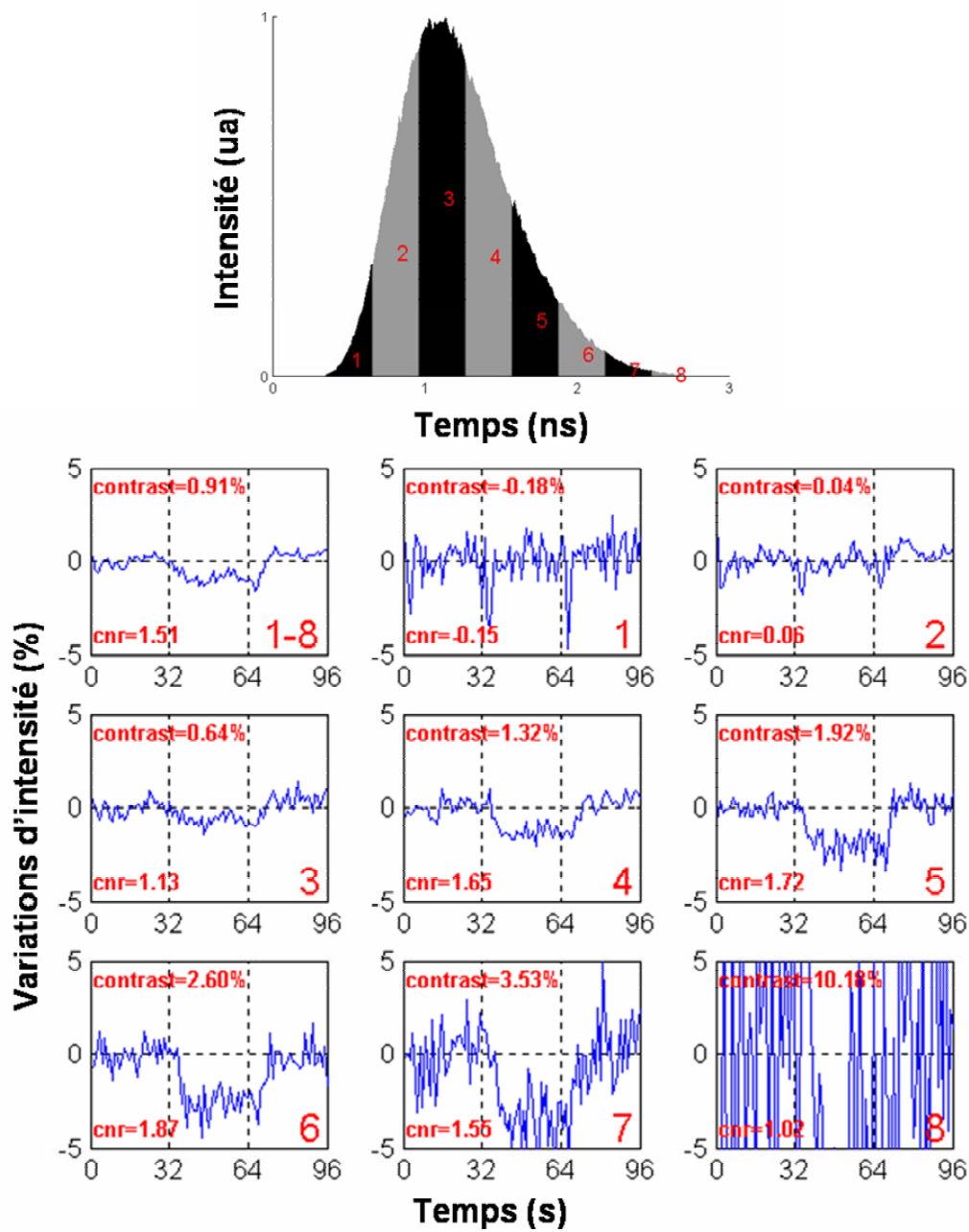


Figure IV.19 : Activation du cortex moteur. Zones 1 à 8 de la TPSF. Contraste (contrast) et rapport contraste à bruit (cnr, contrast to noise ratio) sur toute la TPSF (graphes 1-8) et sur différentes zones de la TPSF (graphes 1 à 8).



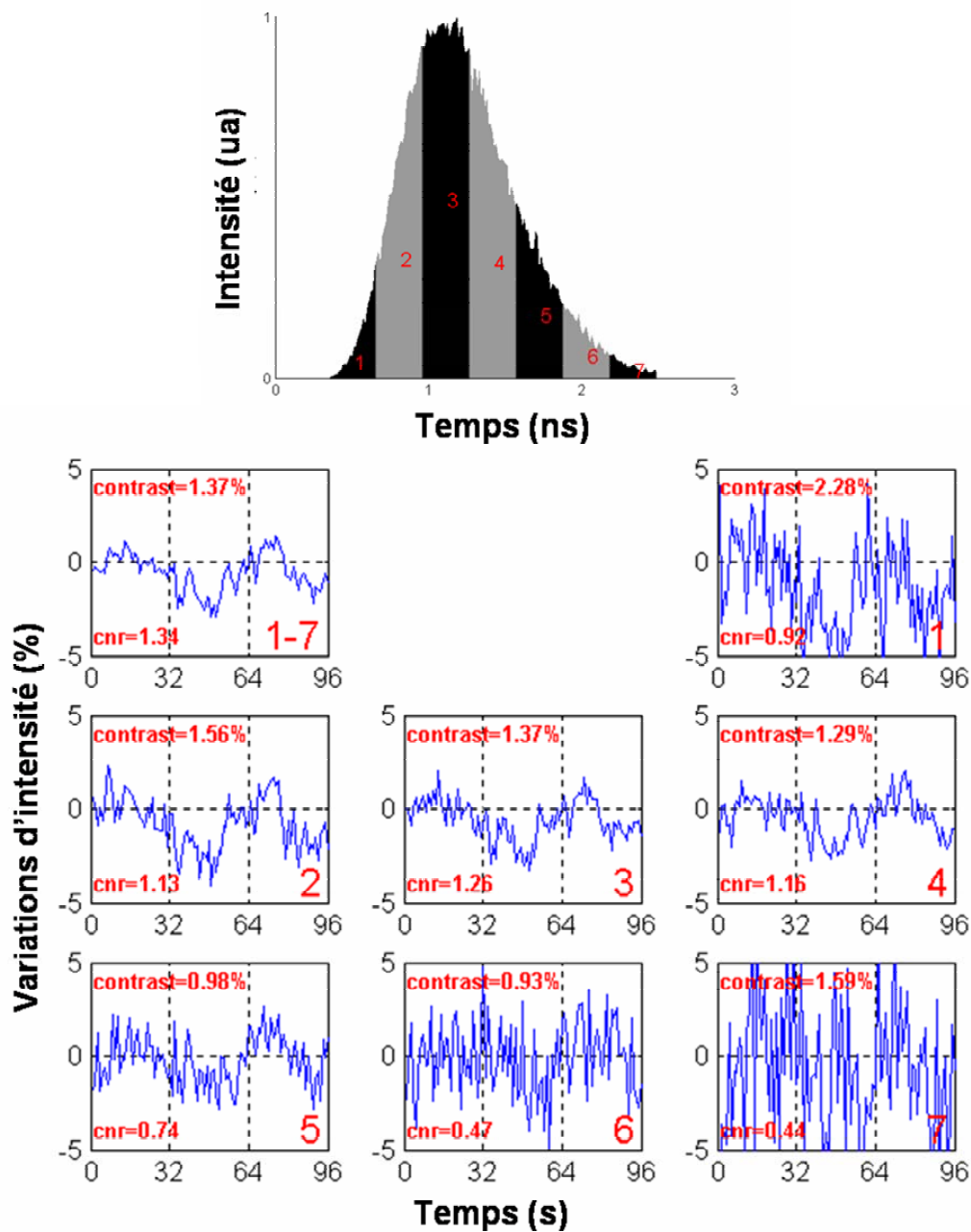


Figure IV.20 : Manœuvre de Valsalva. Zones 1 à 8 de la TPSF. Contraste (contrast) et rapport contraste à bruit (cnr, contrast to noise ratio) sur toute la TPSF (graphe 1-8) et sur différentes zones de la TPSF (graphes 1 à 8).

### IV.2.3 Cartes de variations d'absorption résolues en temps

Nous avons présenté les justifications théoriques des cartes de variations d'absorption résolues en temps au chapitre III. Nous avons également présenté leur validation expérimentale sur des objets test calibrés. Ces cartes permettent d'obtenir des informations sur la profondeur d'origine des variations d'absorption mesurées par un couple source-détecteur. Nous démontrons, dans cette partie, la validité de ces cartes pour le cas d'expériences *in vivo*. Ces travaux ont été publiés dans B. Montcel et al. [89].

## Paradigme expérimental

La stimulation du cortex moteur est réalisée par un mouvement rapide ( $< 1$  s) d'opposition des doigts suivi par une période de repos ( $\sim 20$  s). Ce paradigme induit des activations cérébrales moins importantes que les paradigmes précédents, basés sur des mouvements continus des doigts. Toutefois il permet de mesurer le comportement temporel de la réponse hémodynamique cérébrale. En effet la réponse cérébrale induite est la convolution du paradigme et de la réponse hémodynamique. Le mouvement d'opposition des doigts étant rapide on peut l'assimiler à une impulsion de Dirac. Ainsi le signal induit est bien la réponse hémodynamique. En raison de la faiblesse de l'activation, les données sont accumulées sur 46 cycles. Une source et un détecteur sont placés au dessus du cortex moteur contra latéral à la main effectuant le mouvement, et séparés de 30 mm. Les TPSF à 690 nm et 830 nm sont mesurées sur 10 bits à une fréquence d'acquisition de 6,7 Hz. Ainsi les résolutions temporelles des temps microscopique et macroscopique sont respectivement de 60 ps et 150 ms. Des expériences de manœuvre de Valsalva ( $\sim 5$  s) suivies d'une période de repos ( $\sim 30$  s) sont également réalisées. Les données sont accumulées sur 10 cycles. La source et le détecteur sont également séparés de 30 mm. Les TPSF à 690 nm et 830 nm sont mesurées sur 12 bits à une fréquence d'acquisition de 4 Hz. Ainsi les résolutions temporelles des temps microscopique et macroscopique sont respectivement de 12 ps et 250 ms.

## Résultats

Dans le cas de l'activation cérébrale, les TPSF sont présentées par la figure IV.21. L'origine temporelle est arbitrairement choisie au maximum de la RIS, car les TPSF ne sont pas déconvoluées. Les cartes de variations d'absorption résolues en temps sont calculées pour la plage temporelle allant de 0,6 ns à 2,5 ns. Les données précédant et suivant cette plage sont ignorées en raison d'un rapport signal à bruit trop faible pour assurer la fiabilité des mesures.

La référence choisie pour le calcul des variations d'absorption est la valeur moyenne des données mesurées durant les 2 s précédant la courte stimulation d'opposition des doigts. Dans un but de comparaison, la variation d'absorption totale, mesurée sur l'intensité totale de la TPSF, est présentée par la figure IV.22. Les données expérimentales sont filtrées afin d'éliminer le bruit haute fréquence. Ces données filtrées sont également présentées par la figure IV.22. Les mesures à 690 nm et 830 nm sont principalement, et respectivement sensibles aux concentrations de déoxy- et d'oxy-hémoglobine. C'est pourquoi les deux variations d'absorption totale montrent ce comportement symétrique avec une augmentation à 830 nm et une diminution à 690 nm. A 690 nm, la variation d'absorption totale filtrée atteint un minimum de  $-0.00047 \text{ cm}^{-1}$  à 4,8 s. A 830 nm, elle augmente jusqu'à un maximum de  $0.00063 \text{ cm}^{-1}$  à 4,65 s. Ces valeurs sont en accord avec les caractéristiques connues de la réponse hémodynamique. Les cartes de variations d'absorption résolues en temps aux deux longueurs d'onde sont présentées par la figure IV.23. Les données ont également été filtrées le long des deux axes temporels, l'un après l'autre. Le même filtre a été utilisé le long de l'axe de temps macroscopique pour les variations d'absorption résolues et non résolues en temps (figure IV.22) afin de permettre la comparaison.

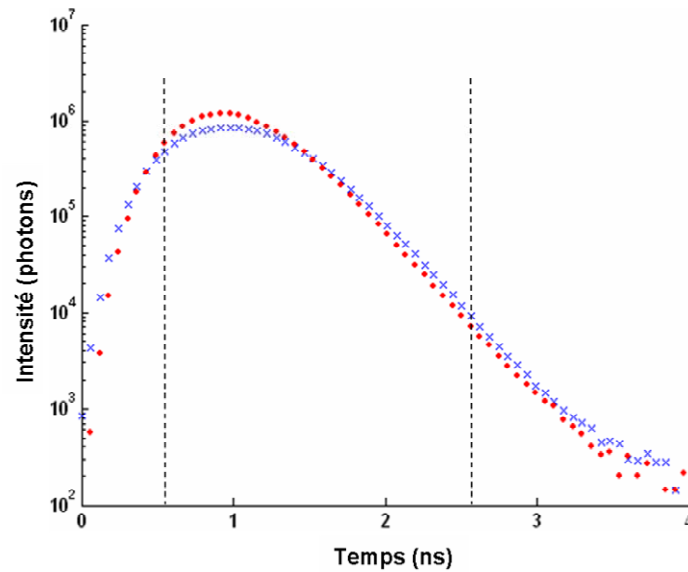


Figure IV.21 : TPSF à 690 nm (croix) et 830 nm (points). Plage temporelle utilisée pour les cartes de variations d'absorption résolues en temps (lignes verticales discontinues).

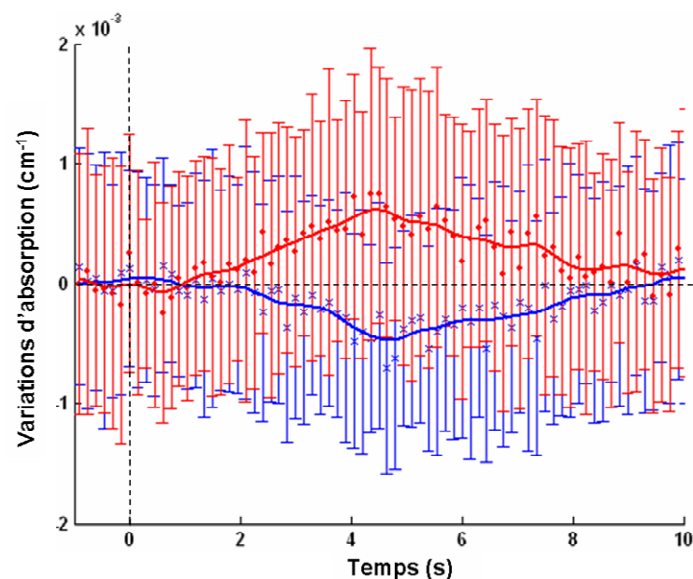


Figure IV.22 : Activation du cortex moteur. Variations d'absorption totale à 690 nm (croix bleues) et 830 nm (points rouges). Les barres d'erreurs ont une longueur égale à deux fois l'écart type des fluctuations sur les 46 cycles. Variation d'absorption totale filtrée à 690 nm (ligne discontinue bleue) et 830 nm (ligne continue rouge). La courte période de stimulation débute au temps macroscopique 0 (ligne verticale discontinue).

Ces cartes montrent que l'absorption n'est pas significativement modifiée aux temps précoces, correspondant aux tissus superficiels. Au contraire, elle suit le comportement de la réponse hémodynamique pour les temps tardifs, où la contribution des tissus plus profonds augmente. A 690 nm, les variations d'absorption résolues en temps filtrées atteignent un minimum de  $-0.0011 \text{ cm}^{-1}$  au temps macroscopique de 3 s et au temps microscopique de 2,4 ns. La valeur de ce minimum représente plus de 2 fois celui de la variation non résolue en temps. Le minimum des variations d'absorption résolues en temps filtrées à 4,8 s (instant du minimum non résolu en temps) est de  $-0.00094 \text{ cm}^{-1}$ , ce qui est encore une amélioration d'un facteur 2. A 830 nm, les variations d'absorption résolues en temps filtrées atteignent un maximum de  $0.0012 \text{ cm}^{-1}$  au temps

macroscopique de 5,7 s et au temps microscopique de 2,5 ns. Ceci représente également une amélioration d'un facteur 2 environ. Le maximum des variations d'absorption résolues en temps filtrées à 4,65 s (instant du maximum non résolu en temps) est de  $0.001 \text{ cm}^{-1}$ , ce qui est encore une amélioration de pratiquement un facteur 2.

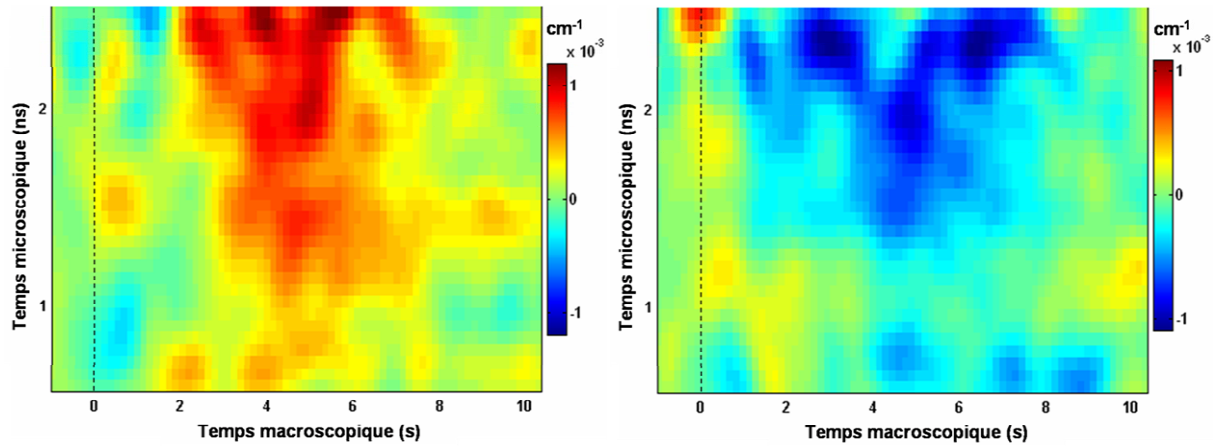


Figure IV.23 : Activation du cortex moteur. Cartes de variations d'absorption résolues en temps à 690 nm (figure de droite) et 830 nm (figure de gauche). La courte période de stimulation débute au temps macroscopique 0 (ligne verticale discontinue).

Le même processus de traitement des données est appliqué à l'expérience de manœuvre de Valsalva. Les cartes de variations d'absorption résolues en temps sont calculées pour la plage temporelle allant de 0,4 ns à 2 ns, pour les mêmes raisons de limitation du rapport signal à bruit que précédemment. La variation d'absorption totale, présentée par la figure IV.24, montre les variations temporelles de l'absorption induites par la manœuvre de Valsalva. Durant la manœuvre, il se produit une accumulation d'oxy-hémoglobine dans les tissus superficiels ce qui se traduit par une large augmentation de l'absorption à 830 nm et par une plus faible augmentation à 690 nm. Le relâchement de la pression intra-thoracique produit une diminution des concentrations en oxy- et déoxy-hémoglobine. Ceci se traduit par une diminution de l'absorption aux deux longueurs d'onde. Les variations d'absorption totales filtrées augmentent toutes deux jusqu'à un maximum ( $0.0012 \text{ cm}^{-1}$  à 690 nm et  $0.0036 \text{ cm}^{-1}$  à 830 nm) après environ 3 s. Ensuite elles diminuent et atteignent un minimum ( $-0.0027 \text{ cm}^{-1}$  à 690 nm et  $-0.0041 \text{ cm}^{-1}$  à 830 nm) après environ 8,5 s, soit environ 3,5 s après l'arrêt de la manœuvre de Valsalva. Finalement, les valeurs de l'absorption retournent vers celles de l'état initial. Les cartes de variations d'absorption résolues en temps aux deux longueurs d'onde sont présentées par la figure IV.25.

Ces cartes montrent un comportement complètement différent de celui de l'activation cérébrale. L'absorption est significativement modifiée aux temps précoces, correspondant aux tissus superficiels, alors qu'aux temps plus tardifs les modifications sont beaucoup moins prononcées et disparaissent pratiquement pour les temps les plus tardifs. A 690 nm, les variations d'absorption résolues en temps filtrées atteignent un maximum de  $0.0036 \text{ cm}^{-1}$  puis un minimum de  $-0.0082 \text{ cm}^{-1}$ . A 830 nm, le maximum est de  $0.0097 \text{ cm}^{-1}$  et le minimum de  $-0.0083 \text{ cm}^{-1}$ . Ainsi une amélioration similaire des variations maximum, d'un facteur de 2 à 3, est constatée.

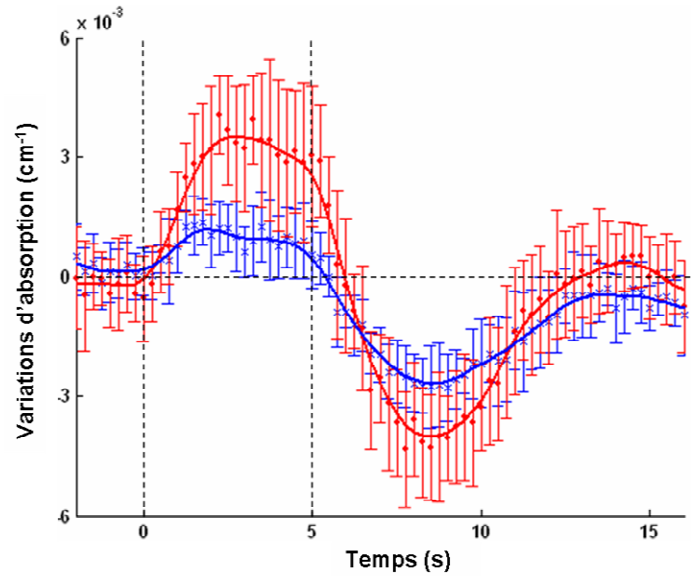


Figure IV.24 : Manœuvre de Valsalva. Variations d'absorption totale à 690 nm (croix bleues) et 830 nm (points rouges). Les barres d'erreurs ont une longueur égale à deux fois l'écart type des fluctuations sur les 10 cycles. Variation d'absorption totale filtrée à 690 nm (ligne discontinue bleue) et 830 nm (ligne continue rouge). La manœuvre de Valsalva est effectuée entre les temps macroscopique 0 et 5 s (lignes verticales discontinues).

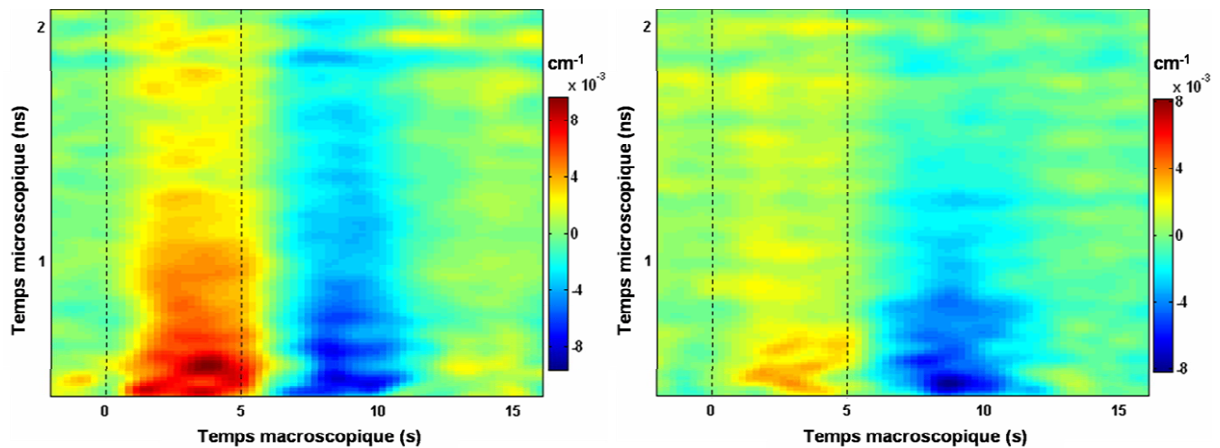


Figure IV.25 : Manœuvre de Valsalva. Cartes de variations d'absorption résolues en temps à 690 nm (figure de droite) et 830 nm (figure de gauche). La manœuvre de Valsalva est effectuée entre les temps macroscopiques 0 et 5 s (ligne verticale discontinue).

#### IV.2.4 Topographie

Nous avons montré au paragraphe IV.1.4.3 que les cartes topographiques pour les photons tardifs permettent de retrouver la position d'une inclusion profonde. Nous montrons dans cette partie qu'elles permettent de localiser la position du cortex moteur. Ces travaux ont été publiés dans B. Montcel et al. [92].

### Paradigme expérimental

Le cortex moteur est stimulé pendant une période de 32 s, entre deux périodes de repos de 32 s chacune. Les données sont accumulées sur 15 cycles. Une source et quatre détecteurs sont placés au dessus du cortex moteur contra latéral à la main effectuant le mouvement, et séparés de 30 mm, comme illustré par la figure IV.26. Les TPSF à 690 nm et 830 nm sont mesurées à une fréquence d'acquisition de 5 Hz.

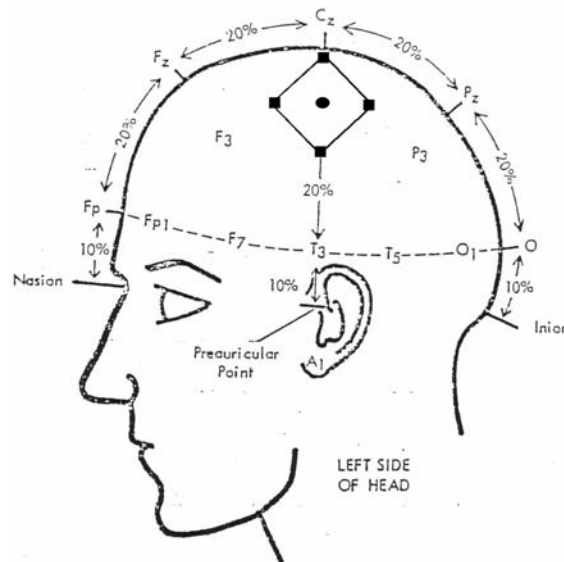


Figure IV.26 : Placement de la source (point) et des quatre détecteurs (carrés) au dessus du cortex moteur, superposé au système 10-20 de positionnement des électrodes en EEG.

### Résultats

Les données des phases de repos et d'activation sont accumulées afin de réduire le nombre de TPSF pour chaque couple source-détecteur à seulement 2, la TPSF au repos et la TPSF pendant l'activation. Les variations de concentration en oxy- et déoxy-hémoglobine sont calculées, pour chaque couple source-détecteur, sur l'intensité totale, et sur les photons précoces et tardifs. Le critère définissant le caractère tardif d'un photon, pour chaque couple source-détecteur, est le temps moyen de la TPSF au repos. Les mesures sont interpolées linéairement sur l'ensemble de la zone couverte, assimilée à un plan. On affecte les divers résultats aux positions des détecteurs concernés, et on affecte à la source la moyenne des résultats la concernant. Les cartes topographiques des variations d'oxy-hémoglobine sont présentées par la figure IV.27. Elles montrent que la détection du signal hémodynamique est maximale pour le couple source détecteur de droite, et est significativement améliorée pour les photons tardifs. Ainsi l'utilisation des photons tardifs, en plus d'assurer la localisation topographique de la zone activée, permet également d'attester de son origine cérébrale.

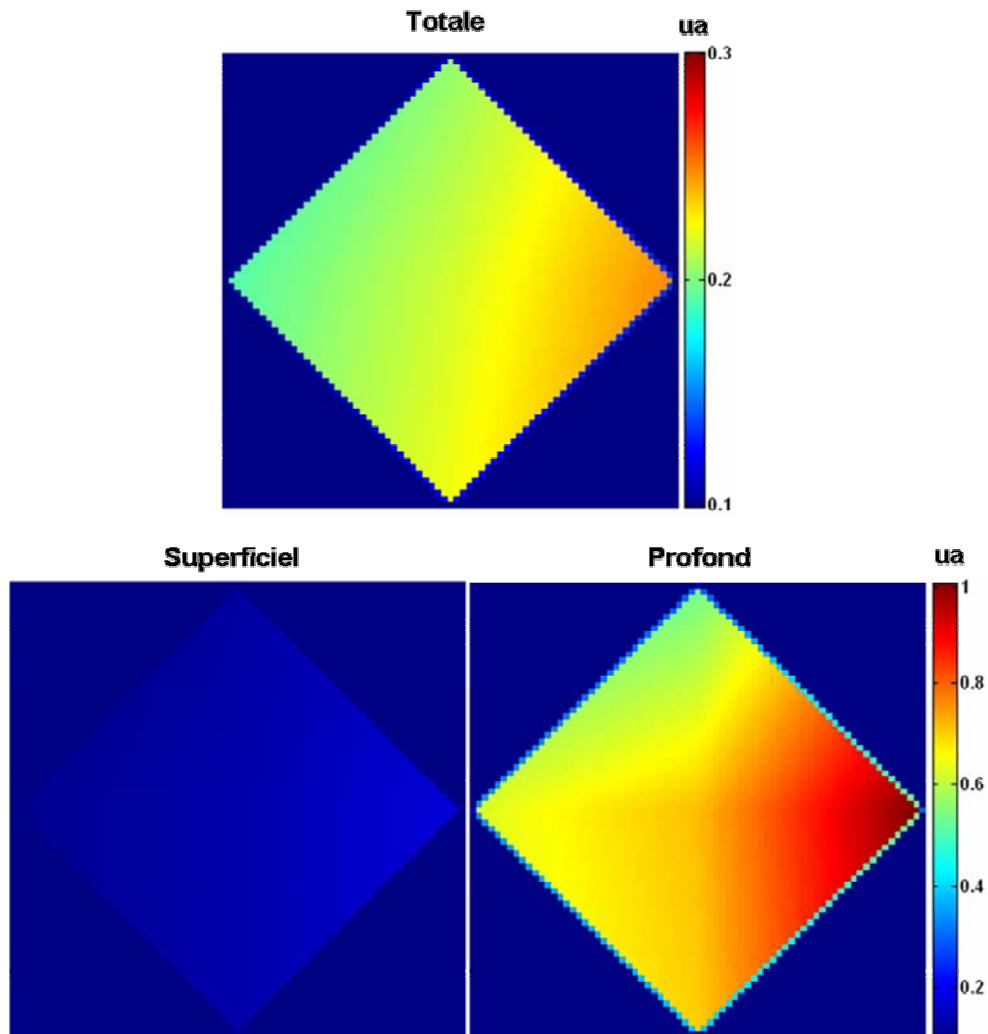


Figure IV.27 : Activation du cortex moteur. Topographie fonctionnelle des variations de concentration en oxy-hémoglobine (unités arbitraires). Comparaison entre les cartes de variation totale, superficielle et profonde.

# Chapitre V

## Perspectives

### Sommaire

V.1	Méthodes d'investigation : Cartes de variations de concentrations résolues en temps	116
V.2	Applications cliniques	117
V.2.1	Stimulation magnétique trans-crânienne	117
V.2.2	Réponse hémodynamique	117
V.2.3	Sécurité des patients	118
V.3	Tomographie de diffusion et de fluorescence du petit animal	120



Nous avons validé notre instrumentation sur des objets test et sur des expériences d'activation cérébrale. Toutefois nous nous sommes contentés de paradigmes expérimentaux dont les effets sont relativement bien connus, afin de permettre l'évaluation des résultats. Le but ultime de ce travail est évidemment l'utilisation de l'appareil pour l'exploration de processus cérébraux mal connus. Ce chapitre expose tout d'abord les conditions de l'extension du principe des cartes de variations d'absorption résolues en temps à des données fonctionnelles. Ensuite nous discutons des applications cliniques envisagées, en stimulation magnétique trans-crânienne et peut être également sur la réponse hémodynamique. A cette fin, la sécurité des patients soumis aux mesures est évoquée. Enfin nous terminons par un sujet suscitant un intérêt croissant, car ouvrant la voie à des applications nombreuses et très prometteuses : la tomographie de diffusion et de fluorescence du petit animal. Nous discutons de l'adaptation de l'appareil aux contraintes de ce type d'application, et nous présentons les premiers résultats de mesure de signal de fluorescence.

### V.1 Méthodes d'investigation : Cartes de variations de concentrations résolues en temps

A condition d'introduire quelques hypothèses supplémentaires, il est possible d'étendre le principe des cartes de variations d'absorption résolues en temps à des données fonctionnelles : les cartes de variations de concentrations résolues en temps. Le principe repose sur les techniques spectroscopiques décrites au paragraphe III.2.2. Toutefois il est nécessaire de supposer que la zone explorée par la mesure de chaque pas temporel est la même quelque soit la longueur d'onde considérée. Ceci revient à supposer que les modifications des distributions de chemin optique des photons, d'une longueur d'onde à l'autre, induisent des variations négligeables dans les frontières des différentes zones explorées. Cette hypothèse peut être avancée si les coefficients de diffusion aux différentes longueurs d'onde ne sont pas trop différents l'un de l'autre. Dans ce cas la déconvolution des TPSF par la RIS de l'appareil est indispensable, car la RIS varie généralement de façon significative d'un laser à l'autre. Cette déconvolution n'est pas indispensable pour calculer les cartes de variations d'absorption à une longueur d'onde, car la convolution de la TPSF par la RIS de l'appareil ne fait que modifier les zones explorées correspondant à chaque pas temporel. De façon identique au paragraphe III.2.2.3 on introduit alors la variation d'absorbance microscopique :

$$\Delta A_{T-T_0}^m = \Gamma \Delta C_{T-T_0}^m t \quad (\text{V.1})$$

avec

$$\Delta C_{T-T_0}^m = \left[ C^1(t, T) - C^1(t, T_0) \quad C^2(t, T) - C^2(t, T_0) \quad \dots \quad C^N(t, T) - C^N(t, T_0) \right]^T \quad (\text{V.2})$$

Ainsi on calcule les cartes de variations de concentration résolues en temps, à tous les instants macroscopiques  $T$  et à tous les temps microscopiques  $t$ , en résolvant le système III.66 par les moindres carrés :

$$\Delta C_{T-T_0}^m = (\Gamma^T \Gamma)^{-1} \Gamma^T \left[ \frac{\Delta A_{t, T-T_0}^m}{t} \right] \quad (\text{V.3})$$

Dans le cas de la réponse hémodynamique on ne considère que deux chromophores, l'oxy- et la déoxy-hémoglobine. Ainsi le système est relativement simple à résoudre et les mêmes avantages que précédemment peuvent être avancés.

## V.2 Applications cliniques

Nous avons conçu et caractérisé un appareil de topographie optique cérébrale. Nous avons montré qu'il était capable de détecter les faibles variations du signal optique liées à l'activité cérébrale. Ainsi la prochaine étape est son utilisation pour des applications cliniques afin d'explorer l'activité cérébrale. Nous discutons de l'utilisation prochaine de notre instrumentation pour suivre les effets d'une technique d'investigation cérébrale pleine d'avenir, la stimulation magnétique trans-crânienne. Nous présentons également quelques points méritant d'être approfondis, sur les expériences de suivi de la réponse hémodynamique. Enfin nous exposons les grandes lignes relatives à la sécurité des sujets.

### V.2.1 Stimulation magnétique trans-crânienne

La stimulation magnétique trans-crânienne (SMT) consiste à appliquer des champs magnétiques basses fréquences à la surface de la tête, afin d'induire des courants électriques dans le cortex cérébral. Il s'agit d'une technique d'investigation récente dont les effets sont encore mal connus. Elle présente un intérêt thérapeutique pour le traitement de certaines affections tels la dépression, la schizophrénie ou l'épilepsie. Du fait de l'utilisation de champs magnétiques intenses, la SMT est difficilement conciliable avec l'IRMf. L'imagerie optique cérébrale est une alternative intéressante, puisque les fibres optiques disposées sur la tête ne sont pas sensibles aux stimulations magnétiques. Sous l'impulsion de neurologues utilisant la SMT, et souhaitant étudier ses effets au moyen de méthodes optiques et électrophysiologiques, nous avons entrepris d'adapter notre système aux impératifs expérimentaux de la SMT. La principale contrainte est l'encombrement du système d'électrodes de la SMT qui doit être appliqué directement contre la tête. La première solution est de placer les optodes de part et d'autres du système SMT. La distance source-détecteur est alors très importante, ce qui peut poser des problèmes de détection du signal chez certains sujets. L'autre solution est de modifier notre interface optique afin de permettre l'application du système SMT au dessus des optodes. Cette solution nécessite que nous réduisions drastiquement l'encombrement de l'interface optique. Des premiers essais ont été réalisés, ils n'ont pas permis de mettre en évidence des effets significativement corrélés avec le paradigme expérimental. Ainsi une meilleure adaptation de notre système est indispensable et est actuellement à l'étude.

### V.2.2 Réponse hémodynamique

Si nous revenons sur les résultats des cartes de variations d'absorption résolues en temps pour l'expérience de stimulation du cortex moteur, nous pouvons remarquer au temps macroscopique initial que la carte à 690 nm (majoritairement sensible à la déoxy-hémoglobine) présente une augmentation rapide et très localisée en profondeur. Ceci pourrait correspondre à la consommation initiale d'oxy-hémoglobine précédant la réponse hémodynamique cérébrale. En effet celle-ci est beaucoup plus localisée que la réponse hémodynamique et est rapidement "balayée" par cette dernière. Le fait que ce phénomène ne soit apparemment pas observé à 830 nm (majoritairement sensible à l'oxy-hémoglobine) n'est pas forcément en contradiction avec cette explication. Il a en effet été montré que la consommation d'oxy-hémoglobine pouvait ne pas apparaître dans le signal optique. Le phénomène était expliqué par des événements physiologiques rapides et localisés provoquant une redistribution des volumes et flux cérébraux dans le réseau capillaire [84]. Si ces résultats se confirment ils sont très prometteurs. Toutefois il est important d'insister sur le fait que les cartes de variations d'absorption résolues en temps étant très bruitées, il est primordial de vérifier la répétitivité du phénomène sur un grand nombre d'expériences et de

sujets différents. De plus il est indispensable de passer à des informations réellement fonctionnelles, c'est-à-dire aux cartes de variations de concentration en oxy- et déoxy-hémoglobine résolues en temps.

### V.2.3 Sécurité des patients

Cette partie a pour but de discuter brièvement des questions relatives à la sécurité des sujets étudiés. Toutefois, il ne s'agit pas d'une analyse complète des normes de sécurité que nécessiterait la mise sur le marché d'un appareil médical d'imagerie optique diffuse. Il s'agit plutôt de désigner les aspects importants relatifs à la sécurité, dont il faudra nécessairement tenir compte dans une future application médicale. Les risques encourus par les manipulateurs n'entrent pas en compte dans cette discussion puisqu'il s'agit d'un appareil dédié à la recherche, et donc manipulé par du personnel averti.

Il existe deux types de risques principaux, les risques électriques et les risques liés aux lasers. Les patients sont uniquement reliés à l'instrumentation par l'intermédiaire de fibres optiques, électriquement isolantes. Ainsi il n'existe aucun risque électrique. De plus, une utilisation à l'intérieur d'une IRM peut être envisagée. Ainsi nous discutons uniquement des risques liés à l'utilisation des lasers dans la suite de cette partie.

La jeunesse et la rapidité d'évolution des technologies lasers explique la faiblesse réglementaire tant en Europe qu'en France. Pour l'instant le principal texte de référence est la norme NF EN 60825-1 (Sécurité des appareils à laser) qui range les lasers en cinq classes de risques et définit l'exposition maximum autorisée (MPE, Maximum Permissible Exposure) pour l'œil et pour la peau, en fonction des caractéristiques du laser. Notre instrumentation fait partie de la classe 3b, dont les risques sont définis ainsi :

**Classe 3b** : La vision directe dans le faisceau est toujours dangereuse. La lésion cutanée est prévenue par une sensation de picotement ou d'échauffement.

#### Exposition de l'œil

Les éléments les plus sensibles aux irradiations lasers sont, dans l'ordre du chemin optique à travers l'œil, la cornée, le cristallin et la rétine. Les deux premiers absorbent les rayonnements UV ou IR lointain mais sont transparents aux longueurs d'onde du visible et PIR. Leur rôle est de focaliser la lumière sur la rétine, ainsi la densité d'énergie reçue par cette dernière est beaucoup plus importante que la densité d'énergie incidente sur la cornée. La rétine absorbe fortement entre 0,4  $\mu\text{m}$  et 1,4  $\mu\text{m}$  et les cellules photo-réceptrices peuvent être irrémédiablement endommagées par une forte énergie lumineuse. Il est important de noter que les longueurs d'ondes PIR peuvent être plus dangereuses que celles du visible. En effet, bien que beaucoup moins fortement absorbées par le réseau capillaire de la rétine que les longueurs d'onde visible, pour ces dernières le réflexe palpébral conduit l'œil à fermer les paupières lors d'une illumination trop importante. Toutefois le temps de réaction ( $\sim 250$  ms) peut être trop lent pour protéger l'œil. Les calculs des MPE dans les normes supposent que la pupille est complètement ouverte, car le temps nécessaire à sa contraction peut être également trop lent pour assurer la protection de la rétine. Ces calculs sont complexes dans le cas de l'œil puisqu'ils doivent tenir compte de la divergence du faisceau, de la distance entre l'œil et la source et de l'angle solide sous lequel la pupille voit la source. Or si l'on s'en tient à la définition de la classe 3b, la vision directe dans le faisceau est toujours dangereuse. Ainsi il est indispensable de doter le patient de dispositifs de sécurité appropriés.

## Exposition de la peau

Aux longueurs d'onde PIR le danger du rayonnement laser pour la peau résulte essentiellement de ses effets thermiques qui sont fonction, tant de la surface illuminée que de la région du corps exposée, de sa vascularisation et de la pigmentation. L'énergie absorbée peut être évacuée par la circulation sanguine, à condition que la peau soit suffisamment perfusée. Le faisceau laser collimaté étant rapidement diffusé, l'éventuel dommage thermique est limité aux tissus superficiels. La norme NF EN 60825-1 assimile notre système à un appareil continu (voir Annexe pour le détail des calculs de MPE). Elle définit un éclairement moyen maximale autorisé  $E_{MPE}$  (Lux ou  $W.m^{-2}$ ) tel que :

$$E_{MPE} = 1,1 \cdot 10^{4+0,002(\lambda-700)} \cdot \tau^{-3/4} \quad (\lambda = 785, 830 \text{ et } 870 \text{ nm})$$

$$E_{MPE} = 1,1 \cdot 10^4 \cdot \tau^{-3/4} \quad (\lambda = 690 \text{ nm})$$
(V.4)

où  $\tau$  (s) est la durée d'exposition et  $\lambda$  (nm) la longueur d'onde. La surface illuminée peut être estimée comme la surface du cœur de la fibre optique émettrice. Les fibres de la source ont des cœurs de diamètres 50  $\mu m$ . Toutefois la fibre en contact avec la peau est généralement celle du système quadrifurqué, dans le cas de mesures à plusieurs longueurs d'onde, ou une fibre adaptée au système d'interface. Dans les deux cas la transmission est inférieure à 1 et réduit la puissance du laser par rapport aux mesures décrites au chapitre II. Ainsi pour une puissance incidente de 1 mW, les éclairements dans les trois cas sont représentés dans le tableau V.1.

Type de fibre source	Diamètre du cœur ( $\mu m$ )	Transmission	Eclairement ( $W.m^{-2}$ )
Sortie des lasers	50	1	$5,1 \cdot 10^5$
Système quadrifurqué	50	0,48	$2,4 \cdot 10^5$
Fibre seule adaptée	800	0,66	$1,3 \cdot 10^3$

Tableau V.1 : Eclairement sur la peau en fonction du type de source utilisée pour une puissance incidente de 1 mW. Système quadrifurqué (mesure à plusieurs longueurs d'onde), fibre seule adaptée (mesure à une longueur d'onde).

La figure V.1 illustre les éclairements moyens maximaux autorisés en fonction du temps d'exposition pour les quatre longueurs d'onde de notre système. Sont représentés également les éclairements par les trois fibres sources différentes. Seules les valeurs jusqu'à 10 s d'exposition sont indiquées, car l'éclairement moyen maximal autorisé est constant au delà de 10 s (pratiquement égal à celui à 10 s).

L'utilisation de la fibre seule adaptée produit un éclairement inférieur à la norme quelque soit la durée d'exposition. Par contre le système quadrifurqué peut dépasser cette norme. Toutefois ces résultats doivent être considéré avec précaution pour plusieurs raisons. Tout d'abord le calcul de l'éclairement par le système quadrifurqué considère que la zone illuminée est égale à la surface du cœur de la fibre, or ceci revient à considérer que l'interface entre la source et la peau est parfaite. Ensuite la norme NF EN 60825-1 est amenée à évoluer. En effet elle est très contraignante car elle n'est pas conçue pour les appareils de diagnostic médical, mais plutôt pour la sécurité des utilisateurs. Cette évolution interviendra probablement si l'imagerie optique diffuse prouve son utilité clinique. C'est pourquoi les règles actuelles de sécurité en imagerie optique diffuse sont généralement basées sur des résultats empiriques. Ces études montrent que pour des faibles puissances ( $< 10$  mW) l'échauffement induit est négligeable [69].

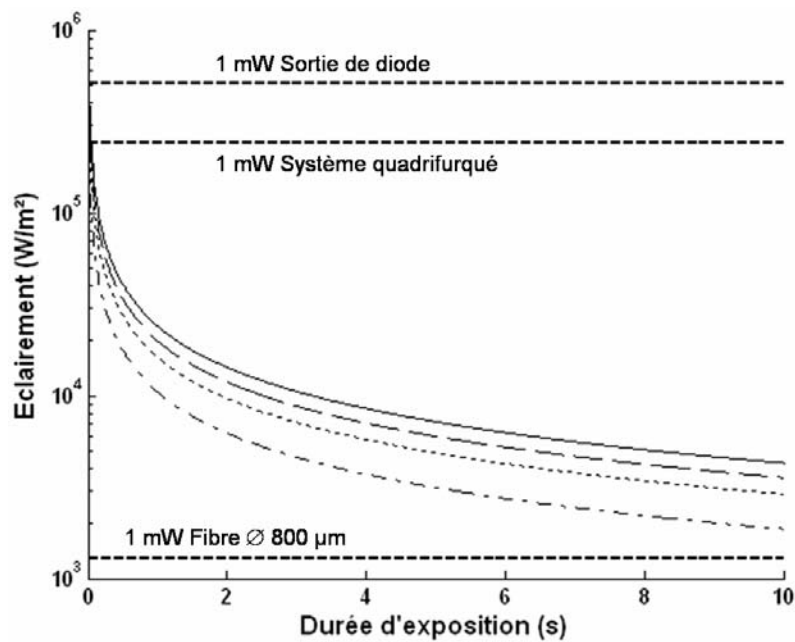


Figure V.1 : Eclairement moyen maximal autorisé en fonction de la durée d'exposition à 690 nm (ligne alternativement discontinue ou en pointillé), 785 nm (ligne en pointillé), 830 nm (ligne discontinue) et 870 nm (ligne continue). Eclairement directement à partir de la fibre de sortie de la diode, à partir du système quadrifurqué et à partir de la fibre seule adaptée.

### V.3 Tomographie de diffusion et de fluorescence du petit animal

La reconstruction tomographique est inadaptée au cas de l'imagerie cérébrale humaine car elle nécessite énormément de mesures, ce qui est difficilement réalisable. Par contre elle ouvre des voies d'investigations prometteuses dans le cas du petit animal. De nombreux modèles pathologiques sont étudiés chez la souris et le rat. Or l'imagerie est un atout important, puisqu'elle permet d'éviter le sacrifice des animaux ce qui représente un progrès pour le suivi de l'évolution du même animal, et également en terme d'éthique et de coût financier. De plus en plus de modèles animaux intègrent des sondes fluorescentes qui permettent d'obtenir des images moléculaires. Ainsi l'évolution du modèle ne se fait plus à l'échelle des modifications anatomiques induites, mais à l'échelle, beaucoup plus rapide et intéressante, des processus physiologiques au niveau cellulaire. Des appareils commerciaux existent et permettent l'obtention d'images topographiques. Toutefois l'information tomographique en 3D est primordiale, comme l'illustre la figure V.2. La projection sur la surface de la lumière émise depuis une source, à l'intérieur d'un milieu biologique, est simulée en fonction de sa profondeur. Nous remarquons que la même image topographique est obtenue pour une petite source profonde et pour une large source superficielle.

Le problème inverse est différent de celui présenté au chapitre III puisque le terme correspondant aux sources dans l'équation du transfert radiatif n'est plus égal à zéro. La reconstruction concerne, en plus des coefficients d'absorption et de diffusion, la concentration de fluorophore activé dans le milieu biologique. Cette étape de reconstruction reste à mettre en place.

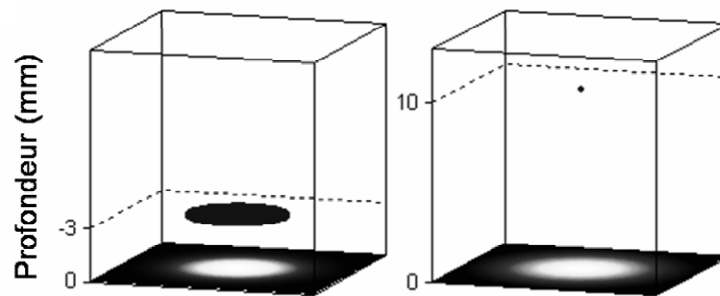


Figure V.2 : Simulation de la projection sur la surface de la lumière émise par une source petite et profonde (figure de droite) et par une source large et superficielle (figure de gauche).

L'appareil décrit au chapitre II doit être adapté aux nouvelles contraintes expérimentales. La conception de la nouvelle interface entre l'instrumentation et l'animal est guidée par le choix que nous avons fait d'un système d'imagerie sans contact [107]. En plus de l'adaptation de l'interface pour les objets test, il faut installer un système capable de déterminer la surface 3D de l'animal. Les principales modifications du système sont les suivantes :

**a** : Afin de pouvoir séparer les photons de fluorescence des photons multidiffusés, nous introduisons un porte filtre entre les fibres optiques de détection et les faisceaux de fibre.

**b** : La position en 3D de la surface de l'animal est mesurée par un conoscope. Il s'agit d'un système interférométrique qui mesure la distance le séparant d'un point rétrodiffusant. Il faut donc lui adjoindre un système de balayage en 2 D afin de couvrir l'ensemble de l'animal. Ce système est encore en cours de montage et de caractérisation. La figure V.3 illustre les résultats des premiers essais, réalisés sur un objet cylindrique avec une lentille de focale 15 cm. Le champ de vue a une largeur et une longueur de 4 cm et une profondeur de 2 cm. Les mesures ont une précision supérieure à 3 %, et permettent de retrouver la surface du cylindre sur une plage de 170°. L'utilisation de lentilles de focale plus élevées permettra d'obtenir des profondeurs de champ plus importantes.

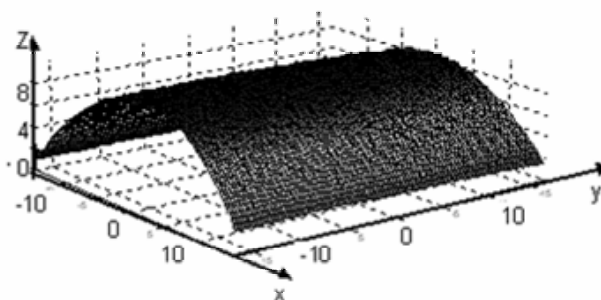


Figure V.3 : Surface d'un objet cylindrique mesurée avec le conoscope.

**c** : La configuration verticale de l'interface pour les objets test de la deuxième catégorie est handicapante dans le cas du petit animal. Nous devons la transposer dans une configuration horizontale, afin que l'animal puisse reposer sur une surface plane.

**d** : Il est difficile de faire tourner l'animal sans provoquer des modifications importantes des organes internes et de la surface. Ceci limite le nombre de mesures réalisables. De plus il est

probable que les différences de dynamique entre les différentes voies de mesures doivent être compensées, contrairement au cas des mesures sur les objets test. Ainsi les réflexions concernant la disposition des sources et des détecteurs par rapport à l'animal conduiront probablement à des solutions différentes de celles mises en place pour les objets test.

Les premiers essais sont effectués sur un objet de la deuxième catégorie qui contient une inclusion absorbante et fluorescente. Le fluorophore est du vert d'indocyanine (ICG, Indocyanin Green, Sigma-Aldrich [159]), à une concentration de 5  $\mu\text{mol}$ , qui présente les avantages d'absorber fortement à 690 nm et d'émettre aux alentours de 840 nm. Ceci permet de séparer facilement l'excitation de la fluorescence. Les résultats présentés par les figures V.4 et V.5 ont été publiés dans B. Montcel et al. [90, 91]. L'ensemble du processus d'acquisition des objets test de la deuxième catégorie est appliqué avec et sans le filtre de fluorescence en place. Le laser d'excitation est à 690 nm. La variation relative de l'amplitude du signal de diffusion en fonction de la position de l'objet est au maximum de 15 %. Celle du signal de fluorescence atteint un maximum de 120 %. Ainsi, sans présumer des difficultés qui vont forcément apparaître au fur et à mesure de l'avancement du système, la forte amplitude de variation du signal de fluorescence par rapport au signal diffusé permet d'espérer que la reconstruction d'une image de fluorescence sera possible.

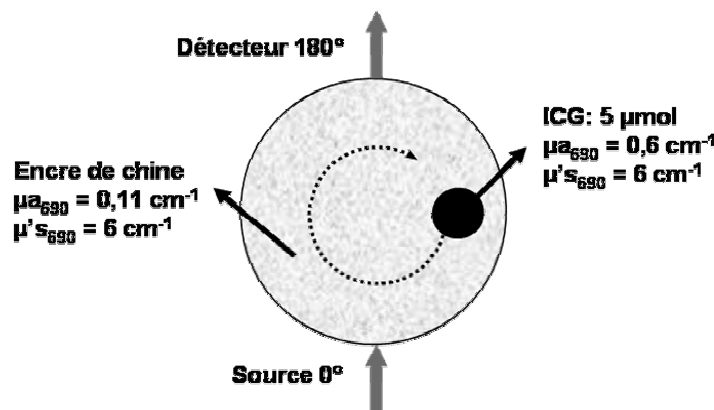


Figure V.4 : Objet test pour l'expérience de fluorescence.

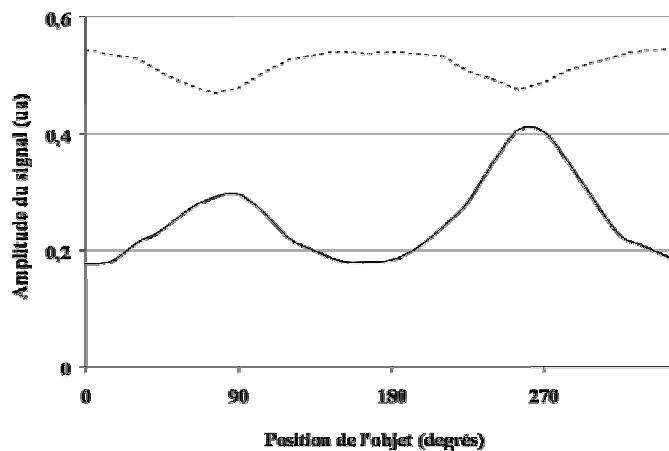


Figure V.5 : Amplitude du signal de fluorescence (ligne continue) et du signal de diffusion (ligne en pointillé) en fonction de la position de l'objet par rapport à la source et au détecteur.

## Conclusion

Nous avons mis en place un système d'imagerie optique diffuse pour des applications neuro-fonctionnelles. Les objectifs de ces travaux étaient tout d'abord la réalisation et la caractérisation d'une instrumentation dédiée à l'imagerie cérébrale, et reposant sur des techniques de détection optique résolues en temps. L'autre objectif était la mise en place de méthodes permettant de profiter de la richesse du signal résolu en temps pour obtenir des informations sur la localisation des variations mesurées.

Le signal optique mesuré à la surface de la tête est sensible à toutes les échelles des événements physiologiques de l'activité cérébrale, depuis les échanges ioniques et moléculaires aux niveaux des membranes neuronales jusqu'aux variations locales de perfusion et d'oxygénation liées à la réponse hémodynamique, en passant par les processus énergétiques cellulaires. Dans ces travaux, nous nous sommes concentrés sur la réponse hémodynamique, par le biais du suivi des variations de concentration de l'hémoglobine dans ses états oxygéné et désoxygéné. Ces informations moléculaires peuvent être obtenues grâce à des mesures des variations du signal optique à plusieurs longueurs d'onde.

La compréhension de la propagation lumineuse dans un milieu diffusant est complexe. Elle l'est plus encore dans un organe aussi anatomiquement complexe que la tête. C'est pourquoi nous avons mis en place une méthode de simulation de la propagation lumineuse qui repose sur la segmentation d'IRM afin d'obtenir un modèle optique de la tête. Ensuite l'équation de diffusion est résolue numériquement sur ce modèle par la méthode des éléments finis. Cette équation décrit la diffusion de la densité de photons, comme la diffusion d'un flux thermique mais à une échelle picoseconde, en réponse à une impulsion lumineuse localisée spatialement et temporellement. L'introduction du détecteur dans le modèle permet de simuler le signal temporel détecté, la TPSF, et également les cartes de sensibilité, les PMDF. Ces dernières sont des cartes, dans le modèle de la tête, de la probabilité de l'origine spatiale d'une variation du signal optique détectée à la surface. Ce modèle nous a permis de simuler la détection d'une activation du cortex moteur afin de la comparer à l'expérience.

Nous avons montré que l'appareil fournissait des mesures conformes à la théorie, qui permettaient la reconstruction d'images. Nous avons confirmé que ses performances, notamment en terme de sensibilité de détection, permettaient de détecter les faibles variations du signal optique dues aux processus physiologiques liés à l'activité cérébrale. Nous avons ensuite démontré que le principe du comptage de photons résolu en temps permettait d'améliorer de façon significative la détection des activations cérébrales et permettait de différencier une origine cérébrale des variations d'une origine plus superficielle (B. Montcel et al. [88]).

Nous avons proposé des méthodes basées sur la loi de Beer-Lambert microscopique qui permettent d'ajouter une information de localisation en profondeur aux méthodes topographiques



## Conclusion

---

classiques. Nous avons effectivement souligné que la complexité inhérente à la reconstruction tomographique limitait son utilisation, dans le cas de l'imagerie fonctionnelle cérébrale chez l'adulte. Ces méthodes ont été validées expérimentalement sur des objets test calibrés et par des expériences *in vivo* de stimulation du cortex moteur (B. Montcel et al. [89]).

Les applications cliniques de ces travaux concerneront, dans un premier temps, le suivi des effets induits par une technique d'investigation très prometteuse, mais encore assez mal connue : la stimulation magnétique trans-crânienne. Les résultats montrent également que les méthodes proposées ouvrent de nombreuses pistes pouvant bénéficier à la connaissance de la réponse hémodynamique cérébrale.

Parallèlement à l'imagerie cérébrale, nous avons entrepris l'adaptation de notre système au cas de l'imagerie *in vivo* de diffusion et de fluorescence du petit animal. En effet l'intérêt pour cette application très prometteuse est en forte progression. Dans ce cadre, nous avons validé l'utilisation de notre système pour la reconstruction d'images tomographiques des propriétés optiques, et moléculaires, et également pour la détection du signal de fluorescence. Ces premiers résultats sont relativement encourageants (B. Montcel et al. [90]), et nous confortent sur notre future capacité à réaliser un véritable système de tomographie optique de diffusion et de fluorescence dédié au petit animal.

En conclusion, il est peu probable que la TOD concurrence les standards d'imagerie anatomique actuels (IRM, Scanner X ...) en particulier dans le cas de la tête. Toutefois ces travaux ont montré qu'elle possède un fort potentiel en tant que technique d'imagerie fonctionnelle, particulièrement pour le suivi de l'activité cérébrale. Ainsi l'avenir de la TOD en Neurosciences sera probablement lié au couplage avec une technique d'imagerie anatomique conventionnelle. Dans ce cadre la TOD accompagnera certainement les prochaines avancées en Neurosciences.

## Annexe

### Calcul des MPE pour la peau

Dans le cas d'un laser impulsionnel, la norme NF EN 60825-1 définit deux critères. Le critère à retenir étant celui qui donne l'exposition maximum autorisée (MPE, Maximum Permissible Exposure) la plus restrictive. Les critères sont les suivants :

**Critère 1,  $MPE_1$ :** L'exposition de chacune des impulsions ne doit pas excéder la MPE d'une impulsion unique de durée  $t_{impulsion}$  multipliée par le facteur de correction  $N^{-1/4}$ , ou  $N$  est le nombre d'impulsions attendues pendant une exposition de 10 s.

**Critère 2,  $MPE_2$ :** L'exposition moyenne par impulsion pour un train d'impulsions de durée  $\tau = 10$  s ne doit pas excéder la norme.

La durée de 10 s est celle préconisée par la norme, elle considère que la MPE est constante en fonction de la durée d'exposition lorsque celle-ci est supérieure à 10 s. Le tableau A.1 rappelle les caractéristiques des lasers utiles pour les calculs de MPE.

Caractéristiques du laser	symbole	Valeur
Fréquence de répétition	$f_r$	80 MHz
Durée de l'impulsion	$t_{impulsion}$	30 ps
Durée d'exposition	$\tau$	10 s
Nombre total d'impulsions	$N = \tau \cdot f_r$	$8 \cdot 10^8$
Longueur d'onde	$\lambda$	690, 785, 830 et 870 nm

Tableau A.1 : Caractéristiques du laser utiles aux calculs de MPE.

On obtient ainsi :

$$\begin{aligned}
 MPE_1 &= 2.10^{11+0,002(\lambda-700)} \cdot t_{impulsion} & (\lambda = 785, 830 \text{ et } 870 \text{ nm}) \\
 MPE_1 &= 2.10^{11} \cdot t_{impulsion} & (\lambda = 690 \text{ nm})
 \end{aligned}
 \tag{A.1}$$

$$\begin{aligned}
 MPE_2 &= 1,1 \cdot 10^{4+0,002(\lambda-700)} \cdot \tau^{1/4} \cdot N^{-1} & (\lambda = 785, 830 \text{ et } 870 \text{ nm}) \\
 MPE_2 &= 1,1 \cdot 10^4 \cdot \tau^{1/4} \cdot N^{-1} & (\lambda = 690 \text{ nm})
 \end{aligned}
 \tag{A.2}$$

Dans le cas général, où la fréquence de répétition est comprise entre 0 et 80 MHz, on peut calculer le rapport entre  $MPE_1$  et  $MPE_2$  :

$$r = \frac{MPE_1}{MPE_2} = \frac{2}{1,1} \cdot 10^7 \cdot t_{impulsion} \cdot \tau^{1/2} \cdot f_r^{3/4} \quad (A.3)$$

qui est indépendant de la longueur d'onde. Si  $r > 1$  le critère pertinent est le 2, si  $r < 1$  c'est le critère 1. La figure A.1 représente la durée d'exposition  $\tau$ , en fonction de la fréquence de répétition du laser  $f_r$ , pour  $r = 1$ . Ainsi la région "au dessus" de la courbe représente la zone de validité du critère 2. Pour notre appareil, permettant d'atteindre des fréquences de répétition de chaque laser comprises entre 0,625 et 80 MHz, la courbe montre que  $MPE_2$  est le bon critère pour les durées d'exposition classiquement utilisées (de quelques secondes à plusieurs minutes).

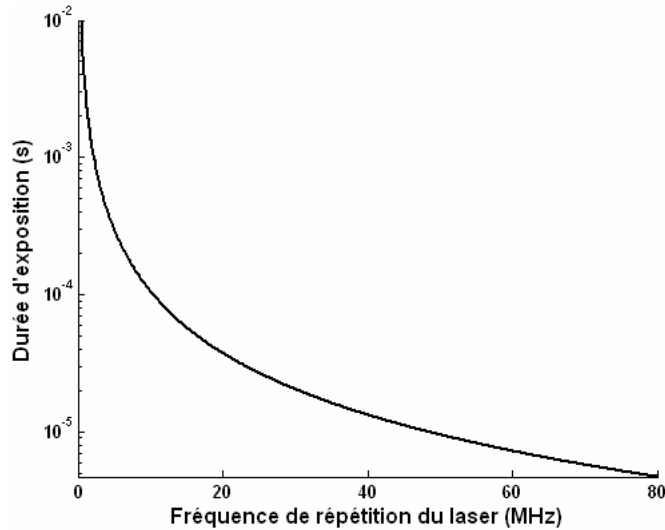


Figure A.1 : Courbe représentant la durée d'exposition limite entre la validité des critères 1 ou 2 en fonction de la fréquence de répétition du laser. "Au dessus" de la courbe ( $r > 1$ ) validité du critère 2.

En terme d'éclairement moyen  $E_{MPE}$  (Lux ou  $W \cdot m^{-2}$ ) on a :

$$E_{MPE} = \frac{MPE_2 \cdot N}{\tau} = 1,1 \cdot 10^{4+0,002(\lambda-700)} \cdot \tau^{-3/4} \quad (\lambda = 785, 830 \text{ et } 870 \text{ nm})$$

$$E_{MPE} = \frac{MPE_2 \cdot N}{\tau} = 1,1 \cdot 10^4 \cdot \tau^{-3/4} \quad (\lambda = 690 \text{ nm}) \quad (A.4)$$

On remarque que cette expression est indépendante du nombre d'impulsions  $N$ , et donc de la fréquence de répétition  $f_r$  du laser et de la durée de l'impulsion  $t_{impulsion}$ . Ceci est dû au fait que le critère 2 consiste à supposer que le laser est continu.

## Bibliographie

- [1] Adams S.R., Harootunian A.T., Buechler Y.J., Taylor S.S., Tsien R.Y., “*Fluorescence ratio imaging of cyclic AMP in single cells*”, *Nature*, **349**, 694-697, 1991.
- [2] Anderson R.R., Parrish J.A., “*The optics of human skin*”, *J. Invest Dermatol.*, **77**, 13-19, 1981.
- [3] Andreev V.A., Karabutov A.A., Solomatin S.V., Savateeva E.V., Aleynikov V., Zhulina Y.V., Fleming R.D., Oraevsky A.A., “*Opto-acoustic tomography of breast cancer with arc-array-transducer*”, *Proc. SPIE*, **3916**, 36-47, 2000.
- [4] Arridge S.R., “*Photon measurement density functions, part I : analytical forms*”, *Applied Optics*, **34**, 7395-7409, 1995.
- [5] Arridge S.R., “*Optical tomography in medical imaging*”, *Inverse Problems*, **15**, 41-93, 1999.
- [6] Arridge S.R., Cope M., Delpy D.T., “*The theoretical basis for the determination of optical pathlengths in tissue : temporal and frequency analysis*”, *Physics in medicine and biology*, **37**, 1531-1560, 1992.
- [7] Arridge S.R., Lionheart W.R.B., “*Nonuniqueness in diffusion based optical tomography*”, *Opt. Lett.*, **23**, 882-884, 1998.
- [8] Arridge S.R., Schweiger M., “*The use of multiple data types in time-resolved optical absorption and scattering tomography (TOAST)*”, *Proc. SPIE*, **2035**, 218-229, 1993.
- [9] Arridge S.R., Schweiger M., Hiraoka M., Delpy D.T., “*A finite element approach for modelling photon transport in tissue*”, *Med. Phys.*, **20**, 299-309, 1993.
- [10] Beaurepaire E., Boccara A.C., Lebec M., Blanchot L., Saint-Jalmes H., “*Full-field optical coherence microscopy*”, *Opt. Lett.*, **23**, 244-246, 1998.
- [11] Becker W., Bergmann A., Gibson A., Everdell N., Jennions D., Schweiger M., Arridge S.R., Hebden J.C., “*Multi-dimensional time-correlated single photon counting applied to diffuse optical tomography*”, *Proc. SPIE*, **5693**, 34-42, 2005.
- [12] Boas D.A., “*Diffuse photon probes of structural and dynamical properties of turbid media : Theory and biomedical applications*”, PhD thesis, University of Pennsylvania, USA, 1992.

## Bibliographie

---

- [13] Bolin F.P., Preuss L.E., Taylor C., Ference R.J., “*Refractive index of some mammalian tissues using a fiber optic cladding method*” Applied Optics, **28**, 2297-2303, 1989.
- [14] Beuthan J., Minet O., Helfman J., Muller G., “*The spatial variation of the refractive index in biological cells*”, Physics in Medicine and Biology, **41**, 369-382, 1996.
- [15] Bevilacqua F., Piguet D., Marquet P., Gross J. D., Tromberg B. J., Deppeursing C., “*In Vivo Local Determination of Tissue Optical Properties: Applications to Human Brain*”, Applied Optics, **38**, 4939-4950, 1999.
- [16] Cannestra A.F., Wartenburger I., Obrig H., Villringer A., Toga A.W., “*Functional assessment of Broca’s area using near infrared spectroscopy in humans*”, Neuroreport, **14**, 1961-1965, 2003.
- [17] Chance B., Mayevsky A., Guan B., Zhang Y., “*Hypoxia/ischemia triggers a light scattering event in rat brain*”, Adv. Exp. Med. Biol., **428**, 457-67, 1997.
- [18] Chance B., Williams J.R., “*Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. III The steady state*”, J. Biol. Chem., **217**, 409-426, 1955.
- [19] Chen N.G., Zhu Q., “*Time-resolved diffusive optical imaging using pseudo-random bit sequences*”, Opt. Exp., **11**, 3445-3454, 2003.
- [20] Chu S.W., Chen S.Y., Tsai T.H., Liu T.M., Lin C.Y., Tsai H.J., Sun C.K., “*In vivo developmental biology study using noninvasive multi-harmonic generation microscopy*”, Opt. Exp., **11**, 3093-3099, 2003.
- [21] Cohen L.B., Keynes R.D., Hille B., “*light scattering and birefringence changes during nerve activity*”, Nature, **218**, 438-441, 1968.
- [22] Cooper C.E., Cope M., Springett R., Amess P.N., Penrice J., Tyszczyk L., Punwani S., Ordidge R., Wyatt J., Delpy D.T., “*Use of mitochondrial inhibitors to demonstrate that cytochrome oxidase near-infrared spectroscopy can measure mitochondrial dysfunction noninvasively in the brain*”, J Cereb Blood Flow Metab., **19**, 27-38, 1999.
- [23] Cooper C.E., Matcher S.J., Wyatt J.S., “*Nearinfrared spectroscopy of the brain: relevance to cytochrome oxidase bioenergetics*”, Biochem. Soc. Trans., **22**, 974-980, 1994.
- [24] Cooper C.E., Springett R., “*Measurement of cytochrome oxidase and mitochondrial energetics by near infrared spectroscopy*”, Phil. Trans. R. Soc. Lond., **352**, 669-676, 1997.
- [25] Cope M., Delpy D.T., Reynolds E.O.R., Wray S., Wyatt J., Van der Zee P., “*Methods of quantitating cerebral near infrared spectroscopy data*”, Adv. Exp. Med. Biol., **222**, 183-189, 1987.
- [26] Corlu A., Durduran T., Choe R., Schweiger M., Hillman E.M.C., Arridge S.R., Yodh A.G., “*Uniqueness and wavelength optimization in continuous-wave multispectral diffuse optical tomography*”, Optics Letters, **28**, 2339-2341, 2003.

- [27] Cuche E., Marquet P., Depeursinge C., “*Simultaneous amplitude-contrast and quantitative phase-contrast microscopy by numerical reconstruction of Fresnel off-axis holograms*”, *Appl. Opt.*, **38**, 6994-7001, 1999.
- [28] Culver J.P., Siegel A.M., Stott J.J., Boas D.A., “*Volumetric diffuse optical tomography of brain activity*”, *Optics Letters*, **28**, 2061-2063, 2003.
- [29] Delpy D.T., Cope M., “*Quantification in tissue near infrared spectroscopy*”, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, **352**, 649-659, 1997.
- [30] Delpy D.T., Cope M., Van der Zee P., Arridge S.R., Wray S., Wyatt J., “*Estimation of optical pathlength through tissue from direct time of flight measurement*”, *Physics in Medicine and Biology*, **33**, 1433-1442, 1988
- [31] Devaraj B., Usa M., Chan K.P., Akatsuka T., “*Recent Advances in Coherent Detection Imaging (CDI) in Biomedicine: Laser Tomography of Human Tissues In Vivo and In Vitro*”, *IEEE J. Sel. Top. Quant. Elec.*, **2**, 1008-1016, 1996
- [32] Duguay M.A., Hansen J., “*An ultrafast light gate*”, *Appl. Phys. Lett.*, **15**, 192-194, 1969.
- [33] Duguay M.A., Mattick A.T., “*Ultrahigh speed photography of picosecond light pulses and echoes*”, *Appl. Opt.*, **10**, 2162-2170, 1971.
- [34] Duncan M.D., Mahon R., Tankersley L.L., Reintjes J., “*Time-gated imaging through scattering media using stimulated Raman amplification*”, *Opt. Lett.*, **16**, 1868-1870, 1991.
- [35] Dunn A., “*Light Scattering Properties of Cells*”, Ph.D. thesis, University of Texas at Austin, USA, 1997, disponible sur internet, <http://www.nmr.mgh.harvard.edu/~adunn/>
- [36] Dunsby C., French P.M.W., “*Techniques for depth-resolved imaging through turbid media including coherence-gated imaging*”, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **36**, R207-R227, 2003.
- [37] Durduran T., Yu G., Burnett M.G., Detre J.A., Greenberg J.H., Wang J., Zhou C., Yodh A.G., “*Diffuse optical measurement of blood flow, blood oxygenation, and metabolism in a human brain during sensorimotor cortex activation*”, *Optics Letters*, **29**, 1766-1768, 2004.
- [38] Dyba M., Hell S.W., “*Focal spots of size  $\lambda/23$  open up far-field fluorescence microscopy at 33nm axial resolution*”, *Phys. Rev. Lett.*, **88**, 163901, 2002.
- [39] Egan W.G., Hilgeman T.W., “*Optical Properties of inhomogeneous materials*”, Academic Press, New York, 1979.
- [40] Feng S., Zeng F.A., Chance B., “*Photon migration in the presence of a single defect: a perturbation analysis*”, *Applied Optics*, **34**, 3826-3837, 1995.
- [41] Fercher A.F., Drexler W., Hitzenberger C.K., Lasser T., “*Optical coherence tomography—principles and applications*”, *Rep. Prog. Phys.*, **66**, 239-303, 2003.
- [42] Firbank M., Hiraoka M., Essenpreis M., Delpy D.T., “*Measurement of the optical properties of the skull in the wavelength range 650-950nm*”, *Phys. Med. Biol.*, **38**, 503-510, 1993.

## Bibliographie

---

- [43] Flock T., Wilson B., Patterson M., “*Total attenuation coefficients and scattering phase functions of tissues and phantom materials at 633 nm*”, *Medical Physics*, **14**, 835-842, 1987.
- [44] Franceschini M.A., Boas D.A., “*Noninvasive measurement of neuronal activity with near-infrared optical imaging*”, *NeuroImage*, **21**, 372-386, 2004.
- [45] Franceschini MA, Fantini S, Thompson JH, Culver JP, Boas DA, “*Hemodynamic evoked response of the sensorimotor cortex measured noninvasively with near-infrared optical imaging*”, *Psychophysiology*, **40**, 548-560, 2003.
- [46] Fujimoto J.G., “*Optical coherence tomography for ultrahigh resolution in vivo imaging*”, *Nat. Biotech.*, **21**, 1361-1367, 2003.
- [47] Fukui Y., Ajichi Y., Okada E., “*Monte Carlo prediction of near-infrared light propagation in realistic adult and neonatal head models*”, *Applied Optics*, **42**, 2881-2887, 2003.
- [48] Gratton G., Corballis P.M., Cho E., Fabiani M., Hood D.C., “*Shades of gray matter: noninvasive optical images of human brain responses during visual stimulation*”, *Psychophysiology*, **32**, 505-509, 1995.
- [49] Gratton G., Corballis P.M., Fabiani M., Hood D.C., Goodman-Wood M.R., Hirsch J., Kim K., Friedman D., Gratton E., “*Fast and localized event-related optical signals (EROS) in the human occipital cortex: comparisons with the visual evoked potential and fMRI*”, *Neuroimage*, **6**, 168-180, 1997.
- [50] Gratton G., Fabiani M., “*The event-related optical signal (EROS) in visual cortex: Replicability, consistency, localization, and resolution*”, *Psychophysiology*, **40**, 561-571, 2003.
- [51] Gratton G., Fabiani M., Friedman D., Franceschini M.A., Fantini S., Corballis P., Gratton E., “*Rapid Changes of Optical Parameters in the Human Brain During a Tapping Task*”, *J. Cognit. Neurosci.*, **7**, 446-456, 1995.
- [52] Groenhuis R.A.J., Ferwerda H.A., Ten Bosch J.J., “*Scattering and absorption of turbid materials determined from reflection measurements (parts 1 and 2)*”, *Applied Optics*, **22**, 2456-2467, 1983.
- [53] Grosenick D, Moesta T, Wabnitz H, Mucke J, Stroszczyński C, Macdonald R, Schlag PM, Rinneberg H, “*Time-domain optical mammography: initial clinical results on detection and characterization of breast tumors*”, *Appl. Opt.*, **42**, 3170-3186, 2003.
- [54] Hebden J.C., Arridge S.R., Delpy D.T., “*Optical imaging in medicine: I. Experimental techniques*”, *Phys. Med. Biol.*, **42**, 825-840, 1997.
- [55] Hebden J.C., Gibson A, Austin T, Yusof R, Everdell N, Delpy D.T., Arridge S.R., Meek J.H., Wyatt J.S., “*Imaging changes in blood volume and oxygenation in the newborn infant brain using three-dimensional optical tomography*”, *Phys. Med. Biol.*, **49**, 1117-1130, 2004.
- [56] Hebden J.C., Gibson A, Yusof R, Everdell N, Hillman E.M.C., Delpy D.T., Arridge S.R., Austin T, Meek J.H., Wyatt J.S. , “*Three-dimensional optical tomography of the premature infant brain*”, *Phys. Med. Biol.*, **47**, 4155-4166, 2002.

- [57] Hell S.W., "*Toward fluorescence nanoscopy*", Nat. Biotech., **21**, 1347-1355, 2003.
- [58] Henyey L.G., Greenstein J.L., "*Diffuse radiation in the galaxy*", Astrophysical Journal, **93**, 70-83, 1941.
- [59] Hill D.K., Keynes R.D., "*Opacity changes in stimulated nerve*", J. Physiol., **108**, 278-281, 1949.
- [60] Hillman E.M.C., "*Experimental and theoretical investigations of near infrared tomographic imaging methods and clinical applications*", PhD thesis, University of London, GB, 2002.
- [61] Horecker B.L., "*The absorption spectra of haemoglobin and its derivatives in the visible and infra-red regions*", J. Biol. Chem., **148**, 173-183, 1943.
- [62] Hoshi Y., Oda I., Wada Y., Ito Y., Yamashita Y., Oda M., Ohta K., Yamada Y., Tamura M., "*Visuospatial imagery is a fruitful strategy for the digit span backward task: a study with near-infrared optical tomography*", Cognitive Brain Research, **9**, 339-342, 2000.
- [63] Huang D., Swanson E.A., Lin C.P., Schuman J.S., Stinson W.G., Chang W., Hee M.R., Flotte T., Gregory K., Puliafito C.A., Fujimoto J.G., "*Optical coherence tomography*", Science, **254**, 1178-1181, 1991.
- [64] Hueber D.M., Franceschini M.A., Ma H.Y., Zhang Q., Ballesteros J.R., Fantini S., Wallace D., Ntziachristos V., Chance B., "*Non-invasive and quantitative near infrared haemoglobin spectrometry in the piglet brain during hypoxic stress using a frequency-domain multidistance instrument*", Phys. Med. Biol., **46**, 41-62, 2001
- [65] Hyde S.C.W., Barry N.P., Jones R., Dainty J.C., French P.M.W., "*Sub-100-mm depth-resolved holographic imaging through scattering media in the near infrared*", Opt. Lett., **20**, 2330-2332, 1995.
- [66] Indebetouw G., "*Distortion-free imaging through inhomogeneities by selective spatial filtering*", Appl. Opt., **29**, 5262, 1990
- [67] Irvine W., "*Light scattering by spherical particles: Radiation pressure, asymmetry factor, and extinction cross section*", Journal of the Optical Society of America, **55**, 16-21, 1965.
- [68] Ishimaru A., "*Wave propagation and scattering in random media*", Academic Press, NewYork, 1978.
- [69] Ito Y., Kennan R.P., Watanabe E., Koizumi H., "*Assessment of heating effects in skin during continuous wave near infrared spectroscopy*", J. Biomed. Opt., **5**, 383-390, 2000.
- [70] Jacques S., Alter C., Prahl S., "*Angular dependence of HeNe laser light scattering by human dermis*", Lasers in the Life Sciences, **1**, 309-333, 1987.
- [71] Jacques S.L., Prahl S.A., Oregon Medical Laser Center, "*Optical properties spectra*", disponible sur internet, <http://omlc.ogi.edu/>
- [72] Jöbsis F.F., "*Noninvasive, Infrared Monitoring of Cerebral and Myocardial Oxygen Sufficiency and Circulatory Parameters*", Science, **198**, 1265-1267, 1977.



## Bibliographie

- [73] Kalpaxis L.L., Wang L.M., Galland P., Liang X., Ho P.P., Alfano R.R., “*Three-dimensional temporal image reconstruction of an object hidden in highly scattering media by time-gated optical tomography*”, *Opt. Lett.*, **18**, 1691-1693, 1993.
- [74] Kerker M., Cooke D., Chew H., McNulty P., “*Light scattering by structured spheres*” *Journal of the Optical Society of America*, **68**, 592-601, 1978.
- [75] 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.
- [76] Le Bihan D., “*Looking into the functional architecture of the brain with diffusion MRI*”, *Nat. Rev. Neuro.*, **4**, 469-480, 2003.
- [77] Levene M.J., Dombeck D.A., Kasischke K.A., Molloy R.P., Webb W.W., “*In Vivo Multiphoton Microscopy of Deep Brain Tissue*”, *J Neurophysiol*, **91**, 1908-1912, 2004.
- [78] Li A., Zhang Q., Culver J.P., Miller E.L., Boas D.A., “*Reconstructing chromosome concentration images directly by continuous-wave diffuse optical tomography*”, *Opt. Lett.*, **29**, 256-258, 2004.
- [79] Liebert A., Wabnitz H., Möller M., Walter A., Macdonald R., Rinneberg H., Obrig H., Steinbrink J., “*Time-resolved diffuse NIR-reflectance topography of the adult head during motor stimulation*”, dans *OSA Biomedical Optics Topical Meetings on CD-ROM (The Optical Society of America, Washington, DC, 2004)*, **WF34**, 2004.
- [80] Liebert A., Wabnitz H., Steinbrink J., Obrig H., Möller M., Macdonald R., Villringer A., Rinneberg H., “*Time-Resolved Multidistance Near-Infrared Spectroscopy of the Adult Head: Intracerebral and Extracerebral Absorption Changes from Moments of Distribution of Times of Flight of Photons*”, *Appl. Opt.*, **43**, 3037-3047, 2004
- [81] Lipton P., “*Effects of membrane depolarization on light scattering by cerebral cortical slices*”, *J Physiol*, **231**, 365-383, 1973.
- [82] Mac Kintosh F.C., Zhu J.X., Pine D.J., Weitz D.A., “*Polarization memory of multiply scattered light*”, *Phys. Rev. B*, **40**, 9342-9345, 1989.
- [83] MacVicar B.A., Hochman D., “*Imaging of synaptically evoked intrinsic optical signals in hippocampal slices*”, *J. Neurosci.*, **11**, 1458-1469, 1991.
- [84] Malonek D., Grinvald A., “*Interactions between electrical activity and cortical microcirculation revealed by imaging spectroscopy: Implications for functional brain mapping*”, *Science*, **272**, 551-554, 1996.
- [85] 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.
- [86] Mie G., “*Considerations on the optics of turbid media, especially colloidal metal sols*” *Ann. Physik*, **25**, 377-442, 1908.

- [87] Minsky M., "*Microscopy apparatus*", US patent 3013467, 1957.
- [88] Montcel B., Chabrier R., Poulet P., "*Detection of cortical activation using time-resolved diffuse optical methods*", Appl. Opt., **44**, 1942-1947, 2005.
- [89] Montcel B., Chabrier R., Poulet P., "*Improvements in brain activation detection using time-resolved diffuse optical means*", Proc. SPIE, **5859**, 63-69, 2005.
- [90] 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.
- [91] Montcel B., Chabrier R., Poulet P., "*A fluorescence and diffuse optical tomographic system for small animals*", Imaging for medical and life sciences, Fontis media, sous presse, 2005.
- [92] Montcel B., Chabrier R., Poulet P., "*Diffuse optical topography of the brain activity: Can time-resolved methods provide information about depth?*", Imaging for medical and life sciences, Fontis media, sous presse, 2005.
- [93] Montcel B., Chabrier R., Torregrossa M., Poulet P., "*Détection d'activations corticales par des méthodes d'optique diffuse résolues en temps*", J. Phys. IV, **127**, 105-109, 2005.
- [94] Montcel B., Torregrossa M., Poulet P., "*Optode positioning in time-resolved neurological near-infrared imaging*", dans OSA Biomedical Optics Topical Meetings on CD-ROM (The Optical Society of America, Washington, DC, 2004), **WF11**, 2004.
- [95] Narita N., Tominaga T., Koshu K., Mizoi K., Yoshimoto T., "*Monitoring of brain tissue haemoglobin concentration and oxygen saturation using a three wavelength spectrophotometric method*", Neurological Res., **16**, 428-432, 1994.
- [96] 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.
- [97] Nomura Y., Hazeki O., Tamura M., "*Relationship between time-resolved and non-time-resolved Beer-Lambert law in turbid media*", Phys. Med. Biol., **42**, 1009-1022, 1997.
- [98] 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.
- [99] Okada E., Delpy D.T., "*Near-infrared propagation in an adult head model. I Modeling of low-level scattering in the cerebrospinal fluid layer*", Applied Optics, **42**, 2906-2914, 2003.
- [100] Okada E., Firbank M., Schweiger M., Arridge S.R., Cope M., Delpy D.T., "*Theoretical and experimental investigation of near-infrared light propagation in a model of the adult head*", Appl. Opt., **36**, 2331-2336, 1997.
- [101] 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.
- [102] Piket-May M., Taflove A., "*Electrodynamics of Visible-Light Interactions with the Vertebrate Retinal Rod*", Opt. Lett., **18**, 568-570, 1993.

## Bibliographie

---

- [103] Purcell E., Pennypacker C., “*Scattering and absorption of light by nonspherical dielectric grains*”, The Astrophysical Journal, **186**, 705-714, 1973.
- [104] Rector D.M., Poe G.R., Kristensen M.P., Harper R.M., “*Light Scattering Changes Follow Evoked Potentials From Hippocampal Schaeffer Collateral Stimulation*”, J. Neurophysiol., **78**, 1707-1713, 1997.
- [105] Rector D.M., Rogers R.F., Schwaber J.S., Harper R.M., George J.S., “*Scattered-Light Imaging in Vivo Tracks Fast and Slow Processes of Neurophysiological Activation*”, Neuroimage, **14**, 977-994, 2001.
- [106] Rinne T., Gratton G., Fabiani M., Cowan N., Maclin E., Stinard A., Sinkkonen J., Alho K., Naatanen R., “*Scalp-recorded optical signals make sound processing in the auditory cortex visible?*”, Neuroimage, **10**, 620-624, 1999.
- [107] Ripoll J., Schulz R.B., Ntziachristos V., “*Free-Space Propagation of Diffuse Light: Theory and Experiments*”, Phys. Rev. Let., **91**, 103901, 2003.
- [108] Sandman C.A., O’Halloran J.P., Isenhardt R., “*Is there an evoked vascular response?*”, Science, **224**, 1355-1357, 1984.
- [109] Sato N., Hagihara B., Kamada T., Abe H., “*A sensitive method for the quantitative estimation of cytochromes a and a3 in tissues*”, Anal. Biochem., **74**, 105-117, 1976.
- [110] Schmidt F.E.W., “*Development of a Time-Resolved Optical Tomography System for Neonatal Brain Imaging*”, PhD thesis, University of London, GB, 1999.
- [111] Schmitt J.M., “*Optical coherence tomography (OCT): a review*”, IEEE J. Sel. Top. Quant. Elec., **5**, 1205-1215, 1999.
- [112] Schmitt J.M., Gandjbakhche A.H., Bonner R.F., “*Use of polarized light to discriminate short-path photons in a multiply scattering medium*”, Appl. Opt., **31**, 6535-6546, 1992.
- [113] Schweiger M., Arridge S.R., “*Application of temporal filters to time-resolved data in optical tomography*”, Phys. Med. Biol., **44**, 1699-1717, 1999.
- [114] 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.
- [115] Selb J., “*Source virtuelle acousto optique pour l’imagerie des milieux diffusants*”, Thèse de doctorat, Université Paris XI, France, 2002.
- [116] Selb J., Pottier L., Boccara A.C., “*Nonlinear effects in acousto-optic imaging*”, Opt. Let., **27**, 918-920, 2002.
- [117] 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. Opt., **10**, 011013, 2005.

- [118] Steinbrink J., Kohl M., Obrig H., Curio G., Syre F., Thomas F., Wabnitz H., Rinneberg H., Villringer A., “*Somatosensory evoked fast optical intensity changes detected non-invasively in the adult human head*”, *Neurosci. Lett.*, **291**, 105-108, 2000.
- [119] Stepnoski R.A., Laporta A., Raccuia-Behling F., Blonder G.E., Slusher R.E., Kleinfeld D., “*Noninvasive detection of changes in membrane potential in cultured neurons by light scattering*”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 9382-9386, 1991.
- [120] Stetson K.A., “*Holographic fog penetration*”, *J. Opt. Soc. Am.*, **57**, 1060-1061, 1967.
- [121] Strangman G., Boas D.A., Sutton J.P., “*Non-invasive neuroimaging using near-infrared light*”, *Biol. Psychiatry*, **52**, 679-693, 2002.
- [122] Tamura M., “*Non-invasive monitoring of the redox state of cytochrome oxidase in living tissue using nearinfrared laser lights*”, *Jpn. Circ. J.*, **57**, 817-824, 1993.
- [123] Tanter M., Thomas J.-L., Fink M., “*Focusing and steering through absorbing and aberrating layers: Application to ultrasonic propagation through the skull*”, *J. Acoust. Soc. Am.*, **103**, 2403-2410, 1998.
- [124] Taroni P., Danesini G., Torricelli A., Pifferi A., Spinelli L., Cubeddu R., “*Clinical trial of time-resolved scanning optical mammography at 4 wavelengths between 683 and 975 nm*”, *J. Biomed. Opt.*, **9**, 464-473, 2004.
- [125] Toronov V., Webb A., Choi J.H., Wolf M., Michalos A., Gratton E., Hueber D., “*Investigation of human brain hemodynamics by simultaneous near-infrared spectroscopy and functional magnetic resonance imaging*”, *Med. Phys.*, **28**, 521-527, 2001.
- [126] Torregrossa M., “*Reconstruction d’images obtenues par tomographie optique dans le proche infrarouge*”, Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg I, France, 2003
- [127] Torricelli A., Pifferi A., Spinelli L., Cubeddu R., Quaresima V., Ferrari M., “*Functional cortical brain mapping by near infrared time-resolved spectroscopy*”, dans *OSA Biomedical Optics Topical Meetings on CD-ROM (The Optical Society of America, Washington, DC, 2004)*, **FE5**, 2004.
- [128] Tsien R.Y., “*Fluorescent probes of cell signalling*”, *Annu. Rev. Neurosci.*, **12**, 227-253, 1989.
- [129] Tsuchiya Y., “*Photon path distribution and optical responses of turbid media: theoretical analysis based on the microscopic Beer-Lambert law*”, *Phys. Med. Biol.*, **46**, 2067-2084, 2001.
- [130] Tualle J.M., Tinet E., Avriillier 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.
- [131] Tuchin V., “*Tissue optics: Light scattering methods and instruments for medical diagnosis*”, SPIE Press, Washington, USA, 2000.

## Bibliographie

---

- [132] Uludag K., Steinbrink J., Kolh-Bareis M., Wenzel R., Villringer A., Obrig H., “*Cytochrome-c-oxidase redox changes during visual stimulation measured by near-infrared spectroscopy cannot be explained by a mere cross talk artefact*”, *Neuroimage*, **22**, 109-119, 2004.
- [133] Uludag K., Steinbrik J., Villringer A., Obrig H., “*Separability and cross talk : optimizing dual wavelength combinations for near-infrared spectroscopy of the adult head*”, *Neuroimage*, **22**, 583-589, 2004.
- [134] 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, 2004), **SF4**, 2004.
- [135] Vernon M.L., Fréchette J., Painchaud Y., Caron S., Beaudry P., “*Fabrication and characterization of a solid polyurethane phantom for optical imaging through scattering media*”, *Appl. Opt.*, **38**, 4247-4251, 1999.
- [136] Villringer A., Chance B., “*Non-invasive optical spectroscopy and imaging of human brain function*”, *Trends in Neurosciences*, **20**, 435-442, 1997.
- [137] Villringer A., Dirnagl U., “*Coupling of brain activity and cerebral blood flow: basis of functional neuroimaging*”, *Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.*, **7**, 240-276, 1995.
- [138] Watson J., Georges P., Lépine T., Alonzi B., Brun A., “*Imaging in diffuse media with ultrafast degenerate optical parametric amplification*”, *Opt. Lett.*, **20**, 231-233, 1995.
- [139] Wobst P., Wenzel R., Kohl M., Obrig H., Villringer A., “*Linear aspects of changes in deoxygenated hemoglobin concentration and cytochrome oxidase oxidation during brain activation*”, *Neuroimage*, **13**, 520-530, 2001.
- [140] Wolf M., Wolf U., Choi J.H., Gupta R., Safonova L.P., Paunescu L.A., Michalos A., Gratton E., “*Functional frequency-domain nearinfrared spectroscopy detects fast neuronal signal in the motor cortex*”, *Neuroimage*, **17**, 1868-1875, 2002.
- [141] Wolf M., Wolf U., Toronov V., Michalos A., Paunescu L.A., Choi J.H., Gratton E., “*Different time evolution of oxyhemoglobin and deoxyhemoglobin concentration changes in the visual and motor cortices during functional stimulation: A near-infrared spectroscopy study*”, *NeuroImage*, **16**, 704-712, 2002.
- [142] Woodard H.Q., White D.R., “*The composition of body tissues*”, *Br. J. Radiol.*, **59**, 1209-1219, 1986.
- [143] Yoo K.M., Xing Q., Alfano R.R., “*Imaging objects hidden in highly scattering media using femtosecond second-harmonic generation cross-correlation time gating*”, *Opt. Lett.*, **16**, 1019-1021, 1991.
- [144] Zienkiewicz O.C., Taylor R.L., “*The finite element method, 1 : Basic formulation and linear problems*”, McGraw Hill, 4<sup>th</sup> Edition, 1989.

- [145] Zint C.V., “*Tomographie optique proche infrarouge, résolue en temps, des milieux diffusants*”, Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg I, France, 2002.
- [146] 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.
- [147] Avecia, PO Box 42, Hexagon House, Blackley, Manchester M9 8ZS, GB, <http://www.avecia.com/>
- [148] Becker & Hickl GmbH, Nahmitzer Damm 30, D-12277 Berlin, Allemagne, <http://www.becker-hickl.de/>
- [149] Comsol France, 19 rue des Bergers, 38000, Grenoble, France, <http://www.comsol.com/>
- [150] Hamamatsu Photonics, 8, Rue du Saule Trapu, Parc du Moulin de Massy, 91300 Massy, France, <http://usa.hamamatsu.com/en/home.php>
- [151] The Mathworks Inc., 3 Apple Hill Drive, Natick MA, 01760-2098, USA, <http://www.mathworks.com/>
- [152] Medical Equipement International, 6 bis, rue du Progrès, 93108 Montreuil Cedex, France, <http://www.mei-france.fr/>
- [153] National Instruments, 11500 N Mopac Expwy, Austin, TX 78759-3504, USA, <http://www.ni.com/>
- [154] Ocean Optics, Nieuwgraaf 108 G, 6921 RK DUIVEN, Pays Bas, <http://www.oceanoptics.com/>
- [155] Owis GmbH, Im Gaisgraben 7, D-79219 Staufen, Allemagne, <http://www.owis-staufen.de/>
- [156] Pascal Rosier, distribué par Ciron SA, BP 36, 33720 Barsac, France, <http://www.pascalrosier.com/>
- [157] PicoQuant GmbH, Rudower Chaussee 29 (IGZ), 12489 Berlin, Allemagne, <http://www.picoquant.com/>
- [158] Roth-Sochiel, 3 rue de la chapelle, BP 11, 67630 Lauterbourg, France, <http://www.rothsochiel.fr/>
- [159] Sigma-Aldrich, L’isle d’Abeau Chesnes, BP 701, 38297 Saint Quentin Fallavier, France, <http://www.sigmaaldrich.com/>
- [160] Spectra Physics, 1791 Deere Avenue, Irvine CA 92606, USA, <http://www.newport.com/spectralanding/>
- [161] WFR Aquaplast, 30 Lawlins park, Wyckoff, NJ 07481, USA, <http://www.wfr-aquaplast.com/>
- [162] Bright R., “*Diseases of the brain and nervous system*”, Reports of medical cases selected with a view of illustrating the symptoms and care of diseases by a reference to morbid

## Bibliographie

---

anatomy, Longman, Rees, Orms, Brown et Green, London, **Vol. 2**, Case CCV, 431-435, 1831.

- [163] Curling T.B., "*A practical treatise on the diseases of the testis and of the spermatic cord and scrotum*", Samuel Highley, 32 Fleet Street, London, 125-181, 1843.