



HAL
open science

Recalage de flux de données cinématiques pour l'application à l'imagerie optique

Mickaël Savinaud

► **To cite this version:**

Mickaël Savinaud. Recalage de flux de données cinématiques pour l'application à l'imagerie optique. Autre. Ecole Centrale Paris, 2010. Français. NNT : 2010ECAP0028 . tel-00545424

HAL Id: tel-00545424

<https://theses.hal.science/tel-00545424>

Submitted on 29 Nov 2021

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.



INSTITUT NATIONAL
DE RECHERCHE
EN INFORMATIQUE
ET EN AUTOMATIQUE



centre de recherche
SACLAY - ÎLE-DE-FRANCE



THÈSE DE DOCTORAT

pour obtenir le grade de

Docteur de l'École Centrale de Paris

Spécialité : Mathématiques Appliquées

Présentée par

Mickaël SAVINAUD

Recalage de flux de données cinématiques : application à l'imagerie optique

préparée à l'École Centrale de Paris, Laboratoire MAS

Soutenue le 8 octobre 2010.

Jury :

<i>Président :</i>	Bertrand TAVITIAN	- CEA - INSERM
<i>Rapporteur :</i>	David BRASSE	- CNRS - IPMC
	Boudewijn LELIEVELDT	- LUMC - TU Delft
<i>Directeur de thèse :</i>	Nikos PARAGIOS	- École Centrale de Paris
	Serge MAITREJEAN	- Biospace Lab
<i>Examineurs :</i>	Ghassan HAMARNEH	- Simon Fraser University
	Xavier PENNEC	- INRIA Sophia-Antipolis
	Lionel REVERET	- INRIA Rhône-Alpes

2010ECAP0028

Résumé

L'imagerie du petit animal occupe une place croissante dans les études précliniques. Parmi les approches d'imagerie moléculaire, les méthodes de détection externe d'un flux lumineux fournissent une information fonctionnelle sur un phénomène biologique ainsi que sur sa localisation. De récents développements permettent d'exploiter ces méthodes dans le cadre de l'imagerie sur animal vigile. On opère alors dans des conditions physiologiques proches du fonctionnement normal de l'organisme. Les travaux effectués lors de cette thèse ont porté sur l'utilisation optimale de cette modalité via des méthodes d'analyse originales de vision par ordinateur.

Plusieurs problèmes soulevés par la fusion des flux cinématiques et de données de bioluminescence nous ont amené à proposer deux approches complémentaires. La première de ces méthodes nous a permis via une représentation implicite du problème de recalage de démontrer l'intérêt manifeste de cette fusion dans l'imagerie sur l'animal vigile. D'un point de vue méthodologique la combinaison des informations fournies par la silhouette et des marqueurs embarqués sur la souris dans un cadre variationnel nous permet d'assurer un recalage précis et robuste. Grâce à une interaction dynamique avec un laboratoire de biologie, nous avons pu évaluer l'impact de ce type d'approches sur le terrain.

Pour prendre en compte fidèlement tous les flux d'informations mises en jeu par cette modalité, nous avons proposé un nouveau cadre d'approches pour le recalage de groupes d'images porteuses d'informations différentes. Cette méthode reprend le schéma de fusion temporelle mais en considérant non plus la recherche d'une transformation par paire d'images mais d'un ensemble de transformations pour une population d'images multi-canaux. Ce type d'approche permet de s'affranchir des limites intrinsèques du recalage entre paires d'images. La modélisation utilisée pour résoudre ce problème de recalage de population d'images fait appel à des critères de recalage classique associées à une mesure de la compacité des données de bioluminescence le tout retranscrit dans une approche discrète. Celle-ci permet de manipuler facilement ce type de problème tant dans la modélisation qu'au niveau de l'optimisation. L'évaluation de cette méthode nous a permis d'obtenir des résultats compatibles avec une analyse robuste du signal émis par un animal vigile.

Dans le but de s'affranchir des contraintes de l'observation planaire des données de notre système d'acquisition nous avons poursuivi notre réflexion en direction d'un cadre de recherche axé sur la reconstruction du mouvement 3D de l'animal. Il nous permettra de mettre en place un des premiers jalons d'une imagerie optique tridimensionnelle sur animal vigile. En effet la localisation en profondeur des sources de luminescences passe par l'acquisition de l'enveloppe sur chaque trame des flux de données. Pour répondre à cet objectif, nous avons élaboré un algorithme de suivi 3D de l'animal basé sur un modèle articulé et complet d'une souris et une approche d'estimation robuste de la pose à partir de la réflexion de l'illumination sur l'animal. Grâce à un système d'acquisition multi-vues et simultanée de la scène, nous avons pu ajouter une contrainte sur l'estimation de la position de la source pour rendre robuste le suivi sur des acquisitions cinématiques multi-canaux. Les premiers résultats expérimentaux montrent le potentiel de cette méthode pour fournir des mesures précises en 3D sur l'animal vigile.

L'intégration déjà effectuée ou à venir de certaine partie de cette thèse dans un environnement industriel permet d'envisager des perspectives intéressantes à ce travail de recherche.

Mots-clefs : Traitement d'images, recalage d'images, fusion de population d'images, imagerie biomédicale, reconstruction de mouvements 3D, imagerie optique, animal vigile.

Abstract

Small animal imaging techniques have taken, since many years, a great part in the preclinical studies. In the case of optical imaging modality, new devices offer now the possibility to acquire the luminescence signal with short time resolution. These advances have opened some new research perspectives in the case of freely moving animals. This is a significantly improvement because several studies highlighted the impact of anesthetics agent and animal handling to perform *in vivo* studies in physiological conditions. In this thesis, we define the tools, based on computer vision methods, which offer the possibility to express the potential of this modality.

New devices build for this modality produce cinematic data which are simultaneously recorded. However, in some cases, signals could suffer from weak spatial information due to the animal movement. Therefore we propose to improve localization of the luminescent data for a freely moving animal by using motion information obtained from video. To this end, we reformulate our problem as a non-rigid registration in the scene video and use the corresponding motion vectors to filter the optical one. Due to the lack of contrast and texture, our method introduces silhouette constraints and landmarks on the mouse skin within a variation framework. Motion is represented using thin-plate-splines and the objective function is optimized using a gradient conjugate descent approach. Experimental results demonstrate the potentials of the proposed framework in a realistic context.

To take into account all data in the registration framework, we propose a novel approach to perform fusion of cinematic flow and optical imaging towards enhancement of the biological signal. To this end, fusion is reformulated as a population (all vs. all) registration problem where the two (being spatially aligned) signals are registered in time using the same deformation field. We combine local similarity criteria, previously defined, with global ones which measure compactness of distribution. Implicit silhouette and landmark matching are considered for the cinematic images and are combined with global statistical congealing-type measurements of the optical one. The problem is reformulated using a discrete MRF, where optical imaging costs are expressed in singleton (global) potentials, while smoothness constraints as well as cinematic measurements through pairwise potentials. Promising experimental results demonstrate the potentials of our approach in comparison to traditional pairwise method.

In the last part, we propose the first step of an original approach to enable 3D optical imaging in case of freely moving animal. In the majority of bioluminescence tomography techniques, the shape of animal and the precise localization of area of light emission are necessary to localize the luminescent source. Therefore, we present a novel model-based approach to 3D animal tracking from monocular video which allows the quantification of bioluminescence signal on freely moving animals. The 3D animal pose and the illumination are dynamically estimated through minimization of an objective function with constraints on the bioluminescence signal position. Derived from an inverse problem formulation, the objective function enables explicit use of temporal continuity and shading information, while handling important self-occlusions and time-varying illumination. In this model-based framework, we include a constraint on the bioluminescence signal to enforce tracking of the biologically produced signal. The minimization is done efficiently using a quasi-Newton method. Preliminary experimental results demonstrate the potentials of our approach for 3D accurate measurement with freely moving animal.

Key-words: Image processing, biomedical imaging, pairwise registration, groupwise registration, 3D reconstruction, freely moving animal, optical imaging.

Remerciements

Cette thèse s'est déroulée au sein du Laboratoire de Mathématiques Appliquées au Systèmes de l'École Centrale de Paris et de l'équipe R&D de Biospace Lab, sous la direction respective du Professeur Nikos Paragios et du Docteur Serge Maitrejean. Je tiens à les remercier tous les deux pour leur encadrement et leurs approches complémentaires de mon travail durant ces trois années et demi. Chacun à leur manière a pu me faire grandir et me pousser à réaliser cette thèse. Ils ont cru en mes idées même quand moi-même j'en doutais et je les en remercie.

Je tiens aussi à remercier l'ensemble de mon jury de thèse, notamment Bertrand Tavitian pour avoir accepté de présider mon jury de thèse et de m'avoir ouvert les portes de son laboratoire. Je souhaite bien entendu témoigner ma gratitude à David Brasse et Boudewijn Lelieveldt pour avoir consacré du temps à relire et analyser ce travail. Mes plus sincères remerciements vont également à Ghassan Hamarneh, Xavier Pennec et Lionel Reveret d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse.

Péniblement solitaire à certain moments, cette thèse s'est nourrie cependant des rencontres et des collaborations qui ont pu se nouer dans un esprit positif. De toute façon le sujet et l'environnement humain étaient propices à ce genre d'aventure. Je voudrai donc remercier l'ensemble de mes collègues de Biospace Lab et de mes camarades de l'équipe mas.vision passée et présente.

Je remercie donc tout spécialement Émilie et Aris avec qui j'ai eu le plaisir de travailler, discuter et apprendre. Chacun dans son domaine m'a transmis un peu de son savoir et de son énergie pour achever cette thèse. Et puis tout naturellement, ce sont devenus des amis. De même sans le soutien technique et humain d'Olivier Levrey, Sam, Maxime, Martin et Quentin cette thèse aurait pu sombrer dans les limbes. Merci à vous d'avoir bien voulu m'accorder de votre temps ou de votre savoir pour m'enrichir et me faire progresser. Sam sans toi et ta bonne humeur les pauses « lecture » auraient été bien moins sympathiques.

Cette thèse n'aurait pas été possible sans l'ouverture d'esprit de personnes comme le docteur Raphaël Boisgard, du LIME-SHFJ, et toutes les techniciens qui ont bien voulu me consacrer du temps et des souris pour que je puisse avoir des données. Sans eux et la curiosité de Raphaël, je n'aurais jamais pu découvrir le monde de la biologie et j'aurais fini par rester devant mon PC tout le long de cette aventure.

Comment oublier ma quête du bureau idéal au cours de ces 3 ans et demi, finalement j'ai réussi à trouver mon équilibre aux cotés de gentils camarades comme Radhouène, Salma, Loic, Olivier Teboul, Panos. Merci à eux d'avoir accueilli le SBF (Sans Bureau Fixe) de l'équipe, ce fut pour moi un grand plaisir de passer ces longues journées avec vous. Je n'oublie pas pour autant Ahmed, Régis, Chaohui, Daniel et les autres pour tous les gâteaux, thés et cafés pris ensemble à partager des discussions passionnées. Chaohui merci de m'avoir fait découvrir la Chine et sa grande muraille, j'espère un jour te faire découvrir à toi aussi une belle région française.

Merci aussi à mes collègues ou ex-collègues de bureau à Biospace : Sébastien, Mehdi, Guillaume, Fabienne, Pierre-Louis et Thomas toujours prêt à répondre à une de mes questions et à organiser des bons repas dans les restaurants du coin. Je leur souhaite de réussir chacun de leur côté leur challenge personnel et professionnel.

Ce manuscrit est le reflet d'une très grande partie de mon univers pendant ces trois ans et demi mais je remercie Pierre, Sarah, Laurianne, Jen et bien d'autres de m'avoir fait profiter de leur amitié à travers des déjeuners, des diners, des marches dans les Cyclades ou bien simplement

en discutant. Ces moments ont été très agréables et m'ont permis de construire sagement cette thèse.

Finalement je dédie cette thèse à ma famille que je remercie de m'avoir supporté tout le long de ce challenge et d'être venu partager avec moi ma soutenance. Chacun à sa manière ils m'ont permis de me construire et de me préparer pour réussir cette aventure et ces rencontres. La dernière personne qui a contribué à cette thèse est ma douce Céline qui est devenue un élément majeur de ma vie et qui m'a encouragé et soutenu dans les moments difficiles traversés pour arriver aux quelques succès de cette thèse.

Table des matières

INTRODUCTION	1
1 Enjeux de l'imagerie préclinique : détection et analyse	5
1.1 Modèles animaux en imagerie biomédicale: intérêts et contraintes	7
1.2 Imagerie du petit animal: techniques, applications et méthodes d'analyse	8
1.2.1 Microscopie et autoradiographie	9
1.2.2 Radiologie et scanner	10
1.2.3 Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)	12
1.2.4 Imagerie radio-isotopique	15
Scintigraphie et tomographie par émission mono-photonique (TEMP)	16
Tomographie par émission de positons (TEP)	16
1.2.5 Échographie	17
1.3 Imagerie optique du petit animal: contexte, intérêts et enjeux	20
1.3.1 Mécanisme de luminescence	21
Des échanges énergétiques à l'origine de la luminescence	21
Influence des tissus sur la luminescence	22
Différents vecteurs d'informations en imagerie optique <i>in vivo</i>	23
1.3.2 Détection en imagerie optique	27
Techniques d'acquisitions en imagerie optique	28
Système à l'origine de la thèse	29
1.3.3 Expérience typique de l'imagerie optique	32
1.3.4 Limitations et potentiel de l'imagerie optique	33
1.4 Outils d'analyse pour l'imagerie préclinique	34
2 Imagerie de bioluminescence sur animal vigile : émergence de flux de données cinématiques	37
2.1 Imagerie sur animal vigile : des études statiques à une analyse cinématique	39
2.2 Un système de détection optique pour l'imagerie sur l'animal vigile	40
2.2.1 Description du système	41
Montage optique	41
2.2.2 Validations du système grâce aux outils de traitements d'images	43
2.2.3 Méthode de fusion des données	45
2.3 Problématique : prendre en compte le mouvement dans la fusion des données <i>in actio</i>	48

3	Estimation séquentielle du mouvement : mise en œuvre de techniques de recalage <i>pairwise</i> pour l'imagerie sur animal vigile	51
3.1	Cadre méthodologique du recalage séquentiel d'images	53
3.2	État de l'art du recalage <i>pairwise</i>	55
3.2.1	Représentation de la forme	55
	Descripteurs localisés	56
	Modèle géométrique discret	57
	Modèle géométrique continu	58
3.2.2	Modèle de déformation	60
	Transformation Globale	61
	Transformation Locale	62
3.2.3	Critère de similarité	66
3.2.4	Optimisation	68
3.2.5	Récapitulatif	69
3.3	Développement d'une méthode robuste adaptée à l'estimation du mouvement de la souris	70
3.3.1	Choix d'un critère robuste	70
3.3.2	Un modèle de déformation apte à suivre les mouvements complexes	73
3.4	Fusion des données de bioluminescence <i>in actio</i> avec estimation du mouvement	74
3.5	Évaluation de l'approche séquentielle	75
3.5.1	Impact sur la localisation du signal	76
3.5.2	Analyse des caractéristiques du signal de bioluminescence	77
3.5.3	Estimation de la résolution limite de l'approche proposée	82
3.6	Discussion	83
4	Fusion simultanée des flux de données cinématiques	85
4.1	Le recalage <i>groupwise</i> : un cadre naturel d'approches pour le fusion de données <i>in actio</i>	87
4.1.1	État de l'art	87
	Définition explicite ou implicite d'une image de référence	87
	Évolution vers des modélisations sans <i>template</i>	88
4.1.2	Une adaptation à l'estimation précise du mouvement de l'animal dans le cadre de l'imagerie optique	92
4.2	Fusion de population d'images multi-canaux dans une approche discrète	94
4.2.1	Modélisation de la transformation	94
4.2.2	Modélisation discrète du problème	95
4.2.3	Caractéristiques des potentiels MRF pour le recalage simultané de flux vidéo et optique	97
4.2.4	Optimisation de notre graphe de type MRF	100
4.3	Résultats expérimentaux et comparaison avec notre approche séquentielle	101
4.3.1	Évaluation du recalage <i>groupwise</i> d'une pile d'images multi-canaux	101
4.3.2	Étude de la dispersion du signal optique sur une séquence test	102
4.3.3	Mesure du gain en terme d'analyse des flux cinématiques	104
4.4	Discussion	107

5 Reconstruction des flux cinématiques 3D : système multi-vues et estimation de pose	109
5.1 Estimation de la pose de l'animal : une problématique transverse	111
5.2 Estimation de la profondeur à partir de flux vidéos : contexte et littérature . . .	112
5.2.1 Estimation de la pose 3D d'un animal : un challenge scientifique	112
5.2.2 Différentes propositions issues de la littérature	114
5.3 Système multi-vues adapté au dispositif existant	116
5.3.1 Technologies existantes de tomographie optique	116
5.3.2 Un dispositif adapté à l'imagerie sur animal vigile	118
5.4 Recalage cinématique des flux vidéos et de bioluminescence sur un modèle articulé de souris	120
5.4.1 Construction d'un modèle articulé d'une souris	120
5.4.2 Modélisation du système d'acquisition	121
5.4.3 Gestion de nos observations multi-canaux dans l'estimation de la pose de la souris	122
5.5 Résultats préliminaires et Discussion	124
5.5.1 Évaluation de l'estimation de la pose via une méthode basée sur un modèle	124
5.5.2 Analyse cinématique 3D : premiers pas	125
5.5.3 Discussion	127
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	129
COMMUNICATIONS SUR LES TRAVAUX RÉALISÉS	131
BIBLIOGRAPHIE	133

Introduction

La biologie et la médecine ont pour fondement l'observation et la compréhension des phénomènes de la vie. L'observation anatomique et fonctionnelle des organismes vivants voit, depuis un demi-siècle, ses moyens d'accès et leurs capacités de détection s'affiner considérablement grâce aux nombreux développements issus de la physique. En parallèle depuis une vingtaine d'années, l'accroissement des moyens informatiques a permis d'accroître l'utilisation et l'analyse de ces données majoritairement représentées sous forme d'images. L'étude préclinique *in vivo* de phénomènes moléculaires est une des illustrations de ces avancées.

Moins visible du grand public mais tout aussi primordiale que son pendant en radiologie, l'imagerie préclinique offre la possibilité d'observer et d'appréhender tant les mécanismes biologiques que leurs pathologies associées. Elle accompagne de nombreuses études ou évaluations de nouvelles approches thérapeutiques qui pourraient un jour être utilisées chez l'homme. L'observation et l'analyse de ces données se sont initialement effectuées en prolongeant les méthodes mises en place pour l'imagerie clinique. Toutefois l'accroissement tant de la spécificité des applications que des volumes de données pousse à élaborer de nouvelles approches d'imagerie et de vision par ordinateur.

Les traitements informatiques des images (2D ou 3D) biomédicales ont été au début le reflet de l'automatisation des tâches effectuées de façon répétitive mais tendent aujourd'hui, de plus en plus, à extraire, reconstruire ou modéliser une information exploitable de l'observation. Le recalage d'images est une composante de ses techniques et permet de comparer, fusionner ou aligner deux images ou une image vers un modèle, ou des mesures provenant de situations différentes. Ces contextes d'utilisation font référence à toutes les modalités utilisables ou bien aux différents protocoles de suivi ou d'études comparatives. Au vu du caractère non linéaire et de la taille de cet ensemble varié de problèmes, divers cadres méthodologiques ont été proposés pour offrir des outils d'analyse pertinents dans tous les domaines de l'imagerie.

De façon identique à l'imagerie clinique, on peut différencier ces techniques en fonction du type de données collectées : anatomiques ou fonctionnelles. L'imagerie anatomique regroupe les modalités basées sur l'obtention d'un contraste entre les différentes structures anatomiques que l'on cherche à visualiser : on obtient alors les paramètres morphologiques du modèle utilisé. L'imagerie fonctionnelle cible, quant à elle, un phénomène chimique ou physiologique, de façon spécifique ou non, dans l'organisme. En étudiant un processus particulier, il est alors possible d'accéder à une localisation spatiale de celui-ci ou bien même parfois temporelle. On ne parle plus alors de contraste morphologique mais de quantification du processus via des marqueurs moléculaires endogènes ou exogènes. L'étude de ces phénomènes est particulièrement simple chez le petit animal mais les techniques d'imagerie et d'analyse doivent s'adapter à des contraintes spécifiques (résolution plus fine des structures par exemple) qui autorisent rarement la transposition immédiate des dispositifs et des méthodes d'analyse issus du monde clinique.

L'imagerie optique *in vivo* est une modalité d'imagerie fonctionnelle parfaitement adaptée à la recherche d'informations biologiques grâce à l'utilisation simple de sondes précises et très peu toxiques. Ces deux points en font actuellement une des techniques de routine en laboratoire. Le dynamisme des recherches effectuées avec cette modalité en fait un domaine riche en innovation tant du point de vue matériel que des traitements utilisés sur les données.

Ces innovations visent à réduire les limitations de cette modalité qui sont principalement liées :

- aux incertitudes de quantification avec les techniques d'imagerie planaire,
- la faiblesse actuelle de la résolution temporelle des instruments d'imagerie optique,
- une pollution des conditions nominales d'imagerie par des facteurs extérieurs comme l'anesthésie par exemple.

La conjonction de solutions matérielles et de vision par ordinateur est à même, nous le pensons, de fournir des solutions innovantes à ces problèmes. Il devient alors possible de considérer positivement le challenge d'étendre l'imagerie optique à des applications sur animal vigile. Ce contexte d'imagerie est novateur tant dans la gestion d'un nouveau type de données que dans les moyens à mettre en œuvre pour les analyser.

L'objectif de cette thèse est donc de fournir les moyens d'analyse des données issues des flux d'informations provenant de cette nouvelle modalité dans le but d'effectuer une imagerie en temps réel planaire ou tri-dimensionnelle pertinente. Ce travail est guidé par une réflexion globale autour des limitations de l'imagerie optique que nous contribuerons à mieux appréhender. Pour ce faire nous avons proposé dans un premier temps deux approches complémentaires permettant une analyse robuste et fiable de la fusion des données observées avec notre dispositif d'acquisition. Nous avons alors reformulé nos approches comme un problème de recalage dont nous avons amélioré continuellement les caractéristiques. Au final la modélisation retenue prend en compte toutes les informations issues des différents flux de données dans un cadre original et performant. En association d'une légère modification matérielle, nous avons proposé et validé, grâce à des résultats préliminaires, une piste prometteuse pour permettre une imagerie tridimensionnelle compatible avec l'imagerie optique sur animal vigile.

Cette thèse s'appuie majoritairement sur différents domaines du traitement d'images tout en se déroulant à l'interface de l'instrumentation préclinique et de la biologie. L'environnement de cette thèse est fondé sur le partenariat, conclu sous la forme d'une convention CIFRE, liant l'entreprise Biospace Lab et l'équipe mixte GALEN du laboratoire de Mathématiques Appliquées aux Systèmes de l'École Centrale de Paris et de l'INRIA Saclay-Île de France. En outre des relations plus informelles se sont créées au cours de cette thèse avec certains chercheurs du LIME du CEA, nous permettant de procéder aux validations biologiques des approches proposées.

Ce manuscrit de thèse est organisé selon cinq chapitres :

Chapitre 1 Afin de situer ce travail dans le cadre de l'imagerie préclinique *in vivo*, nous discuterons dans ce chapitre des enjeux de l'observation et de l'analyse des différentes modalités disponibles. Nous mettrons l'accent sur leurs besoins spécifiques et les réponses apportées par le traitement d'images. À partir des caractéristiques de l'imagerie optique, nous situerons notre travail vis à vis des limitations actuelles de cette modalité. L'intérêt de la fusion de différentes modalités, nous permettra d'introduire les objectifs pratiques des méthodes de recalage.

- Chapitre 2** L'exploitation d'un tout nouveau dispositif d'imagerie sur animal vigile, nous amènera à décrire dans ce chapitre les caractéristiques de cet appareil et surtout des données recueillies. En effet, nous constaterons que de nouvelles problématiques sont soulevées par l'utilisation de ce type de système, nécessitant le recours à des méthodes informatiques performantes. Nous pourrions alors énoncer notre problématique et les objectifs associés à cette thèse.
- Chapitre 3** La première modélisation du problème sera présentée dans ce chapitre et s'appuiera sur la formulation classique d'un problème de recalage. En effet si l'on considère une approche séquentielle de notre problème de fusion, alors seules les données vidéos seront considérées. Elles seront alors manipulées dans un cadre théorique robuste nécessaire à l'estimation de milliers de transformations pour une séquence typique. Nous validerons notre approche sur diverses séquences pour démontrer les performances intrinsèques de notre choix vis à vis de l'imagerie optique sur animal vigile. À partir des résultats obtenus, nous montrerons l'intérêt de fournir de nouvelles approches pour répondre à notre problématique.
- Chapitre 4** La seconde modélisation proposée explicitera ce problème d'estimation du mouvement de l'animal en tenant compte simultanément des deux flux de données. L'approche s'inspirera alors des formulations de problème de recalage de populations d'images mais en considérant des données multi-canaux : anatomiques et fonctionnelles. Pour assurer la qualité et la robustesse des transformations estimées, nous modéliserons l'ensemble du problème dans un cadre discret sous forme de graphe de type MRF (*Markov Random Field*). La validation effectuée permettra de montrer que cette modélisation offre des résultats généralement plus performants que l'approche séquentielle par rapport à notre objectif de fournir des outils d'analyse pour l'imagerie sur animal vigile.
- Chapitre 5** Dans la continuité de nos travaux, nous avons cherché à étendre, via l'approche que nous proposons, l'imagerie optique tridimensionnelle à des études sur animal vigile. Nous décrirons donc dans ce chapitre la solution que nous proposons pour reconstruire en 3D l'enveloppe de l'animal et plus précisément les zones d'émission lumineuse. Nous mettrons donc en avant la combinaison d'un système simple d'acquisition multi-vues et une méthode de recalage articulé tenant compte des différents flux d'informations. Nous présenterons alors les résultats préliminaires encourageants obtenus avec cette approche basée sur une modélisation complète du problème.

Chapitre 1

Enjeux de l'imagerie préclinique : détection et analyse

Au cours des vingt dernières années de nombreux modèles animaux dérivés des pathologies humaines ont été élaborés, permettant une compréhension plus fine et le développement de nouvelles approches thérapeutiques. Les petits animaux (rongeurs, poissons, ...) et les primates ont été les acteurs essentiels de ces nouveaux traitements. En particulier, la présence chez la souris de gènes proches de ceux de l'homme et la possibilité de manipuler simplement le génome de la souris ont conduit à la multiplication du nombre de modèles murins. Ces modèles et la mise en œuvre de techniques adaptées ont permis la réalisation d'études *in vivo* pertinentes. Cependant chez le petit animal, les techniques d'imagerie supportent des contraintes spécifiques (résolution plus fine des structures par exemple) qui autorisent rarement la transposition immédiate des dispositifs destinés au monde clinique.

De larges progrès instrumentaux ont donc été effectués pour parvenir à détecter des informations anatomiques ou quantitatives à des résolutions spatiales et temporelles plus fines tout en gardant des niveaux de sensibilités suffisants pour la détection des phénomènes étudiés. Au cours de cette même période, les capacités de calcul informatique ont, en parallèle, progressé rendant ainsi possible un traitement plus efficace des données mesurées pour en extraire un maximum d'informations pertinentes. Ces méthodes, dans un premier temps, ont été une simple transposition de celles utilisées en clinique mais sont maintenant de plus en plus spécifiques au domaine préclinique. En effet les objectifs et les contraintes sont souvent différents (entre clinique et préclinique) car l'utilisation de modèles animaux permet l'étude longitudinale de pathologies sur des groupes importants de façon simple. Les contraintes de reproductibilité sont toutefois plus fortes pour en tirer une information exploitable. Une adaptation de méthodes existantes ou de nouvelles approches de traitement d'images sont alors nécessaires pour révéler toutes les possibilités de l'imagerie préclinique.

C'est pourquoi dans ce chapitre nous nous attacherons à décrire l'intérêt de créer des techniques innovantes de traitement d'images en imagerie préclinique. Nous commencerons donc par décrire le contexte d'utilisation des modèles animaux pour l'imagerie puis nous décrirons les différentes modalités d'imagerie *in vivo* et *in vitro*. La dernière partie de ce chapitre s'attachera à définir le contexte précis de ce travail de thèse dans le cadre de l'imagerie optique sur petit animal. Le contexte biologique, les contraintes, les apports instrumentaux et le traitement d'images seront abordés pour chaque modalité.

Sommaire

1.1	Modèles animaux en imagerie biomédicale: intérêts et contraintes	7
1.2	Imagerie du petit animal: techniques, applications et méthodes d'analyse	8
1.2.1	Microscopie et autoradiographie	9
1.2.2	Radiologie et scanner	10
1.2.3	Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)	12
1.2.4	Imagerie radio-isotopique	15
1.2.5	Échographie	17
1.3	Imagerie optique du petit animal: contexte, intérêts et enjeux . .	20
1.3.1	Mécanisme de luminescence	21
1.3.2	Détection en imagerie optique	27
1.3.3	Expérience typique de l'imagerie optique	32
1.3.4	Limitations et potentiel de l'imagerie optique	33
1.4	Outils d'analyse pour l'imagerie préclinique	34

1.1 Modèles animaux en imagerie biomédicale : intérêts et contraintes

En imagerie biomédicale, le modèle expérimental intervient à tous les niveaux, du microscopique, (molécules, organites, cellules) au macroscopique (organe, organisme corps entier, population d'organismes). Le modèle animal joue un rôle clé puisqu'il permet, à partir d'une reproduction d'un phénomène biologique, lié à une maladie ou non, de tester des hypothèses sur les causes, les mécanismes et la thérapie (si besoin) de celui-ci. Cependant, pour garder une démarche rigoureuse, le modèle doit :

- satisfaire au critère d'isomorphisme, à savoir que les phénomènes observés chez l'animal doivent être semblables à ceux observés chez l'humain,
- présenter des mécanismes et des causes identiques à ceux observés chez l'homme, dans la mesure où ceux-ci sont connus,
- montrer une réponse similaire à celle de l'homme aux différentes molécules (thérapeutiques ou non), que cette réponse soit positive ou négative.

La limite de l'analogie dépend alors des différences dans les paramètres physiologiques (masse, débit sanguin) de l'animal à l'homme. Le modèle étant par essence imparfait, il faut se garder d'extrapoler trop directement à l'homme des résultats obtenus chez le rongeur. Cependant, l'étude des modèles animaux aboutit souvent à mieux connaître les mécanismes et les causes d'un phénomène biologique [34].

Dans la majeure partie des cas, les modèles utilisés dans l'imagerie préclinique sont réalisés par méthodes lésionnelles, chimiques, ou bien, depuis une quinzaine d'années, par ingénierie génétique [8]. Ces modèles génétiques ont connu un essor important du fait des progrès effectués dans la connaissance et la manipulation du génome de la souris qui présente de nombreuses homologies avec le génome humain. De plus, parmi les techniques actuelles d'imagerie fonctionnelle, l'imagerie moléculaire est une discipline en forte évolution, qui permet l'observation de phénomènes à l'échelle moléculaire avec une perturbation minimale de l'organisme étudié. Cette technique s'applique à différents organismes allant de la cellule au corps entier et de l'*ex vivo* à l'*in vivo*. En combinant l'imagerie moléculaire et les modèles animaux, en y associant l'imagerie anatomique, de grandes avancées dans le domaine préclinique ont été effectuées [198, 199].

Cependant l'utilisation de modèles animaux en imagerie préclinique implique certaines contraintes qui peuvent limiter l'extraction d'information des phénomènes observables. Dans bien des cas, ces limites correspondent aux limites de détection (résolution spatiale, temporelle ou bien sensibilité) des instruments. Une autre source de limitations provient des protocoles utilisés lors des acquisitions corps entier. En effet, actuellement la majorité des acquisitions s'effectuent sur des animaux anesthésiés pour restreindre leurs mouvements. L'anesthésie, d'origine chimique, peut perturber les phénomènes étudiés (particulièrement en imagerie fonctionnelle) et elle ne permet pas de réaliser d'études qui nécessitent la conscience de l'animal pour réaliser une tâche (manger, boire, parcourir un labyrinthe). Nous développerons ces contraintes plus précisément dans la partie sur l'imagerie optique. Le mouvement est un autre facteur qui doit être pris en compte dans les limitations d'utilisation de modèle animal car beaucoup d'études s'effectuent soit de façon longitudinale (ce qui devrait impliquer un positionnement toujours identique de l'animal au cours du temps) soit avec différentes modalités (posant le problème de fusion entre les données).

L'étude et la caractérisation de ces modèles animaux ne peuvent donc se faire que grâce à des outils adaptés capables de détecter et mesurer des propriétés physiques corrélées à des informations biologiques. À partir de ces données acquises, les outils d'analyse et de reconstruction automatique permettent au biologiste d'interpréter de façon précise le phénomène observé.

1.2 Imagerie du petit animal : techniques, applications et méthodes d'analyse

L'imagerie sur petit animal regroupe des techniques qui peuvent être classées selon leur invasivité. Les techniques les plus invasives sont aussi celles ayant la meilleure résolution spatiale, proche de celle de l'histologie. Les techniques de microscopie à épifluorescence et confocal, associées à des biopsies, ont permis respectivement la détection de molécules marquées par des fluorophores et l'observation en profondeur de tissus avec une résolution axiale de l'ordre de 10 μm . Les techniques d'autoradiographie (cf. 1.2.1) quant à elles, tendent à apporter des informations complémentaires à l'histologie via le marquage de molécules.

Différents dispositifs ont été développés pour l'analyse restreinte *in vivo* de certaines zones de l'animal avec des propriétés proches de l'histologie. Ces techniques sont principalement issues du domaine de la microscopie et adaptées via des systèmes fibrés à l'imagerie sur animal. Les premières applications se sont limitées à l'exploration non invasive des organes de surface (en dermatologie par exemple) et de faible profondeur via la tomographie par cohérence optique (OCT). Plus récemment des techniques dites *in situ* (cf. 1.2.1) minimisant l'invasivité ont permis, grâce à l'utilisation d'endoscope, d'accéder à des organes internes et, par exemple, à la visualisation de processus neurologiques. Cependant, malgré une résolution submillimétrique, ces techniques restent bien souvent limitées à un champ de vue inférieur à quelques mm.

En complément des techniques d'analyse *in situ* et de leur haute résolution spatiale, de nombreuses modalités d'imagerie corps entier ont été développées pour le petit animal et donnent accès à des informations macroscopiques. La possibilité d'analyser l'intégralité du corps du petit animal ouvre la voie à des études non réalisables par imagerie microscopique, comme les études pharmacocinétiques ou de biodistribution, essentielles à la caractérisation d'un médicament ou d'un traceur¹. L'imagerie non invasive évite le sacrifice de l'animal pour l'étude et facilite ainsi les études longitudinales sur un même animal, ce qui permet de suivre l'évolution d'une pathologie ou d'évaluer l'efficacité d'un traitement. L'utilisation d'un même animal présente aussi l'avantage de réduire la variabilité interindividuelle. Enfin, la limitation du nombre d'animaux diminue le coût des études et améliore leur rapidité. Par ailleurs, la minimisation du caractère invasif des modalités permet de se rapprocher des conditions physiologiques naturelles, fournissant ainsi des informations anatomiques ou fonctionnelles représentatives du fonctionnement de l'organisme.

Toutes les solutions d'imagerie préclinique sur petit animal : telles que l'autoradiographie, la microscopie *in situ*, la tomodensitométrie par rayons X, l'imagerie par résonance magnétique (IRM), les techniques d'imagerie nucléaire : la tomographie par émission de positons (TEP ou PET en anglais) ; la tomographie par émission monophotonique (TEMP ou SPECT

1. Un traceur est une molécule ou macromolécule dont on souhaite suivre le parcours et les interactions dans l'organisme, grâce à un marqueur accroché à cette macromolécule tel qu'un fluorophore ou un élément radioactif.

en anglais); la scintigraphie, l'imagerie ultrasonore (US) et l'imagerie optique (Fig. 1.1); fournissent des quantités importantes de données brutes à traiter et à analyser. À partir de ces données, les algorithmes de traitement d'images peuvent extraire ou reconstruire des informations pertinentes. Le contexte d'acquisition de chacune des techniques pose des problèmes et des contraintes différents d'une méthodologie à l'autre.

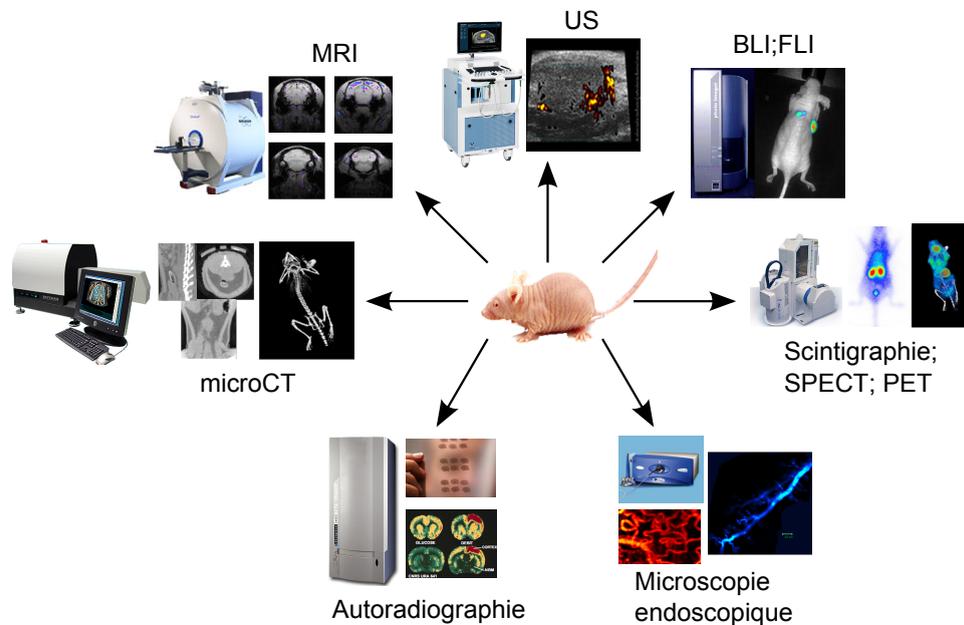


FIGURE 1.1 – Techniques d'imagerie pour le petit animal (adaptée de [125,154]). US = Imagerie UltraSonore. IRM = Imagerie par Résonance Magnétique. CT = Computerized Tomography. SPECT = Single Photon Emission Computerized Tomography. PET = Positron Emission Tomography. BLI = BioLuminescence Imaging. FLI = FLuorescence Imaging.

1.2.1 Microscopie et autoradiographie

Les techniques d'autoradiographie s'apparentent à l'histologie car l'échantillon est constitué de coupes extraites de l'animal ou de l'un de ses organes. Ces coupes sont constituées de tranches de 5 à 100 μm d'épaisseur (classiquement 20 μm) qui seront fixées sur des lames de verre ou des films radiographiques selon l'application. Différents marqueurs (colorants, marqueurs radioactifs) mettent en évidence les structures ou processus biologiques d'intérêt de façon spécifique. Dans le cas de l'imagerie sur petit animal, les coupes planes du corps entier ou bien d'un des organes peuvent être assemblées pour permettre une analyse tridimensionnelle des structures ou des phénomènes biologiques étudiés (Fig. 1.2-A). Dans le cas de l'imagerie cérébrale, plusieurs méthodes algorithmiques ont été développées pour corriger les imperfections de la méthode de prélèvement des tissus [137] et fournir une quantification 3D précise des phénomènes d'activation cérébrale [53]. Cette dernière méthode permet un recalage, tant anatomique que fonctionnel, des données contenues dans les coupes.

La microscopie *in situ*, quant à elle, dérive des techniques classiques sur lames de verre. Ces techniques ont ensuite été adaptées pour permettre d'observer avec les mêmes caractéristiques

de résolution et de détection, des phénomènes au niveau de l'animal vivant. Le développement des sondes endoscopiques a permis cette adaptation pour des organes internes avec une invasivité limitée, compatible avec des études sur l'animal (Fig. 1.2-B et C). L'intégration dans les sondes endoscopiques d'outils de microscopie fournit une possibilité d'accéder à différents organes avec une résolution micrométrique et des capacités de « biopsie virtuelle » proche de l'histologie [86]. Dans le but d'augmenter le champ de vue de ces techniques, des méthodes de reconstruction à partir de mosaïques d'images ont été mises au point [188]. Elles permettent d'associer, au cours d'une vidéo endoscopique, les différentes images pour constituer une image correspondant au champ de vue balayé par le microscope lors de l'acquisition vidéo (Fig. 1.2-C).

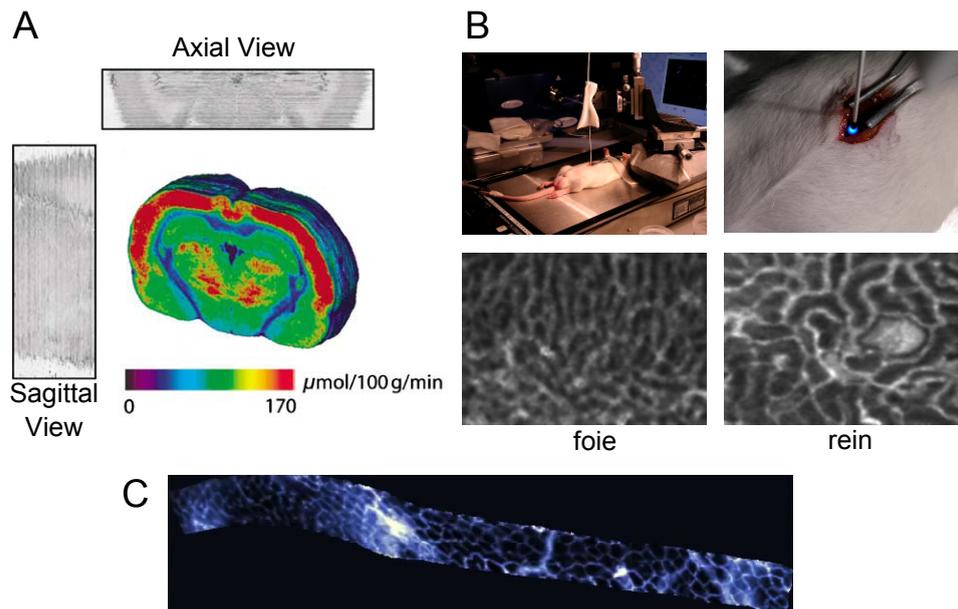


FIGURE 1.2 – Autoradiographie et microscopie *in situ* sur petit animal. (A) Reconstruction 3D du taux de glucose dans le cerveau d'un rat à partir de données d'autoradiographie non alignées, illustrées par les coupes histologiques sagittales et axiales (reproduction à partir de [53]). (B) Microscopie confocale endoscopique chez le rat pour l'étude la microcirculation par injection d'albumine FITC dans le foie et le rein (Raphaël Boisgard, CEA, Orsay). (C) Mosaïques d'images reconstruites à partir d'une vidéo endoscopiques (300 trames alignées) [188].

1.2.2 Radiologie et scanner

La micro-tomographie par rayons X assistée par ordinateur (microCT ou μCT pour Computerized Tomography) est basée sur l'interaction de ce rayonnement ionisant avec les tissus. Chaque tissu a un coefficient d'absorption propre qui dépend de sa densité et de l'énergie du faisceau le traversant (habituellement de l'ordre de quelques keV à quelques MeV). Découvert en 1895 par W. Röntgen, ce phénomène est à la base de la formation des premières images radiographiques. Le contraste de ces images provient alors des variations spatiales de ce coefficient linéique d'absorption et varie fortement entre les structures anatomiques. Historiquement, les matériaux peu absorbants apparaissent en noir tandis que les zones de forte absorption sont blanches sur l'image (respectivement tissus mous et os).

Les premières reconstructions de coupes axiales tridimensionnelles furent développées en 1971 par A. Cormak et G. Hounsfield pour fournir une information volumique du sujet. Le principe de cette reconstruction, basée sur la transformée de Radon, réside dans la rétroprojection d'images filtrées obtenues par rotation du scanner (source X et détecteur) autour de l'objet à imager. Les premiers μ CT développés à la fin des années 90 [144] ont été construits dans le but de fournir une information anatomique sur des populations de souris génétiquement modifiées. Des méthodes de reconstruction adaptées à la tomographie sur l'animal à haute résolution ont été développées plus tardivement [89]. En effet, la petite taille des structures à étudier nécessite une résolution spatiale très supérieure à l'imagerie clinique. Actuellement la résolution spatiale des micro scanners est isotropique et descend jusqu'à $5\mu\text{m}$ avec des durées d'acquisitions entre 1 et 30 minutes [151]. Dans le but d'optimiser le contraste, on va exposer l'animal à un rayonnement ionisant plus important qu'en clinique, de l'ordre de 10 keV à 50 keV.

En imagerie préclinique, les μ CT sont utilisés pour l'analyse des structures osseuses dans le cadre d'études sur des pathologies telles que l'ostéoporose [195] ou encore pour la détection de métastases osseuses (Fig. 1.3). Cette technique trouve aussi de nombreuses applications *in vivo* en oncologie, notamment en imagerie pulmonaire [47]. L'ajout d'un produit de contraste à base d'iode [150] permet de renforcer le contraste des tissus mous dans le but de mesurer et d'extraire des informations des tissus mous [124].

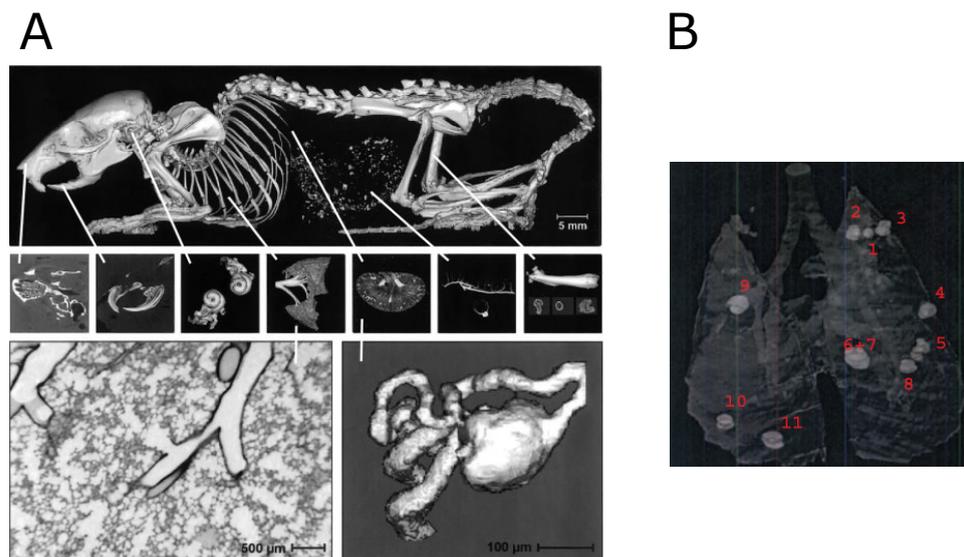


FIGURE 1.3 – Imagerie CT : Exemples de reconstructions tri-dimensionnelles à partir d'acquisitions CT chez le petit animal. (A-haut) reconstruction volumique du squelette d'une souris avec une résolution de $20\mu\text{m}$; (A-milieu) différentes reconstructions de tissus mous chez la souris ; (A-bas) sous structures fonctionnelles des organes précédents avec des résolutions spatiales plus fines (reproduit à partir de [150]). (B) Reconstruction 3D des poumons d'une souris avec en semi-transparence des tumeurs détectées (reproduit à partir de [47]).

L'accès aux données des tissus mous permet en outre des reconstructions tridimensionnelles des organes du petit animal ou bien, par exemple, de l'architecture vasculaire [88]. Cette reconstruction, semi-automatique, de l'arbre vasculaire permet d'accéder à des informations fonctionnelles particulièrement pertinentes pour la caractérisation de la viabilité des vaisseaux

sanguins (Fig. 1.4). On a dans ce cas un exemple de l'apport indéniable des méthodes de traitements d'images au diagnostic de maladies, ici cardio-vasculaires. Ces informations complètent alors les informations anatomiques fournies par cette modalité et stockées sous formes d'atlas.

C'est en effet souvent à partir d'acquisitions CT que les atlas sont créés [51]. Cette technique s'est beaucoup développée justement car elle permet d'analyser et de caractériser à moindre coût et en des temps assez rapides le phénotype des animaux de laboratoires. Les atlas regroupant des collections de phénotypes liés à des modèles génétiques (sains ou pathologiques) sont une alternative intéressante à la dissection d'animaux et contribuent à rationaliser le développement et l'analyse de modèles animaux [143]. De plus la dose apportée par les rayons X peuvent perturber l'organisme.

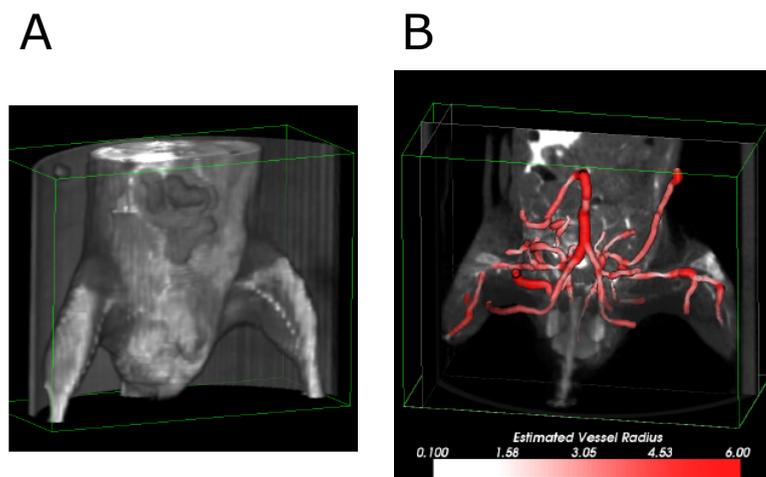


FIGURE 1.4 – Caractérisation automatique du réseau vasculaire chez la souris à partir d'acquisitions CT. (A) Reconstruction volumique des structures de la partie basse d'une souris. (B) Reconstruction du réseau vasculaire issu de l'aorte. Les couleurs représentent le diamètre estimé des vaisseaux (reproduit à partir de [88]).

1.2.3 Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

Une autre modalité d'imagerie permet d'obtenir des informations anatomiques avec une très haute résolution spatiale tout en fournissant une quantification physique intrinsèquement tridimensionnelle. Dans le cas de l'imagerie sur petit animal, on peut quasiment parler de microscopie par résonance magnétique car il est possible d'atteindre des résolutions volumiques de $50\ \mu\text{m}$ par $50\ \mu\text{m}$ par $500\ \mu\text{m}$ qui sont 10000 fois plus petites que chez l'homme.

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est une technique atraumatique reposant sur le phénomène de la résonance magnétique nucléaire (RMN). Le principe de la RMN² repose sur la détection de signaux issus des propriétés magnétiques des noyaux de spin non nuls. Majoritairement présent dans l'organisme (constitué à 2/3 d'eau) l'atome d'hydrogène, composé d'un seul proton, va être le principal vecteur d'informations sur les propriétés magnétiques des tissus. D'autres noyaux particuliers (^3He , ^{31}P , ^{13}C) ont été utilisés pour visualiser par exemple les volumes creux comme le poumon avec des gaz d'hélium polarisé.

2. décrit par E. Purcell et F. Bloch dès 1946

La RMN utilisée par l'IRM consiste à étudier les modifications d'aimantations des noyaux d'hydrogène sous l'action conjointe d'un champ magnétique statique (notée B_0) et d'une impulsion radiofréquence perpendiculaire à B_0 (notée B_1). L'application du champ B_0 à un groupe de protons va créer un équilibre magnétique caractérisé par un mouvement de précession autour de B_0 et, à l'échelle macroscopique, par un vecteur d'aimantation macroscopique. L'excitation engendrée par l'onde électromagnétique B_1 va perturber l'orientation des noyaux et conférer au système une composante transversale. Lors du retour du noyau à l'état initial, dès la fin de l'impulsion, la composante transversale va diminuer rapidement (relaxation en T_1) tandis que la composante longitudinale va repousser de façon plus progressive (relaxation en T_2). Ce retour à l'équilibre va générer un signal radiofréquence qui sera réceptionné sur une antenne, située près de l'échantillon, et fournira alors les propriétés magnétiques du tissu aimanté et de son milieu.

La solution proposée pour localiser tridimensionnellement le signal ainsi enregistré, et de passer de la RMN à une coupe volumique IRM, est basée sur une modulation du signal d'excitation. On va ainsi réaliser un encodage spatial des spins par l'application d'un champ magnétique à gradient linéaire en parallèle de B_0 . La fréquence de résonance des spins et donc leur mouvement de précession dépendra alors de leur position dans ce gradient. On obtient alors un profil d'intensité qui peut être généralisé sur les trois dimensions moyennant l'ajout d'un décalage de la phase. On accède classiquement aux distributions spatiales de l'aimantation par des reconstructions basées sur la transformation de Fourier. L'ensemble des voxels³ ainsi reconstitués formera une image numérique par construction tridimensionnelle. Les coupes virtuelles ainsi reconstruites offrent un meilleur contraste pour les tissus mous qu'en tomodensitométrie X.

Les constantes T_1 et T_2 sont spécifiques des tissus et permettent donc de moduler les intensités en fonction des paramètres d'acquisition pour faire varier les contrastes entre des structures anatomiques différentes adjacentes (matière grise et matière blanche par exemple). Les paramètres de pondération entre ces deux signaux et la densité de protons permettent d'affiner le contraste en fonction des structures que l'on souhaite observer. En simplifiant, il est possible d'obtenir une meilleure résolution spatiale (entre 20 et 50 μm en imagerie du petit animal) avec des séquences pondérées en T_1 dans lesquelles les structures à T_1 longs (l'eau par exemple) apparaissant en noir sur l'image. La multitude des séquences et leurs combinaisons permettent d'optimiser la visualisation d'organes spécifiques ou bien d'accéder à des propriétés physiques du milieu étudié (diffusion de l'eau le long de fibres, élasticité des tissus).

Comme chez l'homme, l'IRM sur petit animal trouve de nombreuses applications, notamment pour l'étude des pathologies cardiaques, ostéo-articulaires et neurologiques. Au vue de la taille des animaux utilisés, l'imagerie IRM corps entier a sa place en routine préclinique. Dans le domaine de la neurologie, l'IRM fonctionnelle (IRM_f) largement utilisée chez l'homme commence à devenir une voie pertinente d'exploration de phénomène neurologique chez le petit animal. L'effet BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent) permet par exemple de visualiser l'activation des zones du cerveau en rendant compte des variations locales d'oxygénation sanguine [185] ou bien d'étudier la plasticité du cerveau chez le petit animal [212]. Ces études doivent alors être réalisées sous anesthésie légère chez le petit animal.

L'utilisation de l'imagerie IRM en préclinique est cependant limitée de par sa faible résolution temporelle. En effet, pour atteindre une très haute résolution spatiale avec un faible RSB

3. Un voxel est un volume élémentaire de l'échantillon par extension du terme de pixel en 2 dimensions

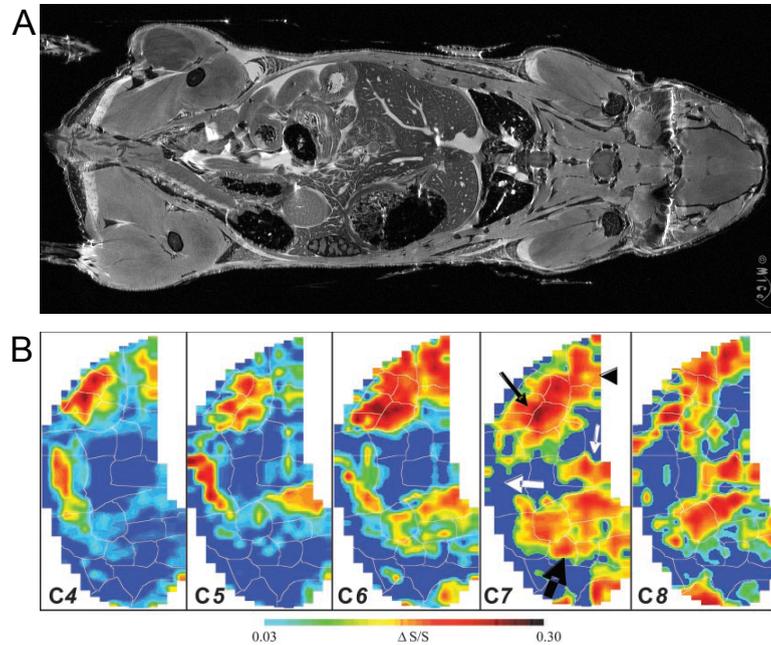


FIGURE 1.5 – Exemples d’images IRM. (A) Coupe d’une acquisition IRM corps entier d’une souris (Reproduit du site web du Mice Imaging Center de Toronto). (B) Images IRM_f de la réponse de la couche glomérulaire (structure du bulbe olfactif) à différentes chaînes carbonées (C4 à C8). Le signal BOLD augmente avec la taille de la chaîne carbonée qui stimule le cerveau de l’animal (Reproduit à partir de [207]).

(ratio signal sur bruit), les acquisitions doivent s’effectuer sur de relativement longues durées. De plus, la sensibilité est dépendante de l’intensité de B_0 et de son homogénéité. L’imagerie IRM à haut champ, supérieur à 10 T, est en cours de développement pour pallier ces faiblesses et améliorer la résolution spatiale qui est critique en imagerie sur le petit animal. Une autre voie d’amélioration du contraste est liée à l’injection de molécules exogènes qui par leurs propriétés magnétiques vont modifier les temps de relaxation des tissus dans lesquels ils vont se fixer (principalement T_2). Issues de la famille des terres rares (gadolinium) ou bien des oxydes de fers (SPIO ou USPIO), ces nano-particules peuvent aussi être utilisées comme marqueurs en imagerie moléculaire [82]. Ces produits de contraste peuvent par exemple être employés dans le suivi longitudinal de la dégradation des tissus du nerf optique [179].

Pour faciliter et s’affranchir du biais phénotypique, dans le suivi des pathologies cardiaques ou cérébrales [131] et de la dégradation du nerf optique [135], il est envisageable d’utiliser des outils automatiques de segmentation et d’analyse. Ces outils sont actuellement indispensables aux biologistes pour traiter le flux de données de l’imagerie IRM. On peut aussi citer les travaux réalisés sur la segmentation automatique du cœur (Fig. 1.6) dans le but de quantifier les volumes cardiaques [161]. Des atlas contenant les paramètres de variabilité des structures ont en outre été construits pour permettre une meilleure prise en compte du phénotype de l’animal dans les études précliniques [103]. À partir de ces outils de segmentation automatique et d’atlas, il a été développé des algorithmes de recalage 3D de structures anatomiques pour permettre un suivi quantitatif du signal biologique. Ces méthodes appliquées au suivi de modèles animaux des maladies d’Alzheimer [55] ou bien d’Huntington [214] permettent d’étudier spatio-

temporellement le phénomène biologique sur des groupes de souris de façon automatique. Ces outils de traitement d'images ont donc un impact significatif sur la quantification de phénomènes biologiques dans le cadre d'études précliniques IRM.

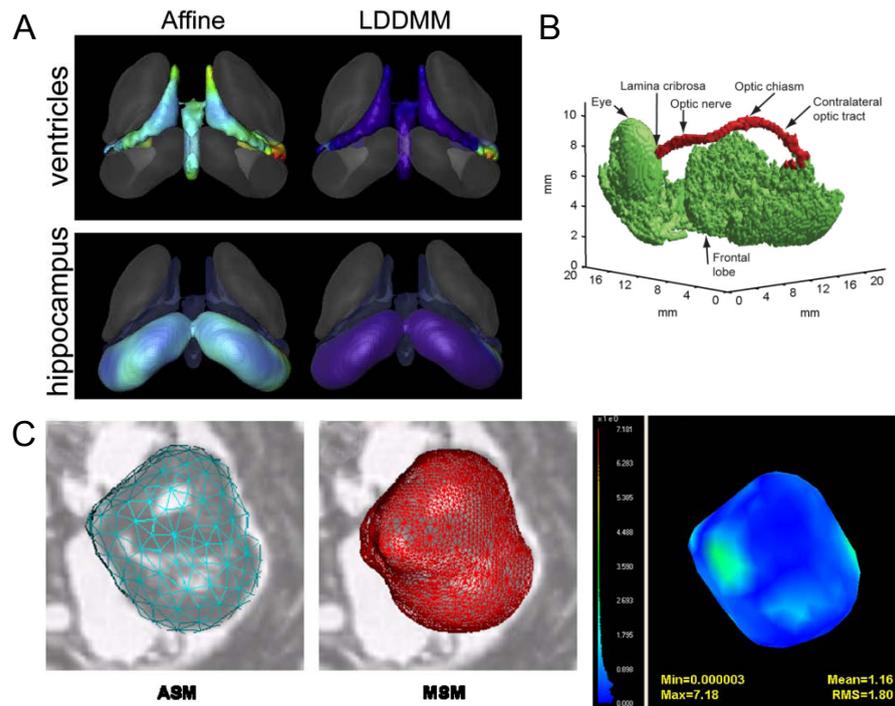


FIGURE 1.6 – Exemples d'analyse automatique d'images IRM. (A) Recalage d'images IRM de différentes parties du cerveau d'une souris sur un atlas (modèle de déformation affine ou non-rigide) [214]. (B) Segmentation automatique du nerf optique, de l'œil et du lobe frontal à partir d'images IRM avec ajout d'un produit de contraste [135]. (C) Segmentation du cœur à partir d'une acquisition IRM de fœtus de souris. Comparaison entre segmentation automatique et manuelle (calcul d'une carte 3D de distance entre les deux) [224].

1.2.4 Imagerie radio-isotopique

L'imagerie radio-isotopique est une pratique de routine en imagerie préclinique de par sa capacité à localiser des molécules biologiques et à mesurer leurs concentrations ainsi que leur cinétique. Basée sur l'interaction ciblée avec les molécules du vivant et la détection externe de faibles quantités de radionucléides dans les tissus (de l'ordre de la femtomole), cette technique offre une information fonctionnelle à l'échelle moléculaire [157].

Des différents types de radioactivité (α , β , γ) seuls les photons γ , d'énergie au delà de 10 keV, traversent suffisamment la matière pour l'imagerie *in vivo*. Généralement introduits par voie intraveineuse ou orale, les isotopes radioactifs couplés à des molécules spécifiques⁴ vont être mesurés via la détection externe de leur désintégration [60]. On va alors pouvoir suivre leur biodistribution avec trois techniques différentes : l'imagerie scintigraphique planaire, la tomo-

4. ils forment ainsi un radiotracteur

graphie par émission mono-photonique (TEMP ou SPECT en anglais) et enfin la tomographie par émission de positons (TEP ou PET en anglais).

Scintigraphie et tomographie par émission mono-photonique (TEMP)

La scintigraphie et la SPECT vont utiliser les mêmes principes de détection fondés sur les γ -camera et les mêmes isotopes émetteurs de photons γ que sont le ^{99m}Tc , ^{111}In et les isotopes de l'iode (^{123}I , ^{125}I , ^{131}I). Les γ -camera fonctionnent sur la combinaison :

- d'un collimateur (matériau dense percé de trous) permettant de filtrer la direction des photons γ provenant des tissus observés,
- d'un scintillateur qui permet la conversion des photons γ en photons visibles (d'énergie quelques eV),
- d'un photodétecteur qui va transformer les photons recueillis en électrons et les transférer au capteur.

À partir de cette projection de la radioactivité répartie dans le sujet, la scintigraphie permet une analyse simple et rapide du sujet sans toutefois fournir une information directe sur la profondeur. Dans le cadre de l'imagerie sur petit animal, une solution simple pour accéder à une localisation tridimensionnelle de l'activité consiste à modifier l'angle de projection par rotation de l'animal devant la caméra ou l'inverse. À partir de l'ensemble des projections, il est possible par reconstruction de quantifier la distribution volumique du radiotracer avec une sensibilité correcte [30]. L'imagerie SPECT fournit alors des images d'une résolution qui peut descendre jusqu'à 500 μm [61, 117], utilisable en imagerie cérébrale [166].

Tomographie par émission de positons (TEP)

La TEP est associée à la désintégration d'isotopes radioactifs β^+ . À certains niveaux d'énergies les noyaux émettent en se désintégrant des électrons chargés positivement appelés positons. Ces positons perdent progressivement leur énergie cinétique et s'annihilent avec un électron. L'annihilation de cette paire positon-électron engendre la création simultanée de deux photons γ d'énergie 511 keV ayant des directions opposées. Ces photons sont détectés en coïncidence par une couronne de détecteurs entourant le patient ou le petit animal. De larges progrès instrumentaux sur les détecteurs et l'absence d'éléments de collimation confèrent à la TEP une très grande sensibilité de $10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ à $10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$. En outre, la résolution spatiale obtenue avec des appareils dédiés à l'imagerie TEP sur petit animal est de l'ordre de 1 mm.

Les principaux isotopes utilisés pour générer ces photons γ sont principalement ceux du carbone (^{11}C), de l'oxygène (^{15}O), de l'azote (^{13}N) et du fluor (^{18}F). La construction d'une molécule spécifique d'une cible biologique associée à son marquage⁵ est généralement réalisée par substitution ou ajout à la molécule initiale d'un des isotopes précédents. Ces molécules, aussi appelées traceurs radio-chimiques, ont des applications biologiques tant en imagerie neurologique [92] ou tumorale [2] que cardio-vasculaire [105].

Par exemple, en couplant le ^{18}F à un analogue du glucose, on obtient un traceur, le ^{18}F Fluoro-2-déoxy-D-glucose (FDG) qui permet l'étude du métabolisme glucidique. Ce traceur radiomarké suivra alors le même chemin métabolique que le glucose jusqu'à son accumulation dans les cellules où il ne sera pas dégradé. Il permet ainsi de localiser et de quantifier la consommation

5. On a alors construit une sonde qui pourra cibler spécifiquement le phénomène biologique souhaité.

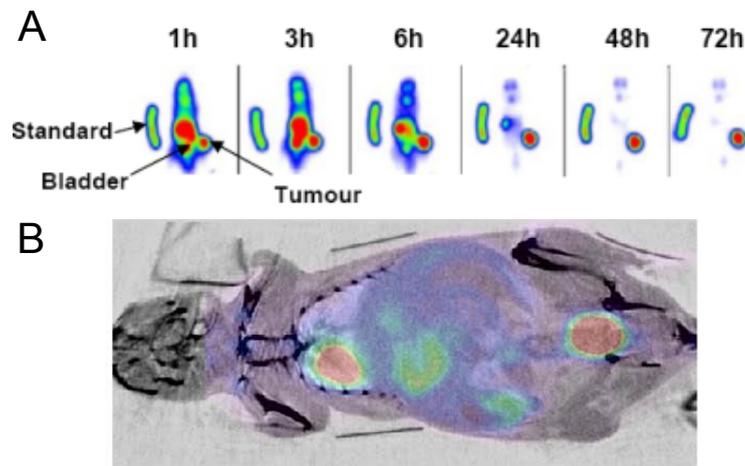


FIGURE 1.7 – Imagerie TEP et scintigraphie planaire. (A) Visualisation par scintigraphie planaire de cellules tumorales B16 par ^{125}I -UMR12 (J.M. Chezal, UMR 484, Clermont-Ferrand). (B) 18-FDG observée par TEP chez la souris et couplée à une image CT (Raphaël Boisgard, CEA, Orsay).

de glucose et donc les phénomènes de consommation d'énergie au niveau des cellules. Cette accumulation du traceur peut alors être corrélée à une activité dans des zones cérébrales ou bien à un développement typique des cellules tumorales. Il est donc possible de détecter des tumeurs de quelques mm (10^5 à 10^8 cellules) grâce à la sensibilité des techniques d'imagerie nucléaire et de la spécificité des molécules utilisées [59]. C'est pourquoi, l'étude du système nerveux central, l'angiogénèse tumorale [29] et l'évaluation de traitements sont des champs d'applications très développés en imagerie PET [163].

Les techniques de reconstruction et de traitement d'images ont une grande importance dans le domaine d'imagerie nucléaire 3D. En effet, comme énoncé plus haut, les techniques SPECT et PET ne permettent que de recueillir des données projetées sur un ou des détecteurs. Elles nécessitent donc une étape de reconstruction basée sur des méthodes analytiques (rétroprojection filtrée) ou bien des méthodes statistiques [87, 184] de type algorithme de maximum de vraisemblance (OSEM). Des travaux ont été effectués pour permettre d'obtenir des résolutions spatiale et temporelle compatibles avec l'imagerie sur petit animal tout en conservant une grande sensibilité. En outre pour effectuer cette reconstruction, il peut être intéressant d'avoir un certain à priori sur la reconstruction [54]. La fusion avec des atlas est aussi une voie intéressante pour estimer automatiquement par exemple les volumes d'intérêt [11]. La fusion avec d'autres modalités, μCT , peut permettre de fournir, quant à elle, des informations sur l'atténuation dans les tissus des photons émis [113].

1.2.5 Échographie

L'imagerie échographique préclinique est une technique d'imagerie *in vivo* à fort potentiel et dont le champ d'application est en pleine expansion. En effet, c'est une technique d'analyse en temps réel, économique, portable, d'une haute résolution spatiale et ne faisant appel à aucun rayonnement ionisant. On peut ainsi observer facilement les organes internes (à l'exception du

cerveau, des poumons et du squelette) et l'intégralité d'un fœtus murin par exemple (Fig. 1.8 A et B) [4]. Les premières études ont été classiquement menées sur le cœur [112].

Cette modalité repose sur la propagation des ondes ultrasonores de fréquences entre 20 et 80 MHz au sein des tissus biologiques. L'image formée par l'analyse des échos ultrasonores permet la mesure de l'impédance acoustique des milieux traversés. Le faisceau d'ondes ultrasonores est généralement généré par une sonde piézo-électrique ou de polymères (appelé transducteur) et est renvoyé en partie par les interfaces acoustiques vers le transducteur dans son mode récepteur. L'analyse des échos ultrasonores réfléchis permet alors la visualisation de la morphologie des tissus observés avec une résolution de quelques μm . En effectuant un balayage de la zone avec un capteur intégrant plusieurs lignes de transducteurs on peut observer un volume intéressant de tissus avec cette technique.

L'acquisition d'une image s'effectue en balayant un plan de ce volume dont la dimension axiale (la profondeur) dépend de la fréquence du faisceau incident. On obtient alors une résolution de 30 μm à 120 μm en profondeur tandis que la vitesse de balayage limite la résolution du champ de vue à 50 μm à 200 μm dans le cas des fréquences utilisées chez le petit animal. La géométrie de détection du transducteur détermine aussi le temps d'acquisition d'une trame ce qui permet aujourd'hui d'acquérir jusqu'à des centaines de trames par seconde [38]. Cette résolution temporelle rend compatible l'imagerie ultrasonore avec les échelles temporelles des phénomènes moléculaires ainsi que la mesure des caractéristiques de l'écoulement sanguin via l'effet Doppler.

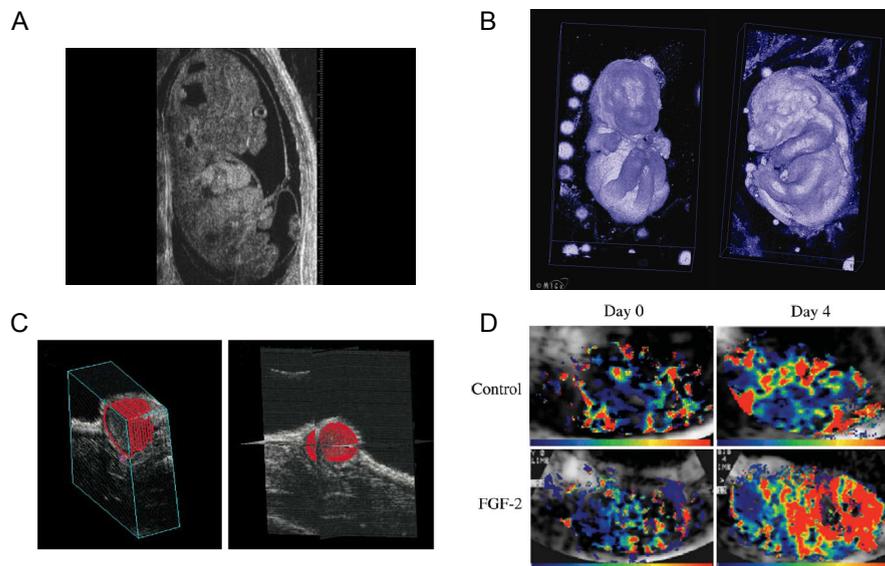


FIGURE 1.8 – Images échographiques *in vivo*. (A) Acquisition d'une section longitudinale d'un embryon de souris (E13.5). (B) Reconstruction 3D d'un embryon de souris (E15.5) (reproduit du site web du Mice Imaging Center de Toronto). (C) Estimation du volume d'une tumeur xenogreffée par échographie 3D [69]. (D) Imagerie de $\alpha_v\beta_3$ -microbulles dans des zones ischémiques sur une souris contrôle et une souris traitée pour stimuler l'angiogénèse [109].

Un enjeu majeur de la recherche en échographie concerne l'analyse tumorale. Elle permet une évaluation précoce du type de réponse du modèle à un traitement (Fig. 1.8-D) surtout en

oncologie. L'échographie, de part son caractère non invasif, permet une étude avec un suivi longitudinal du développement, de la croissance et de la différenciation des tumeurs. De plus, le développement récent des techniques de micro-imagerie haute résolution permet de visualiser et de mesurer des tumeurs dans différents organes avec une grande précision et une sensibilité/spécificité comparable à l'histologie [93]. Le passage à l'échographie 3D permet une plus grande précision dans la mesure de la croissance des tumeurs [201]. Au-delà de la dimension de la tumeur, l'échographie permet d'apprécier sa vascularisation par l'imagerie Doppler ou par l'utilisation d'agent de contraste, évitant une évaluation histologique. On peut alors quantifier précisément l'angiogénèse tumorale via l'ajout de microbulles qui agissent comme produit de contraste. La figure 1.8-D illustre la fusion de ces données avec les données anatomiques fournies par les ondes ultrasonores lors des études d'impact d'une molécule [94, 109]. Les avancées technologiques en imagerie ultrasonore ont permis de mettre en évidence la morphologie des micro-vaisseaux (de l'ordre de $20\ \mu\text{m}$) de la microcirculation tumorale [69].

Ces avancées ont été possibles grâce à la mise en place, en complément des développements instrumentaux, de méthodes d'analyse performantes. Parmi celles-ci on peut citer les méthodes de superrésolution pour augmenter la qualité et la résolution spatiale des images ultrasonores [102]. À partir des images ultrasonores, des méthodes de segmentation automatique du coeur (Fig. 1.9-B et C) permettent de faciliter le travail des biologistes [206, 211]. Malgré le rapport signal à bruit assez faible des acquisitions échographiques, des méthodes de recalage et de suivi du mouvement des parois du coeur ont été mises en œuvre [202].

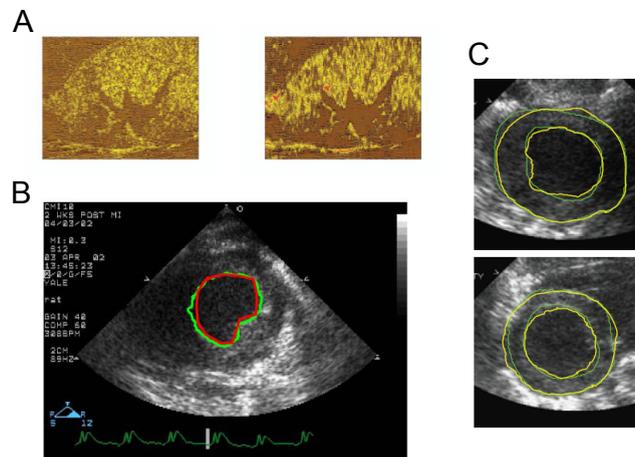


FIGURE 1.9 – Post-traitements sur des acquisitions ultrasonores. (A) Visualisation de la résolution d'un rein d'une souris avec et sans un algorithme de super-résolution (respectivement image de droite et de gauche) [102]. (B) et (C) Comparaison de coeurs segmentés automatiquement sur des images ultrasonores (respectivement [211] et [206]).

1.3 Imagerie optique du petit animal : contexte, intérêts et enjeux

Au sein des techniques d'imagerie moléculaire, les techniques optiques occupent une place importante. Celles-ci en effet couvrent un vaste champ d'application de l'échelle microscopique de la cellule *in vitro* à l'échelle macroscopique de l'imagerie *in vivo* du petit animal. Elles permettent en outre de collecter principalement des informations fonctionnelles quelque soit l'échelle : du marquage cellulaire en microscopie à la détection de tumeurs en fluorescence ou en bioluminescence [200].

Cette modalité a souvent été comparée à l'imagerie nucléaire d'un point de vue simplificateur car les porteurs d'informations sont dans les deux cas des photons qui vont être collectés par une caméra. Cependant, contrairement aux photons très énergétiques (100 à 550 keV) des émetteurs γ , les photons de la gamme visible et proche infrarouge (1.5 à 3 eV) mis en jeu par la détection optique interagissent fortement avec les tissus biologiques et sont partiellement absorbés et largement diffusés. Seule une faible proportion de photons dits balistiques traversent les tissus et permettent une détection directe de leur origine. D'un point de vue physique, cette proportion est liée au très faible libre parcours moyen (inférieure au mm) des photons dans les tissus biologiques. La majorité des techniques d'imagerie optique corps entier chez le petit animal consiste donc en la détection externe de façon indistincte de l'ensemble des photons balistiques et diffusés. Les dispositifs d'imagerie optique ont donc été conçus pour détecter en priorité les photons émis par un marqueur introduit dans l'animal. Ces marqueurs se distinguent selon leur principe d'émission lumineuse qui peut être lié à un phénomène soit de fluorescence soit de bioluminescence (cf. 1.3.1).

En fonction du type de marqueurs utilisés, les techniques d'imagerie autorisent des applications différentes. En effet si le marqueur cible un événement moléculaire lors de son administration à l'animal, la détection de cette sonde permet de localiser le phénomène d'intérêt et de quantifier son activité via l'intensité lumineuse mesurée. D'un autre côté, si l'animal a été modifié génétiquement pour abriter dans son génome un gène codant pour une protéine luminescente, alors celle-ci sera exprimée en fonction de son environnement génétique au niveau cellulaire. La détection du flux lumineux associée permet l'étude de l'expression de ce gène et des mécanismes de régulation.

Les techniques de détection représentent la dernière étape qui influence l'obtention d'une information précise pour l'imagerie optique [66]. Effectivement celles-ci doivent être particulièrement performantes pour permettre d'imager des quantités de lumière très faibles. De nombreuses avancées instrumentales ont donc été menées pour répondre aux différentes contraintes de l'imagerie optique. Nous résumerons rapidement ces avancées pour replacer dans son contexte le matériel utilisé lors de cette thèse.

Cette modalité a pour intérêt une mise en œuvre simple, un caractère non ionisant et un coût relativement faible qui en font une des plus utilisée en routine préclinique actuellement. Les principaux défauts résident dans la difficulté à mesurer la cinétique et dans la complexité du problème de reconstruction tridimensionnelle des sources lumineuses. De plus, les contraintes inhérentes aux protocoles animaux viennent limiter l'interprétation biologique des phénomènes observés.

1.3.1 Mécanisme de luminescence

Des échanges énergétiques à l'origine de la luminescence

La luminescence est le phénomène d'émission spontanée d'un flux lumineux par des éléments de matière, excités par une énergie d'origine non thermique, lors de leur retour à l'état fondamental. L'énergie fournie par des réactions énergétiques d'origines diverses est donc restituée en partie sous forme d'énergie lumineuse dans ces matériaux (dans le cadre de l'imagerie optique on utilisera le terme de molécules). Les transferts d'énergie à la base des émissions de luminescence sont représentés dans le diagramme de Jablonski (Fig. 1.10) à partir duquel nous pouvons décrire les trois principaux phénomènes utilisés en imagerie optique.

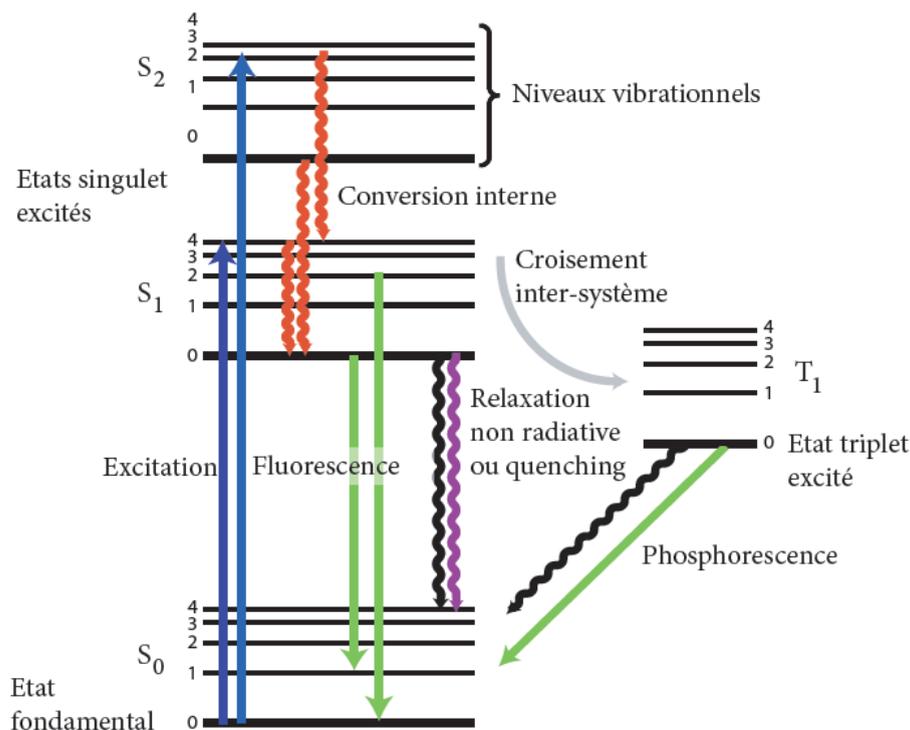


FIGURE 1.10 – Diagramme de Jablonski montrant les différents états et transitions énergétiques impliqués dans les processus d'émission de fluorescence et de phosphorescence [106].

Lorsque l'excitation de la molécule a été produite par une source lumineuse externe, on parle de fluorescence ou de phosphorescence. Dans ces deux cas, une molécule (fluorophore) est excitée par des photons externes, la faisant passer de son état fondamental S_0 à un état instable. Cette absorption de lumière permet donc à la molécule d'atteindre différents états d'excitation (S_1 ou S_2). Le phénomène de relaxation non radiative entre S_2 et S_1 est dépendant de l'environnement de la molécule :

- s'il se produit entre des états de spin de même multiplicité (états singulets), ce phénomène de conversion interne s'effectue très rapidement ($\approx 10^{-11}$ s). Les électrons retournent à l'état initial S_0 en émettant un photon de fluorescence. Cependant, ce phénomène de conversion interne entraîne une perte d'énergie qui réduit l'énergie d'émission de fluores-

cence par rapport à l'énergie d'excitation. Cette perte d'énergie entraîne une augmentation de la longueur d'onde d'émission de fluorescence par rapport à celle d'excitation, connue sous le nom de décalage de Stokes. Les différentes transitions d'énergie possibles vont déterminer le spectre d'émission et d'excitation du fluorophore.

- dans le cas d'un changement de multiplicité, on a alors une possibilité de croisement inter-système amenant la molécule à l'état triplé noté T_1 . Le retour à l'état singulet S_0 s'effectue alors plus lentement avec émission d'un photon de phosphorescence. Cette désexcitation radiative est plus lente (quelques s) que la fluorescence car d'un point de vue quantique cette transition T_1 vers S_0 est interdite.

Lorsque l'énergie qui permet aux molécules d'atteindre l'état excité provient d'une réaction chimique ou enzymatique, on parle respectivement de chimiluminescence et de bioluminescence. Les phénomènes d'émission lumineuse sont identiques à ceux de la fluorescence, seule l'origine de l'énergie d'excitation diffère.

Il existe des formes d'excitation moins courantes (d'un point de vue biologique) telles que la radioluminescence dont l'énergie d'excitation provient d'une radiation ionisante. Ce phénomène a été rencontré lors de cette thèse car nous avons pu utiliser des sources de ^3H enrobées de phosphore qui convertit le rayonnement β en flux lumineux de longueur d'onde verte ou orange dans notre cas. Ces sources d'une taille millimétrique fournissent un moyen simple de simuler une émission de bioluminescence du point de vue du détecteur.

Influence des tissus sur la luminescence

L'intensité lumineuse produite par les phénomènes de luminescence est fortement perturbée par les propriétés optiques des tissus biologiques ce qui influence fortement la qualité du signal détecté en surface de l'animal. Dans les cas de la bioluminescence ou de la phosphorescence, seule l'émission lumineuse du phénomène observé sera perturbée tandis que pour la fluorescence, l'excitation lumineuse aura pour effet de dégrader le flux lumineux à détecter.

Dans tout milieu et plus fortement dans le cas d'un milieu biologique, les photons subissent deux phénomènes que sont l'absorption et la diffusion. L'absorption caractérise la propriété que possède un milieu à diminuer la luminance d'un rayonnement lumineux d'incidence normal. Le milieu est caractérisé par un coefficient d'absorption, noté μ_a , et un coefficient de diffusion variable et dépendant de la longueur d'onde du rayonnement lumineux. De plus, il est nécessaire de tenir compte des phénomènes classiques de réfraction et de réflexion. Dans le cas des tissus biologiques constituant un petit animal, il est possible d'approximer un coefficient moyen d'absorption à partir des constituants moyens : 70% d'eau, 15% de lipides et 6% de sang. Cependant on peut constater sur la Fig 1.11-A que celui-ci varie fortement en fonction de la longueur d'onde et ceci surtout dans la bande de 400 nm à 600 nm où l'atténuation est forte. Il est donc clairement préférable de travailler entre 600 et 900 nm où se dessine une fenêtre optimale d'observation.

La diffusion de la lumière dans les tissus n'est de surcroît pas homogène, et son anisotropie est caractérisée par un facteur d'anisotropie g (Fig. 1.11-C). Ce facteur, associé à l'inverse du libre parcours moyen de diffusion, noté μ_s , définit le coefficient réduit de diffusion μ'_s qui dépend lui aussi de la longueur d'onde du faisceau incident. Ces deux paramètres, μ'_s et μ_a , permettent de caractériser le milieu traversé par le flux lumineux. À partir de ces deux données, on peut modéliser la propagation de la lumière dans les tissus biologiques comme un flux énergétique

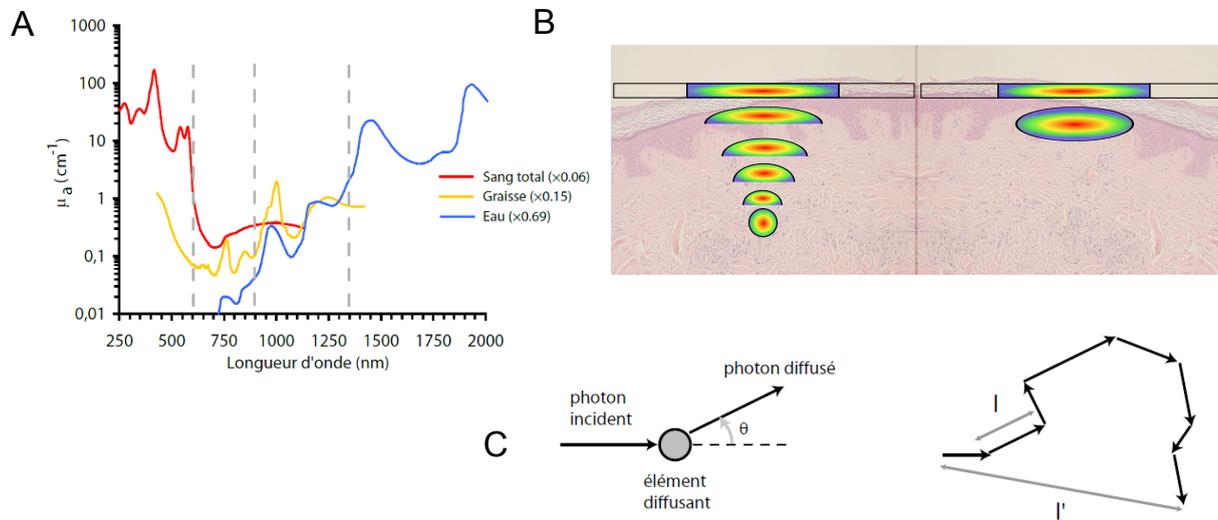


FIGURE 1.11 – Absorption et diffusion dans les tissus : (A) Coefficient d’absorption d’un tissu moyen ; (B) Impact de la diffusion sur la détection externe de la luminescence. (C) Exemple du parcours d’un photon dans un milieu diffusant. l représente la distance moyenne parcourue entre deux événements de diffusion. La distance $l' = \mu_s^{-1}$ correspond à la distance moyenne parcourue entre deux événements de diffusion.

qui traverse un milieu contenant des particules diffusantes et absorbantes (modèle de diffusion de Mie). Elle peut être alors modélisée à l’aide de l’équation de transport de Boltzman ou de certaines de ses approximations [5]. La Fig. 1.11-B montre que dans ce type de milieu, deux sources différentes peuvent générer le même signal au niveau du détecteur.

Nous avons expliqué précédemment que chaque matériau pouvait sous certaines conditions d’excitation émettre un rayonnement de fluorescence. Il se trouve que c’est le cas de plusieurs molécules présentes dans les tissus vivants, par exemple le collagène. Ces molécules vont alors émettre un rayonnement parasite lors de la phase d’excitation des fluorophores. Cette autofluorescence est particulièrement présente pour des rayonnements proches de l’ultraviolet et du bleu. Des algorithmes de soustraction automatique permettent de limiter leur influence dans le cas de faibles signaux (Fig. 1.12). C’est aussi l’une des raisons qui poussent à utiliser des sondes lumineuses ayant une longueur d’onde d’excitation dans la partie rouge du spectre.

Différents vecteurs d’informations en imagerie optique *in vivo*

Différentes sondes et mécanismes sont utilisés pour accéder à une information utile en imagerie optique. A l’instar de l’imagerie nucléaire, il est possible d’administrer par voie externe des marqueurs luminescents qui vont permettre de visualiser *in vivo* des phénomènes biologiques divers. Par contre dans le cas de l’imagerie optique, des constructions génétiques ont aussi été mises en œuvre pour introduire au cœur de la cellule des sondes luminescentes.

Sondes exogènes : Comme on peut le voir dans le tableau 1.1, les différents marqueurs disponibles et en cours de développement ont des propriétés optiques qui vont influencer grandement

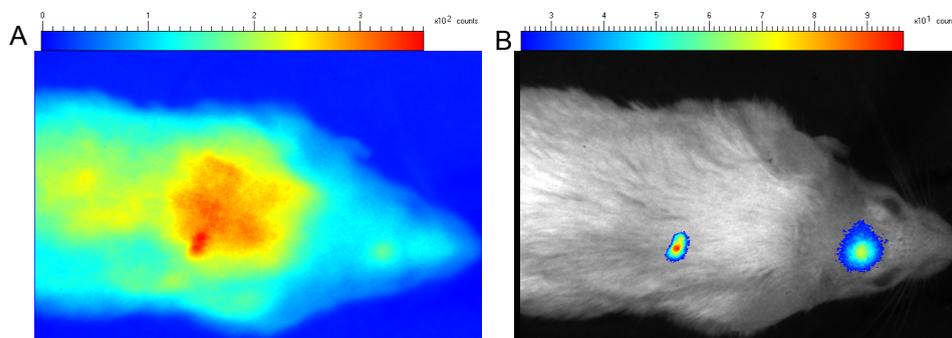


FIGURE 1.12 – Suppression de l'autofluorescence avec une méthode « UnMixing » (M3Vision, Biospace Lab) pour une acquisition de la transfection locale de cellules marquées avec la mCherry (Reproduction avec la permission de Dr Urade, Dr Lazarus et Dr Charasse ; Osaka Bioscience Institute).

leur potentiel en imagerie du petit animal [106]. Les fluorophores organiques sont les plus utilisés actuellement car ils couvrent tous les domaines de longueur d'onde ainsi que d'applications de la fluorescence. Ceci est dû en partie à leur facilité de fonctionnalisation, de manipulation et de développement en vue d'une utilisation optimale dans le proche infrarouge. Les « quantum dots » sont, pour leur part, des matériaux très innovants grâce à leurs propriétés optiques incomparables. Néanmoins leur nature inorganique et leur taille après fonctionnalisation peuvent perturber le phénomène biologique étudié. Ainsi les nanoparticules, bien qu'optiquement prometteuses, restent pour l'instant d'utilisation limitée eu égard aux restrictions de fonctionnalisation. Les travaux actuels portent sur leur fonctionnalisation qui reste pour le moment le facteur limitant. Les nanoparticules développées par *Chermont et al.* [107] ont pu toutefois être utilisées dans les expériences de validation de cette thèse du fait de leur simplicité d'utilisation.

Sondes endogènes : En modifiant génétiquement l'organisme à étudier de façon à introduire dans son génome une construction ADN codant pour une protéine luminescente, on implante alors la sonde au cœur de la cellule. Ce type de construction (Fig. 1.13) permet une co-expression du gène d'intérêt et du gène rapporteur (codant pour la protéine luminescente) qui fournit une approche intéressante pour quantifier des événements cellulaires. En effet la mesure de la lumière émise, soit par fluorescence, soit par bioluminescence en présence d'un substrat extérieur, devient alors une mesure d'expression du gène étudié. Aujourd'hui, les gènes de la GFP (Green Fluorescent Protein) et de la luciférase sont les plus utilisés pour des études *in vivo*. Leurs protéines associées sont devenues des outils indispensables pour explorer les processus biologiques en préclinique. Il est en effet possible de sonder une grande variété de signaux permettant l'étude de la localisation protéique, de la physiologie cellulaire ou des interactions protéiques.

Les principales applications de l'imagerie de fluorescence utilisant un gène rapporteur font intervenir la protéine GFP, qui produit par une réaction autocatalytique un signal lumineux vert (508 nm) sous éclairage ultra-violet ou bleu (Fig. 1.14). Initialement identifié chez la méduse *Aequorea Victoria*, le gène GFP a été cloné et utilisé comme gène rapporteur dans d'autres organismes *in vivo*. Les applications en imagerie *in vivo* de la GFP sont nombreuses et variées :

	Fluorophores Organiques	Quantum Dots (cristaux organiques, nanométrique, à cœur de semi-conducteur)	Nanocristaux à luminescence persistante
<i>Spectre de fonctionnement</i>	$\lambda_A = \text{UV} - \text{IR}$ $\lambda_E = \text{UV} - \text{IR}$	$\lambda_A = \text{UV} - \text{IR}$ $\lambda_E = \text{UV} - \text{IR}$	$\lambda_A = \text{UV}$ $\lambda_E = \text{rouge} - \text{IR}$
δt_E	$\delta t_E \approx 10 \text{ ns}$	$\delta t_E \approx 10 - 100 \text{ ns}$	$\delta t_E \geq$ plusieurs heures
<i>Avantages</i>	Grande disponibilité commerciale ; Facile à manipuler chimiquement et à fonctionnaliser.	Haut rendement quantique ; Faible photo-blanchiment ; Bande d'émission étroite.	Excitation à l'extérieur de l'organisme => faible bruit de fond similaire à la bioluminescence.
<i>Inconvénients</i>	Faible rendement quantique en IR ; Possibles agrégations ; Photo-blanchiment ; Faible décalage de Stokes	Taille après fonctionnalisation > à 10 nm ; Phénomène de « blinking » ; Possible toxicité.	Taille importante (50-100nm) ; Possible toxicité.
<i>Application in vivo sur le petit animal</i>	Large champ d'application via le ciblage : organes, tumeurs, peptides.	Complémentaires des fluorophores organiques ; Oncologie.	Biodistribution <i>in vivo</i> ; fonctionnalisation en cours.
<i>Réf. non exhaustives</i>	[16, 18, 37, 74, 223]	[15, 64, 65, 168]	[107]

λ_A : longueur d'onde d'absorption ; λ_E : longueur d'onde d'excitation.
 δt_E : durée de vie du signal.

TABLE 1.1 – Tableau récapitulatif des principales sondes exogènes en imagerie optique *in vivo*.

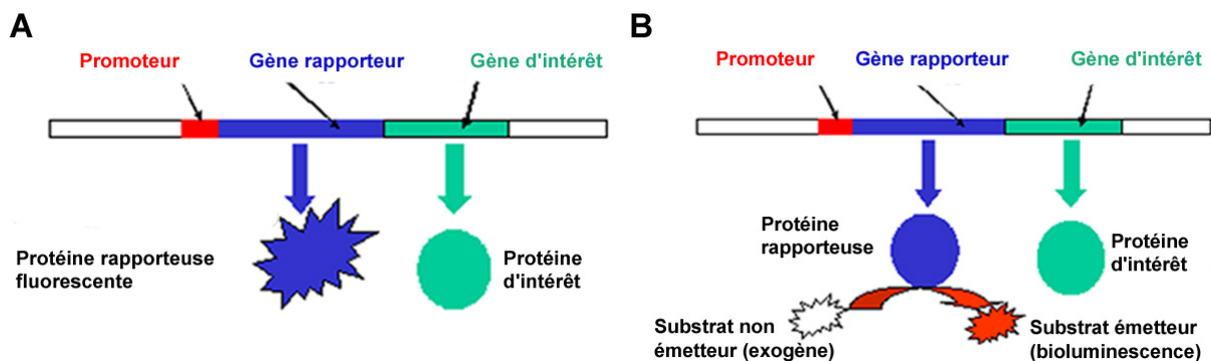


FIGURE 1.13 – Systèmes de gène rapporteur (reproduit de [154]). (A) Le gène d'intérêt est associé à un gène rapporteur fluorescent codant pour la protéine fluorescente. La détection de cette protéine rapporteuse est corrélée à celle de la protéine d'intérêt. (B) Le gène d'intérêt est associé à un rapporteur codant pour une protéine impliquée avec le substrat exogène dans une réaction chimique libérant des photons.

cette protéine peut être utilisée pour le ciblage et l'étude de l'expression des gènes [35] et pour la quantification tumorale [192,210] ainsi que la visualisation *in vivo* des migrations et dynamiques

cellulaires [208]. Dans le but de limiter l'autofluorescence et d'accéder à la fenêtre spectrale optimale de visualisation, des variantes de la GFP ont été développées via la découverte de mutants ou d'homologues émettant dans le rouge profond (Fig. 1.14-A). Toujours dans ce but, des systèmes associant des protéines de bioluminescence et de fluorescence ont permis d'optimiser les propriétés de brillance de ces dernières [203].

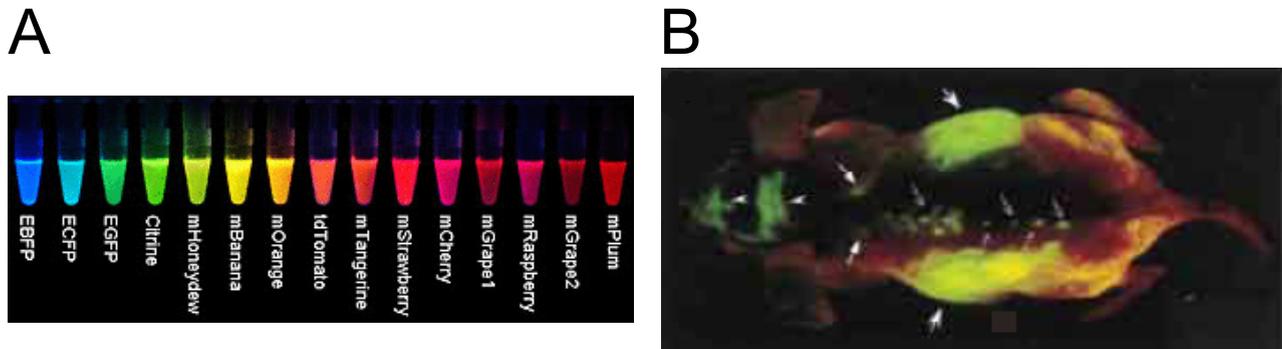


FIGURE 1.14 – Protéines Fluorescentes : (A) différentes protéines fluorescentes d'après Tsien ; (B) Tumeurs GFP implantées chez une souris nue [210].

Contrairement aux protéines de fluorescence, les protéines de bioluminescence ne nécessitent pas d'excitation lumineuse et donc permettent d'obtenir des signaux non entachés d'un signal parasite. L'imagerie optique par bioluminescence représente donc une alternative intéressante à l'imagerie par fluorescence pour le suivi de l'expression ou de la régulation d'un gène [21] et de l'évolution de molécules dans l'organisme [152]. Comme il a été décrit dans 1.3.1, les réactions de bioluminescence nécessitent un mécanisme de chimiluminescence catalysé par une enzyme. Celle-ci est généralement appelée luciférase tandis que le substrat subissant une oxydation est désigné par luciférine. Il est à noter que ce sont des termes génériques car il existe différents couples enzyme/substrat, impliqués dans la réaction, provenant de différents organismes. On trouvera dans [154] plus d'informations sur chacun des couples communément utilisés et leurs propriétés.

La principale utilisation des sondes endogènes, généralement le système luciférine/luciférase, consiste à mesurer le développement de l'expression tumorale. La tumeur est alors générée par la xénogreffe de cellules tumorales génétiquement modifiées pour exprimer la luciférase [169]. À travers la quantité de lumière produite (Fig. 1.15-A), il est possible de visualiser et de quantifier l'évolution d'une tumeur dans le but d'évaluer l'efficacité de traitements médicamenteux de façon longitudinale (sur le même animal). Cependant il est nécessaire de faire ces comparaisons au cours du temps en gardant les conditions les plus similaires possibles [97]. En effet, on peut constater sur la Fig. 1.15-B que la cinétique de l'émission lumineuse suit une courbe d'évolution particulière dont les caractéristiques dépendent du protocole d'imagerie. Il est en outre tout aussi important de considérer cette cinétique pour se placer au maximum d'efficacité du substrat (pic ou plateau) pour obtenir un bon contraste dans les images de bioluminescence (Fig. 1.15-C).

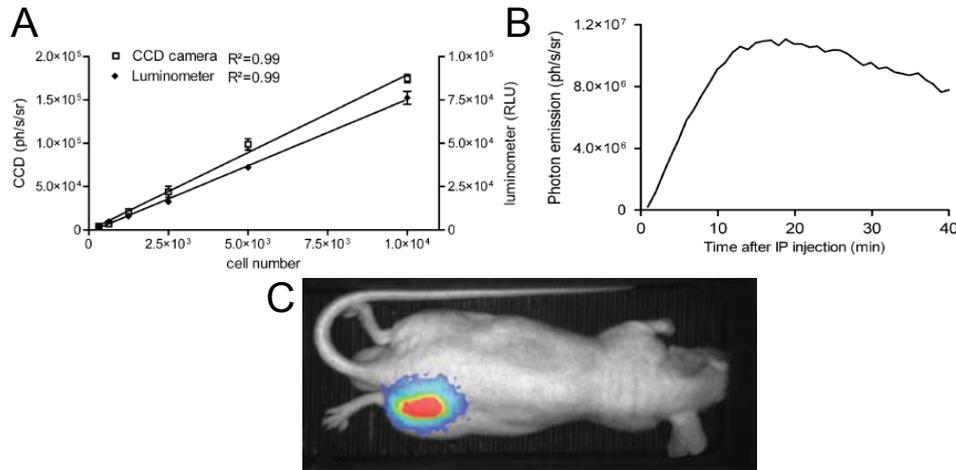


FIGURE 1.15 – Protéine bioluminescente [97] : (A) Corrélation entre le nombre de cellules bioluminescentes et le nombre de photon émis via une mesure avec un luxmètre et une camera CCD. (B) Profil d'intensité lumineuse après une injection IP de luciférase. (C) Acquisition d'une souris à laquelle on a implanté des cellules cancéreuses R1M-fluc après injection de luciférase.

1.3.2 Détection en imagerie optique

Les phénomènes de luminescence, même si pour certains dans leur usage courant sont perceptibles par l'œil humain, sont généralement très faibles dans le cas de l'imagerie optique. Ces flux sont en outre considérablement réduits par les phénomènes dispersifs décrits précédemment. Typiquement la gamme de luminance de la bioluminescence est de 10^3 à 10^6 $\text{photon s}^{-1} \text{cm}^{-1} \text{sr}^{-2}$ ce qui est très faible par rapport à la limite inférieure de détection de l'œil humain : 0.32 mcd m^{-2} [156] soit $1.4 \times 10^8 \text{ photon sr}^{-1} \text{s}^{-1} \text{cm}^{-1}$ à 555 nm où se situe le maximum de sensibilité de l'œil. Cette dernière unité de mesure est communément utilisée dans les articles d'imagerie optique en biologie. Dans le cas de la fluorescence les flux lumineux peuvent être de 3 ordres de grandeur supérieurs. Cependant les longueurs d'onde utilisées tendent davantage vers le rouge, domaine où la sensibilité de l'œil peut chuter d'un facteur 1000.

Ces considérations militent pour l'utilisation de caméras à haute sensibilité car à ces niveaux d'intensité les caméras classiques produisent une image de mauvaise qualité. En outre les systèmes de détection pour l'imagerie optique doivent satisfaire à plusieurs contraintes pour permettre d'accéder de façon précise aux flux lumineux émis par les organismes étudiés. Ces contraintes sont liées au contexte d'acquisition sur le petit animal. En effet, la taille des structures chez les rongeurs impose de travailler avec une haute résolution spatiale. Un autre critère à respecter est lié aux capacités de détection dynamique des systèmes car il n'est pas rare de devoir détecter des signaux lumineux faibles proches de zones intenses. C'est typiquement le cas dans la recherche de métastases et leurs comparaisons avec la tumeur primaire. Enfin les caractéristiques cinétiques sont souvent sacrifiées pour des raisons de recherche de la plus grande sensibilité.

La principale famille de détecteurs utilisée dans l'imagerie optique est basée sur les capteurs

CCD (Charge-Coupled Device)⁶ et se décompose en fonction de la technique utilisée pour augmenter la sensibilité du capteur CCD. Les deux méthodes utilisées pour augmenter la sensibilité des CCD sont :

- l'intégration de charges qui consiste à augmenter la sensibilité du capteur par augmentation du temps d'exposition (CCD refroidis)
- la multiplication d'électrons qui permet d'amplifier la conversion des photons reçus en électrons : ICCD (CCD intensifié), EB-CCD (Electron Bombardment CCD) et EM-CCD (Electron Multiplication CCD).

Les principales caractéristiques de ces différents systèmes de détection sont explicités dans la thèse [154]. Selon le nombre de photons par pixel, les techniques disponibles ont chacune leur plage de prédilection. Cependant, les ICCD avec des caractéristiques comparables fournissent en plus la capacité d'effectuer un comptage de photon en temps réel. Ceci est particulièrement adapté à l'imagerie temps-réel. Plus de détails seront donnés sur ce dispositif dans une sous-partie suivante.

Techniques d'acquisitions en imagerie optique

L'imagerie optique *in vivo* sur petit animal permet actuellement la visualisation externe de signaux lumineux émis par des sondes à l'intérieur de l'animal grâce aux divers systèmes de détection présentés précédemment. Les techniques mises en œuvre par les biologistes se déclinent selon deux modalités : l'imagerie planaire et les méthodes de reconstruction tomographique apparues plus tardivement. Aujourd'hui, ces dernières connaissent un essor important car l'imagerie planaire est insuffisante pour la localisation en profondeur et la quantification précise de la luminescence. Néanmoins, les méthodes d'imagerie planaire restent un standard tant en imagerie de bioluminescence qu'en fluorescence, car elles sont bien maîtrisées et faciles à mettre en œuvre surtout pour des études longitudinales.

Imagerie optique planaire : Le schéma de principe de l'imagerie planaire est vraiment simple. Il s'agit d'une enceinte étanche à la lumière dans laquelle est placée un détecteur collectant alors uniquement la lumière émise par le sujet à étudier. Dans le cas de la fluorescence il faut ajouter un système d'excitation lumineuse et un jeu de filtres placé devant le détecteur. La relative simplicité de ce montage explique le grand nombre de systèmes développés au sein des laboratoires. Dans le cas de la fluorescence, il a en outre permis la construction de deux configurations du couple illuminateur-détecteur : chacun de part et d'autre de l'objet (transillumination) et du même côté de l'objet (épi-illumination). La première configuration permet d'exciter les fluorophores placés dans les tissus les plus éloignés du détecteur fournissant ainsi un meilleur contraste. La seconde permet quant à elle de visualiser les échantillons disposés dans un support opaque, tel qu'une plaque noire à puits. Diverses approches ont aussi été utilisées pour accéder aux informations portées non seulement par l'intensité du flux lumineux

6. Un CCD transforme les photons lumineux qu'il reçoit en paires électron-trou par effet photoélectrique dans le substrat semi-conducteur, puis collecte les électrons dans le puits de potentiel de chaque pixel. Le nombre d'électrons collectés est proportionnel à la quantité de lumière reçue. À la fin de l'exposition, les charges sont transférées de pixel en pixel jusqu'au registre horizontal. Elles sont transformées en tension, proportionnelle au nombre d'électrons, dans la capacité d'une diode, qui sera filtrée à l'extérieur du CCD avant d'être amplifiée et numérisée.

mais aussi ses caractéristiques temporelles [70] et de dynamique dans l'organisme [81]. La figure suivante illustre les images obtenues avec ces deux techniques tandis que la partie 1.3.3 fournit un exemple d'étude en imagerie optique 2D.

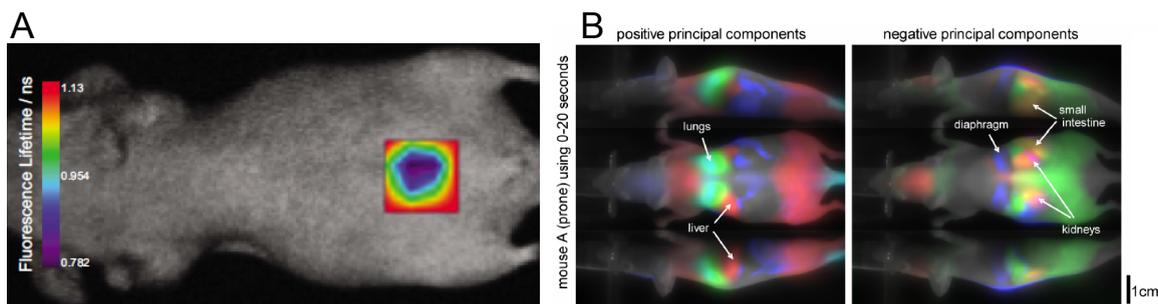


FIGURE 1.16 – Acquisitions optiques planaires : (A) acquisition du temps de décroissance des fluorophores [70] ; (B) Imagerie de fluorescence dynamique. Les organes sont identifiés par leur signature temporelle [81].

Imagerie optique tomographique : Par définition l'imagerie planaire fournit uniquement des données projetées sur le plan de la caméra. Toute modification de l'orientation de la surface émettrice risque alors de modifier dramatiquement la mesure du flux lumineux. C'est pourquoi il est apparu nécessaire de développer des méthodes de localisation et de quantification des sources lumineuses en profondeur. Différentes configurations d'acquisition et méthodes de reconstruction ont été mises en place pour répondre à ce défi. En effet, comme nous l'avons décrit plus haut, les propriétés de la lumière dans les tissus sont défavorables à l'utilisation de méthodes de rétroprojection simple.

Les premières méthodes ont été principalement définies dans le cadre de l'imagerie de fluorescence, où le faisceau lumineux d'excitation va servir de référence, avec des géométries multi-vues et des modèles de propagation des photons. En utilisant des lasers pulsés (impulsions d'une durée de l'ordre de la nanoseconde), il est possible de séparer les photons balistiques [22] et d'accéder aux propriétés optiques des tissus. Le cas de la bioluminescence est plus complexe car aucune information sur les tissus n'est fournie par cette modalité. Il est donc nécessaire de multiplier les projections en combinaison avec un modèle plus affiné de la propagation de la lumière dans les tissus [66].

Système à l'origine de la thèse

Vue globale du système : Les données optiques acquises aux cours de cette thèse ont été obtenues au moyen d'un appareil dédié à l'imagerie *in vivo* du petit animal, permettant d'acquérir des images planaires de bioluminescence ou de fluorescence. Cet appareil a été mis au point par Biospace Lab et est commercialisé depuis 2003. Son originalité repose sur le principe de détection mis en œuvre et les possibilités d'imagerie temps réel qui en découlent.

Grâce à une caméra CCD intensifiée [62] et un objectif de focale 24 mm et d'ouverture comprise entre 1.4 et 22.6, des signaux de bioluminescence et de fluorescence émis par l'échantillon

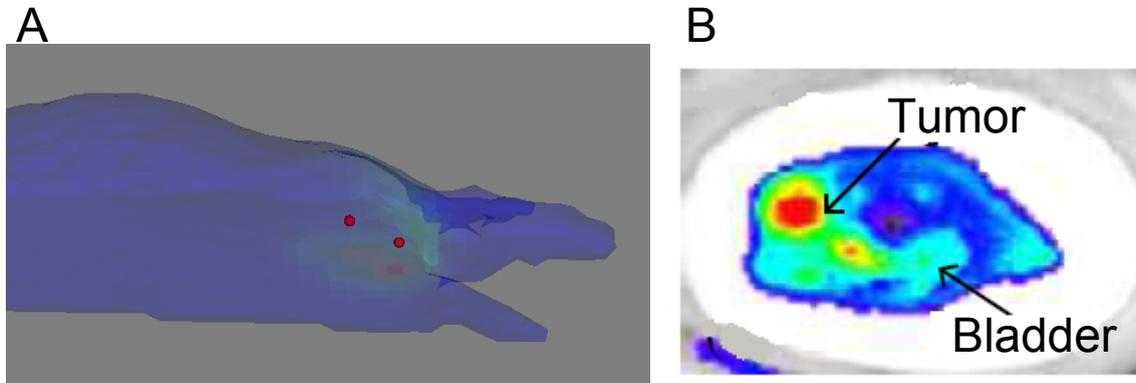


FIGURE 1.17 – Imagerie optique 3D : (A) Reconstruction de deux sources de bioluminescence espacées de 1 cm (Biospace Lab). (B) Coupe d'une reconstruction d'une souris porteuse de cellules tumorales PC3 en fluorescence [111].

situé dans la chambre noire peuvent être enregistrés à une fréquence de 40 Hz. La caméra intensifiée est constituée d'un tube intensificateur de 3^{ème} génération fonctionnant avec un gain compris entre 10^4 et 10^6 selon que l'on acquiert des signaux de bioluminescence ou de fluorescence. La résolution est quant à elle déterminée, in fine, par la matrice CCD (1000×750 pixels). Le tube est refroidi à -30°C afin de diminuer le bruit thermique (< 100 coups par seconde).

L'image photographique de l'animal anesthésié est enregistrée sous éclairage blanc en appliquant au tube un gain beaucoup plus faible. Le champ de vue de $25\text{ cm} \times 18\text{ cm}$ (distance(objectif, plan objet)=450 mm) permet l'acquisition de cinq souris simultanément. La résolution spatiale intrinsèque est de $250\ \mu\text{m}$ à ce niveau de champ de vue. Pour permettre l'imagerie de fluorescence, le dispositif intègre un système d'excitation lumineuse monochromatique et un jeu de filtre passe haut placé à l'entrée de l'objectif pour ne collecter que le rayonnement lumineux émis par le fluorophore considéré.

Caméra à comptage de photons : La caméra ICCD utilisée permet d'amplifier les photons reçus via une première étape de conversion en électrons (Fig. 1.18-A) suivie d'une étape de multiplication électronique dans une galette de micro-canaux (Fig. 1.18-B et C). Le flux électronique ainsi amplifié (d'un facteur proche de 10000) est reconverti en sortie du tube en photons sur un écran électroluminescent face au CCD. Une lentille relais permet ensuite d'effectuer le couplage optique entre ces deux éléments. Grâce à ce type de montage on s'affranchit de l'allongement du temps d'exposition pour permettre un vrai comptage de photon car aucun temps d'attente n'est nécessaire. Ce type de capteur est donc bien adapté à l'imagerie rapide, car le rapport signal sur bruit est meilleur sur de courts temps d'acquisition que les CCD refroidis [62].

Méthode logicielle d'acquisition : Le capteur CCD couplé à l'écran phosphore enregistre pour chaque photon incident converti en électron un spot lumineux qui sera seuillé en intensité pour éliminer le bruit de lecture de la caméra. Chaque spot engendré par les photons arrivant sur le CCD est enregistré sous la forme des coordonnées de son barycentre (calculées en tenant compte des intensités le composant) et filtré selon leur surface. En effet, l'application d'un seuil de surface minimale permet d'éliminer le bruit de la caméra CCD tandis qu'un seuil de

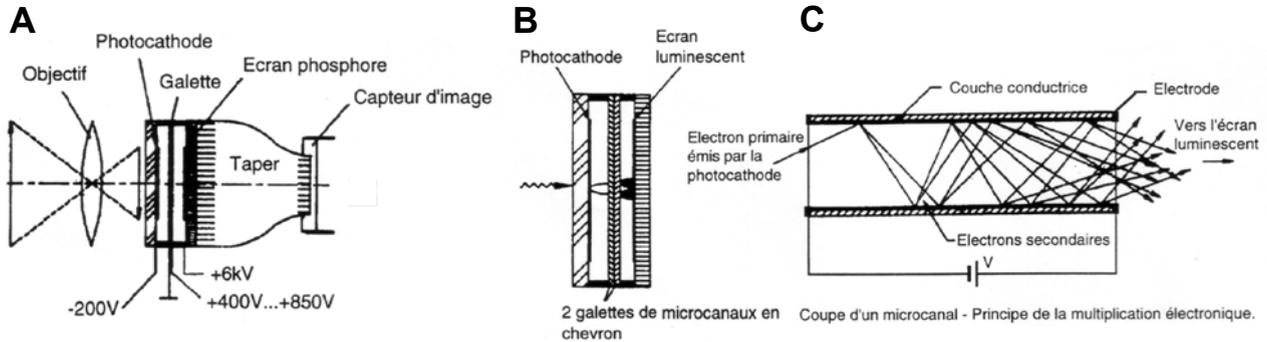


FIGURE 1.18 – Montage d'un tube intensificateur : (A) Schéma général; (B) Détail de la partie intensificateur (photocathode, galette micro-canaux et écran phosphore); (C) Principe de multiplication des électrons dans un canal.

surface maximale permet d'écartier les spots issus de rayons cosmiques. Les évènements restants (aussi appelés coups) sont stockés dans un fichier de comptage regroupant pour chacun leur position, leur intensité et leur instant d'arrivée. Pour mesurer précisément le flux lumineux, plusieurs informations liées au montage optique sont stockées dans l'entête du fichier. Diverses corrections sont en outre appliquées pour quantifier précisément le signal à partir des données du réglage initial du dispositif.

À partir du fichier de comptage il est alors possible de reconstruire le film de cette expérience a posteriori. La résolution temporelle théorique est alors donnée par la fréquence d'acquisition de la caméra, soit 40 Hz. Cependant, il est rarement possible d'obtenir un niveau de signal acceptable par rapport au niveau de bruit sur des trames de 25 ms. On sommera alors plusieurs trames pour augmenter le rapport signal sur bruit (RSB).

Impact de l'intégration temporelle : En modélisant le bruit d'une trame sous la forme d'une distribution de Poisson indépendante du temps, noté σ_i , on peut aisément considérer que les bruits issus de ces trames sommées, s'additionnent pour former un bruit global car ils sont statistiquement indépendants. Celui-ci noté σ_n est fonction de σ_i et du nombre de trames n .

$$\sigma_n = \sqrt{\sum_i^n \sigma_i^2} = \sigma \cdot \sqrt{n} \quad (1.1)$$

Pour cette démonstration on considère pour une trame une source uniforme de signal S . Le RSB total, noté RSB_T , est composé de la somme des signaux et du bruit des trames sommées :

$$RSB_T = \frac{Signaux}{Bruits} = \frac{n \cdot S}{\sigma \cdot \sqrt{n}} = \sqrt{n} \cdot RSB_i \quad (1.2)$$

Le rapport signal sur bruit augmente donc selon la racine du nombre de trames additionnées, assimilable à un temps d'exposition. Il est important de noter que ce temps d'exposition est paramétrable après l'acquisition. De faibles temps d'exposition sont suffisants pour détecter des signaux, car le flux lumineux reçu par le capteur CCD après intensification est conséquent. Ceci présente l'avantage d'autoriser l'étude cinétique d'une acquisition de façon précise et de faire de l'imagerie temps-réel.

1.3.3 Expérience typique de l'imagerie optique

L'imagerie optique *in vivo* planaire prend tout son intérêt dans des études longitudinales, par exemple pour le développement tumoral. C'est pourquoi nous présentons ici une série d'expériences de croissance tumorale réalisées par E. Roncali et N. Benzoubir au SHFJ d'Orsay. Des cellules tumorales de type PC12 exprimant la luciférase ont été implantées de manière sous cutanée et suivies pendant trois semaines. Chaque expérience consiste en l'injection de 300 μL de luciférine par voie intra-péritonéale à la souris et la mesure de la cinétique de l'émission lumineuse sur une période de quelques dizaines de minutes. On peut constater visuellement sur la Fig. 1.19-B que l'augmentation du volume des tumeurs est corrélée à une hausse de l'émission lumineuse sur certaines tumeurs. Il est même possible d'observer des phénomènes de nécroses partielles de la tumeur de droite sur la dernière acquisition grâce à la variation du signal lumineux. Ce genre de constatations est plus aisé à faire qu'en imagerie anatomique où les différents types de tissus sont plus difficiles à distinguer. Les mesures de cinétiques (pas temporel = 1 s) entre les deux tumeurs présentent des profils comparables même si les déplacements dans le pic plaident pour l'utilisation de l'aire sous la courbe qui semble plus représentative (Fig. 1.19-D). En effet on remarque que ces données semblent corrélées de façon quantifiable à l'augmentation du volume tumoral décrite sur les images acquises ainsi que le phénomène de nécrose même si la surface d'émission a légèrement changé.

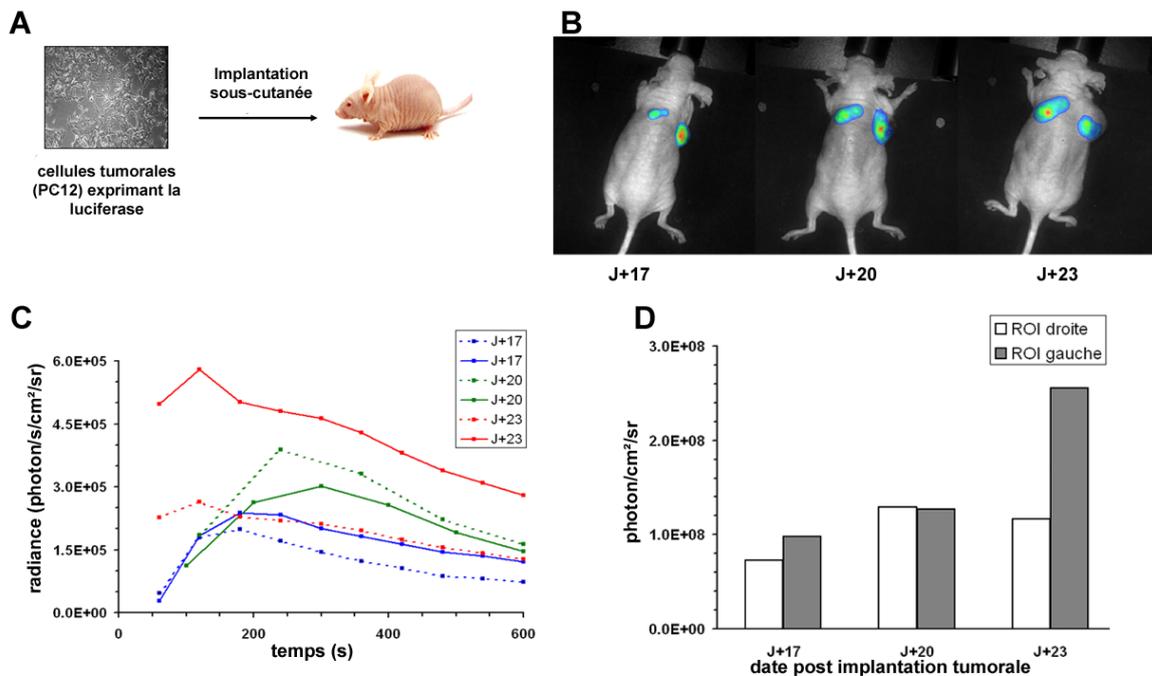


FIGURE 1.19 – Suivi longitudinal en oncologie : (A) Xénogreffe de cellules tumorales marquées chez la souris ; (B) Trois acquisitions BLI d'une même souris respectivement à $J + 17$, $J + 20$, $J + 23$ après implantation ; (C) Cinétiques des ROIs liées aux deux tumeurs de droite et de gauche, respectivement traits plein et pointillés, mesurées aux trois différentes dates ; (D) Évolution du flux lumineux surfacique au cours du suivi (E. Roncali et N. Benzoubir, CEA, Orsay).

Cette expérience nous indique qu'il est possible d'utiliser des mesures du signal lumineux

dans le cadre de l'imagerie de bioluminescence et de façon assez similaire en fluorescence. Néanmoins, on peut constater qu'il est très important de contrôler de façon stricte tous les aspects du protocole car chaque variation (température, anesthésie, orientation de la surface d'émission) peut entraîner des différences importantes dans les mesures. Il semble intéressant par exemple de se placer au plateau du signal pour avoir des mesures significatives. En outre évaluer les cinétiques avec un temps d'intégration entre 200 ms et 1 s semble pertinent du point de vue du *RSB*.

1.3.4 Limitations et potentiel de l'imagerie optique

L'imagerie optique fournit une possibilité d'imager des phénomènes biologiques avec une bonne sensibilité grâce aux détecteurs et marqueurs mis en œuvre. Il est de plus possible de descendre jusqu'à une résolution de 25 ms même s'il faut alors prendre garde à conserver un *RSB* le plus grand possible. Cette résolution temporelle fournit à l'imagerie optique *in vivo* un fort potentiel en imagerie rapide particulièrement en détection de bioluminescence. Ceci est intéressant car jusqu'à présent l'imagerie moléculaire corps entier a été limitée à des échelles temporelles relativement grandes, proposant rarement des résolutions temporelles inférieures à la seconde. Maîtriser la sensibilité et développer les outils d'analyse associés à ce niveau de résolution temporelle peut permettre d'étendre le champ d'application de l'imagerie optique *in vivo* à l'étude des animaux vigiles.

En effet, du fait de sa simplicité de mise en œuvre et sa faible invasivité, l'imagerie optique *in vivo* permet de suivre des phénomènes à l'échelle moléculaire et de visualiser des structures dans des conditions physiologiques proches du contexte naturel. Les études longitudinales sont le premier pas de cette volonté de se rapprocher des conditions optimales. Cependant il n'est que rarement possible de prendre en compte le mouvement dans les études basées sur la modalité optique et de corrélérer le signal détecté à une activité motrice ou de comportement par exemple. Il est à noter, en outre, que la grande majorité des études actuelles sont réalisées sous anesthésie pour précisément limiter et contrôler le mouvement de l'animal et ne pas dégrader la résolution spatiale.

Néanmoins, plusieurs études ont montré que l'anesthésie modifie les conditions physiologiques. Elle peut notamment induire une cytotoxicité des cellules tumorales PC12 dans le cas d'une anesthésie gazeuse par isoflurane [197] ou provoquer des variations du flux sanguin [17] dans le cas de l'imagerie de luminescence. La Fig. 1.20 démontre que l'impact de l'anesthésie sur la fiabilité des mesures optiques peut être très négatif et pénalise les études longitudinales ainsi que la reproductibilité des mesures. Ces nombreuses perturbations éloignent donc les études des conditions de fonctionnement normales de l'organisme.

Malgré les avantages énoncés, l'imagerie optique planaire souffre de plusieurs limitations lorsque l'on souhaite examiner les structures profondes de façon non invasive. La diffusion des photons et l'atténuation dans les tissus entraînent une perte d'information quant à la localisation et la quantification de l'émission de la source. Dans le cas de la fluorescence, divers montages ont été réalisés en utilisant les propriétés des flux lumineux d'excitation et d'émission des fluorophores. De façon similaire aux modalités SPECT et CT, plusieurs de ces montages sont basés sur la collection de projections multiples et des algorithmes de reconstruction délicats à mettre en œuvre. Dans le cas de la bioluminescence les solutions sont plus complexes à mettre en place car il est nécessaire de modéliser précisément sans a priori le comportement

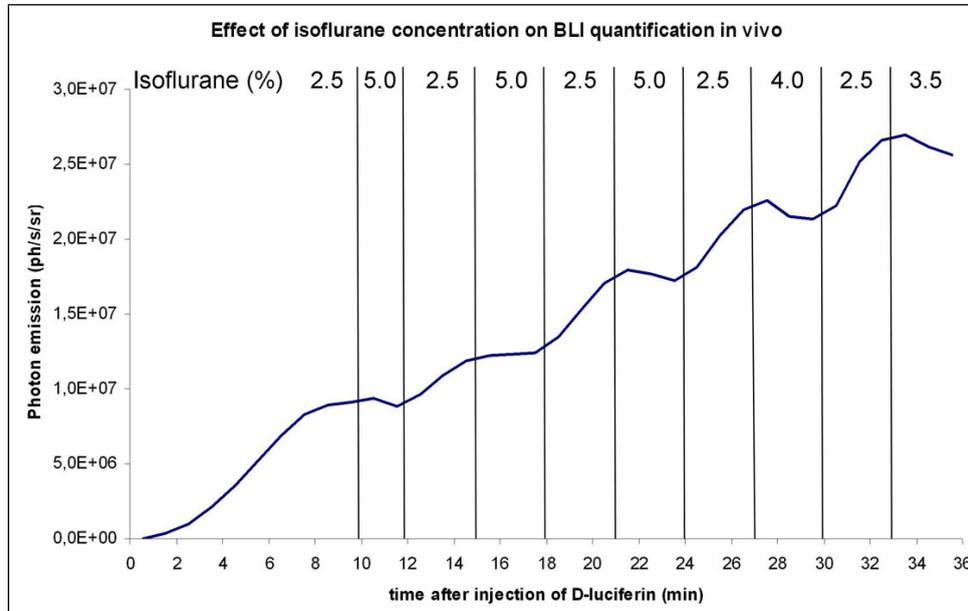


FIGURE 1.20 – Évolution du signal de bioluminescence provenant d’une souris avec une tumeur R1M-Fluc+ sous-cutanée. Le degré d’anesthésie gazeuse varie lui aussi au cours du temps perturbant la quantité de signal lumineux émis par les cellules tumorales [96].

des photons dans les tissus. L’acquisition de la topographie de la souris est alors une étape primordiale. Une dernière difficulté réside dans la contrainte de garder compatibles les systèmes d’acquisitions avec les possibilités d’enregistrement en temps réel et d’analyse précise de l’émission lumineuse en 3D. Il est alors possible d’envisager obtenir une information spatio-temporelle la plus pertinente possible du point de vue des conditions physiologiques.

1.4 Outils d’analyse pour l’imagerie préclinique

Les techniques d’imagerie *in vivo* permettent d’accéder à des phénomènes biologiques dans des conditions physiologiques proches du contexte naturel. Ces techniques fournissent des informations tant à un niveau moléculaire que macroscopique selon leur spécificité. Le caractère faiblement invasif de ces techniques permet d’étudier non plus la seule quantification ou localisation du phénomène mais aussi son évolution temporelle. Les méthodes d’analyse mises en œuvre pour répondre à ces nouveaux besoins de quantification, de reconstruction et de comparaison temporelle définissent un domaine particulièrement dynamique du traitement d’images.

La segmentation des images biomédicales regroupe une collection d’opérateurs mathématiques qui offrent la possibilité d’extraire d’une image ou bien d’un volume une information de position, voire une mesure. La majorité de ces méthodes peut s’effectuer de façon automatique avec une intervention humaine minimale. Les techniques de reconstruction quant à elles sont la base de l’imagerie 3D car elles sont au cœur des dispositifs de détection.

De la précédente présentation des techniques d’imageries *in vivo*, il ressort que, pour profiter des particularités de plusieurs modalités, il faut être capable de les associer. En effet, comme le résume le tableau 1.2, chaque modalité offre des informations anatomiques ou fonctionnelles dif-

férentes. Il est alors tentant de combiner deux systèmes en un seul, classiquement SPECT/CT ou plus récemment PET/IRM pour profiter des synergies entre respectivement une haute résolution spatiale et une haute sensibilité moléculaire [33, 113]. Néanmoins, combiner les avantages entraîne l'apparition de nouvelles contraintes sur la conception de ces systèmes (gestion des interférences entre détecteurs par exemple).

Une autre approche consiste à utiliser les outils de traitements d'images modernes pour combiner les données obtenues à partir de plusieurs acquisitions séquentielles de même modalité ou bien de modalités différentes. Le problème consiste alors à fusionner spatialement les différentes acquisitions pour s'affranchir de créer de nouveaux instruments multi-modalités. L'image composite ainsi formée ne pourra être pertinente si les deux images sont définies dans un repère géométrique commun. Cette condition, nativement remplie par les systèmes multi-modalités, nécessite donc de devoir estimer la transformation spatiale relative permettant de passer d'une image à l'autre. Ce processus de recalage d'images est une des préoccupations principales du traitement d'image biomédicale. En effet, de nombreuses applications nécessitent de comparer des données :

- la fusion d'information : des images de modalités différentes du même modèle animal doivent alors être recalées ;
- la mesure d'évolution : des images de même modalité du même modèle animal, mais acquises à des instants différents, doivent être recalées ;
- la comparaison d'individus d'une population : des images de même modalité, mais d'individus différents, doivent être recalées ;
- la superposition d'atlas : des images de modalités différentes de modèles animaux différents doivent être recalées.

Les outils de recalage sont donc particulièrement intéressants pour augmenter la pertinence des données acquises.

La littérature associée à ces problèmes de recalage est particulièrement dense et donne une représentation de la diversité des solutions proposées pour fournir des méthodes robustes et fiables pour l'imagerie biomédicale. Nous décrirons ces solutions dans la partie 3.2 dans le but de montrer que les outils de recalage sont particulièrement intéressants pour augmenter la pertinence des données acquises. On peut constater qu'en dehors des travaux de reconstructions tridimensionnelles, en imagerie optique, les travaux impliquant un besoin de traitements d'images sont assez rares à notre connaissance. On peut toutefois citer les travaux de *Marias et al.* [122] qui ont proposé un travail de corrections des variations de positions d'une souris lors des études longitudinales en imagerie optique *in vivo*. En outre, *Baiker et al.* [9] ont mis en œuvre des travaux de recalage basés sur des modèles articulés qui intègrent une segmentation d'images μ CT et une estimation de la surface ayant un grand intérêt pour la tomographie optique [99, 215].

Pour que l'imagerie optique temps réel puisse offrir de nouvelles voies de recherche aux utilisateurs, l'élaboration et l'application des techniques de vision par ordinateur sont donc prometteuses.

	Imagerie Ultrasonore	Imagerie à Rayons X	IRM	Imagerie Nucléaire (SPECT, TEP)	Imagerie Optique (FLI, BLI)
<i>Nature des données obtenues</i>	anatomique et fonctionnelle	anatomique et fonctionnelle	anatomique et fonctionnelle	fonctionnelle	anatomique et fonctionnelle
<i>Spectre électromagnétique</i>	1 à 100 MHz	10 à 50 keV	20 à 400 MHz	SPECT : 10 à 350 keV ; PET : 511 keV	1.5 à 3 eV (400 à 800 nm)
<i>Source du contraste</i>	Variation d'impédance acoustique	Variation du coefficient d'atténuation des tissus	Densité protonique ; Environnement des protons	Concentration du radiotracteur injecté	Concentration du fluorophore injecté ; Activité d'une protéine luminescente
<i>Résolution spatiale - Profondeur</i>	0.05 à 1 mm ; mm à cm	10 μm à 0.5 \times 0.5 \times 1 mm pour corps entier	50 μm à 1 mm pour corps entier	1 à 2 mm pour corps entier	1 à 5 mm ; <5 cm
<i>Résolution temporelle</i>	Quelques secondes à quelques minutes	Quelques minutes	> 1 minute	PET : s à min ; SPECT : min	25 ms à quelques secondes
<i>Sensibilité</i>	μg à mg	1 à 5 mmol kg^{-1}	0.01 à 1 mmol L^{-1}	0.1 à 10 pmol L^{-1}	BLI : 10^{-15} mol L^{-1} ; FLI : 10^{-10} mol L^{-1}
<i>Agent de contraste</i>	Microbulles	Iode ; Baryum ; Brome	Gadolinium ; Oxydes de fer super paramagnétique	Émetteurs γ (SPECT) ; Émetteurs de positrons (TEP)	Fluorophores ; Protéines luminescentes
<i>Coût</i>	\$\$	\$\$ - \$\$\$	\$\$\$	\$\$\$	\$ - \$\$
<i>Contraintes</i>	Faible <i>RSB</i>	Faible contraste pour les tissus mous	Coût et gestion de B_0 et des gradients	Gestion de la radioactivité	Absorption et diffusion dans les tissus
<i>Post Traitements</i>	Segmentation	Segmentation et Fusion SPECT et PET	Segmentation et Fusion SPECT et PET	Reconstruction et Fusion CT et IRM	Reconstruction 3D

TABLE 1.2 – Tableau récapitulatif des principales caractéristiques des différentes techniques d'imagerie sur petit animal [106, 125, 154].

Chapitre 2

Imagerie de bioluminescence sur animal vigile : émergence de flux de données cinématiques

De part sa simplicité d'utilisation et sa sensibilité, l'imagerie optique *in vivo* s'impose comme une modalité adaptable à une grande variété de problématiques. De plus, les nouveaux développements instrumentaux permettent d'accéder à des résolutions temporelles rarement disponibles avec d'autres modalités. Les cinétiques rencontrées dans certains phénomènes de bioluminescence et de fluorescence sont des phénomènes transitoires dans lesquelles l'information cinétique est particulièrement importante. Tous ces éléments poussent à ne plus se restreindre à une étude statique de ces phénomènes mais à considérer le mouvement non plus comme une contrainte mais une opportunité de se rapprocher des conditions naturelles.

L'exploitation plus avancée des capacités instrumentales temps-réel, combinée au développement de dispositif de suivi vidéo de l'animal permettent à moindre coût et de façon simple d'ouvrir la voie à des études cinématiques. La gestion des flux collectés au cours de chaque trame enregistrée au cours de l'acquisition donnera la possibilité à l'utilisateur de suivre tant le signal d'intérêt que les conditions physiologiques de l'animal. Une telle modalité d'imagerie ouvrira la possibilité de s'affranchir de l'anesthésie (biais à la reproductibilité), de corrélérer mouvement ou déplacement à un signal optique et ainsi d'ouvrir la voie à de nombreuses applications non accessibles sans mouvement. Les études comportementales entraînant des réactions de l'animal en réponse à un stimulus seront alors possibles à mettre en œuvre.

Les méthodes de post-traitement actuelles peuvent permettre d'exploiter le potentiel de certaines nouvelles applications de cette modalité. En effet, analyser de manière automatique ce type d'informations fournit matière à la recherche de méthode de segmentation et de recalage. Nous montrerons que les techniques de segmentation automatique sont particulièrement adaptées pour permettre d'extraire du flux de données, produit par cette nouvelle modalité, des informations pertinentes. Cette application soulève, au niveau de la fusion des flux cinématiques, des problèmes comparables à ceux rencontrés classiquement en recalage. C'est donc à partir des outils de recalage que l'on pourra rétablir la corrélation entre la bioluminescence et sa surface d'émission.

Sommaire

2.1	Imagerie sur animal vigile : des études statiques à une analyse cinématique	39
2.2	Un système de détection optique pour l'imagerie sur l'animal vigile	40
2.2.1	Description du système	41
2.2.2	Validations du système grâce aux outils de traitements d'images	43
2.2.3	Méthode de fusion des données	45
2.3	Problématique : prendre en compte le mouvement dans la fusion des données <i>in actio</i>	48

2.1 Imagerie sur animal vigile : des études statiques à une analyse cinématique

Jusqu'à récemment, l'imagerie fonctionnelle sur petit animal a été restreinte à des études statiques pour assurer la bonne localisation du signal d'intérêt vis à vis des structures anatomique étudiées. De plus, les résolutions temporelles accessibles avec ces techniques permettaient rarement d'étudier des phénomènes biologiques avec des résolutions inférieures à la seconde.

Cette limitation pose rapidement problème si lors des acquisitions on s'intéresse à des phénomènes liés au cœur dont le battement chez l'animal est plus rapide que chez l'homme [43]. La synchronisation des acquisitions avec le rythme cardiaque ou la modélisation du mouvement cardiaque sont des solutions qui reposent sur un post-traitement des acquisitions. De la même manière, le mouvement induit par la respiration de l'animal va perturber le processus de reconstruction. Ces deux problèmes sont particulièrement présents dans le cas de l'imagerie PET [149] et les solutions vont chercher à corriger la localisation des photons γ en fonction du mouvement détecté [219].

Ces méthodes sont cependant toujours soumises à la contrainte d'anesthésier l'animal pour empêcher ces mouvements volontaires excluant, par la même, les études associant mouvement et signal d'intérêt. Ceci représente une perte non-négligeable d'informations pour les études cognitives et comportementales. De plus le monitoring de l'animal et son activité musculaire peuvent avoir des impacts importants sur le suivi de pathologies neuromusculaires [72] même observées *in situ*. En outre, il est communément admis que l'impact de l'anesthésie n'est pas neutre quand on cherche à étudier différents phénomènes [79]. C'est particulièrement vraie dans le cas de l'imagerie optique (cf. 1.3.4) mais aussi en imagerie radio-isotopique dans laquelle la biodistribution des traceurs est perturbée [180]. Toutes ces limitations éloignaient jusqu'à récemment les études des conditions naturelles d'observation des phénomènes biologiques et pouvaient perturber le caractère reproductible des études longitudinales.

C'est pourquoi diverses solutions ont été proposées pour réaliser des études sur animal vigile en s'affranchissant de l'anesthésie. Les premiers dispositifs sont liés au développement de l'imagerie IRM fonctionnelle sur petit animal [58] car les agents anesthésiants ont un impact négatif sur les phénomènes biologiques permettant de mesurer l'activité cérébrale [27]. Le corps de l'animal a donc été contraint fortement (Fig. 2.1-A) au risque d'augmenter son stress. Toujours dans le cadre de l'étude de structures du cerveau, des dispositifs de microscopie fibrée ont été placés sur la tête de l'animal (Fig. 2.1-B) pour obtenir une résolution spatiale importante mais très localisée [77, 160]. *Goddart et al.* [68] proposent quant à eux un système combinant un dispositif TEMP avec trois caméras permettant d'estimer la position 3D de la tête d'un animal. Ce système, particulièrement intéressant, limite le déplacement de l'animal à un cylindre mais ne nécessite qu'un simple ajout de marqueurs sur la tête de l'animal pour augmenter la qualité des images reconstruites (Fig. 2.1-C et D).

Il existe donc un intérêt manifeste pour ce type de dispositif d'imagerie sur animal vigile. Au vu de ses caractéristiques intrinsèques (cf. 1.3), l'imagerie optique semble la plus adaptée pour s'affranchir de l'anesthésie et permettre via l'imagerie rapide la corrélation entre mouvement et signal d'intérêt. Ce besoin a été comblé par le développement depuis 2006 d'instruments adéquats. Cependant, ces systèmes fournissent des flux d'informations sous forme de séquences de trames vidéos et de signal optique qui nécessitent autant de nouveaux outils d'analyse que

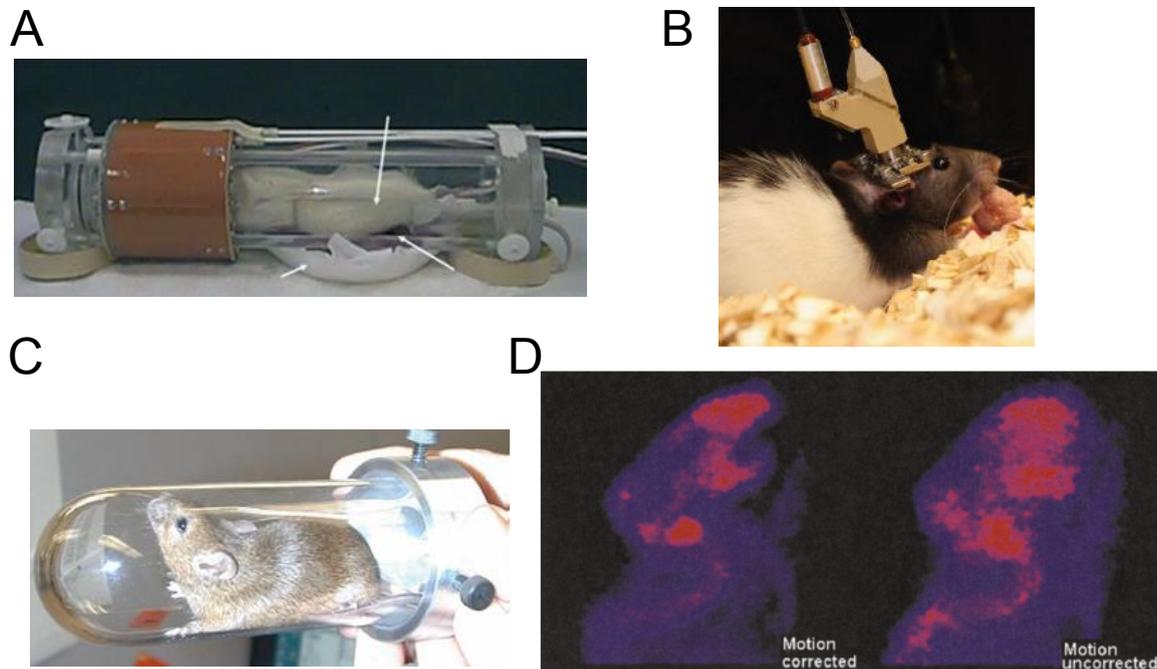


FIGURE 2.1 – Système d’acquisition sur animal vigile : (A) Dispositif de maintien pour animal non anesthésié compatible avec l’IRM_f [58]. (B) Implantation d’un système de microscopie sur animal éveillé [160]. (C) Dispositif de maintien compatible avec l’imagerie TEMP [68]. (D) Impact de la correction du mouvement de la tête en reconstruction TEMP [68].

des méthodes de fusion optimales. Nous présenterons dans ce chapitre la génération de ces flux d’informations et les premiers outils d’analyse mis en place spécialement pour les études cinématiques.

2.2 Un système de détection optique pour l’imagerie sur l’animal vigile

L’intérêt certain d’effectuer des études sur l’animal éveillé est donc particulièrement en phase avec les caractéristiques de l’imagerie optique. Plus précisément, la bioluminescence, qui fournit un rapport signal sur bruit élevé, est particulièrement adaptée aux études des signaux biologiques à cinétique rapide. Cependant, l’utilisation de la bioluminescence comme source de contraste ne fournit pas d’informations sur la silhouette comme pourrait le faire l’imagerie de fluorescence via le phénomène d’autofluorescence de l’animal. Cette absence de bruit endogène nécessite donc l’utilisation d’un dispositif additionnel de suivi de l’animal. Le prototype de ce dispositif a été réalisé par Émilie Roncali lors de sa thèse sur le développement de dispositifs pour l’imagerie de luminescence *in vivo* temps-réel [154]. Dans le cadre de cette thèse nous avons participé aux améliorations et à la validation de ce dispositif en fournissant les outils de segmentation nécessaires à l’analyse des séquences d’imagerie sur animal vigile [155]. Le dispositif présenté dans la partie suivante a vu sa conception légèrement modifiée mais le principe et les caractéristiques sont restés sensiblement identiques à ceux du prototype.

2.2.1 Description du système

Le système présenté dans cette partie repose sur les caractéristiques de l'instrument de détection en imagerie de bioluminescence et de fluorescence (Photon Imager) mis au point par Biospace Lab (cf. 1.3.2). Le système de suivi développé récemment permet de combiner les informations de bioluminescence collectées et une vidéo de suivi de l'animal. Ces deux flux de données fusionnés de façon synchrone permettent une corrélation entre l'émission de bioluminescence et la surface d'émission (projetées sur les plans objets des caméras).

Montage optique

Comme nous l'avons vu dans le chapitre 1.3.2, l'imagerie de bioluminescence requiert des systèmes pour lesquels toute source de lumière externe est proscrite au vu des faibles flux lumineux à capter. Néanmoins, pour visualiser le corps de la souris avec la seconde caméra de suivi, il est nécessaire d'éclairer le champ de vue dans lequel se déplace l'animal. Dans la première version de ce dispositif, la séparation entre le signal d'intérêt et l'éclairage s'effectuait principalement sur un principe spectral. La version définitive du système d'acquisition (Fig. 2.2-A) se base, elle, par contre sur un principe de séparation temporelle. Toutefois, la séparation des différents chemins optiques est toujours effectuée grâce à un miroir séparateur semi-transparent.

Les deux caméras, la caméra ICCD et la caméra de suivi (Guppy F-046B, Allied Vision Technologies), sont disposées de façon orthogonale selon le schéma de la Fig. 2.2-B. Elles reçoivent respectivement le signal de luminescence émis par le corps de l'animal et celui lié à l'illumination réfléchi de façon spéculaire et lambertienne par la surface extérieure de l'animal, notés S_{bio} et S_E (respectivement vert et orange dans les schémas). Ces deux caméras sont synchronisées sur une fréquence d'acquisition de l'ordre de 45 Hz via une carte électronique conjointe à l'illumination. L'illumination est produite par une diode laser à 785 nm et va éclairer le champ de vue via quatre fibres optiques. L'illumination, par réflexion sur l'animal, va créer un signal de plusieurs ordres de grandeurs supérieur à S_{bio} mais spectralement différent puisque la luciférase à l'origine de S_{bio} , émet dans le vert à ≈ 500 nm.

Pour séparer les deux flux optiques sans les dégrader, le miroir semi-transparent utilisé est de type « miroir chaud », c'est à dire permettant une transmission de 90% dans le spectre visible et une réflexion de 90% dans le spectre proche infrarouge. Cependant, la coupure à 750 nm ne filtre que deux ordres de grandeur laissant donc passer une partie du flux lumineux lié à l'illumination vers le capteur ICCD. Dans le but d'accentuer cette coupure de 10 ordres de grandeur, un filtre passe bas est placé à l'entrée du tube. Cependant, au vu des difficultés de conception de ce filtre, le système de séparation des deux flux lumineux est basé, dans la version utilisée au cours de cette thèse et commercialisée par Biospace Lab, sur un filtrage temporel.

Le filtrage temporel des deux signaux est effectué grâce à une acquisition fractionnée des deux flux de données (Fig. 2.2-C). En effet, il est possible d'éteindre et d'allumer en quelques μ s le tube intensificateur de la caméra ICCD pour activer ou non le capteur du flux de bioluminescence. Pendant la phase d'extinction du tube, la diode laser est activée pour permettre à la caméra secondaire d'enregistrer la scène sans que l'illumination ne soit captée par l'ICCD. Ensuite l'illumination est coupée et le tube intensificateur est rallumé pour permettre l'enregistrement du seul signal de bioluminescence. En effet, sans illumination la caméra secondaire n'enregistre plus le signal réfléchi par l'animal. Classiquement, la période d'illumination est de 1.5 ms assortie d'une marge de sécurité d'extinction de la diode laser de 0.5 ms ce qui repré-

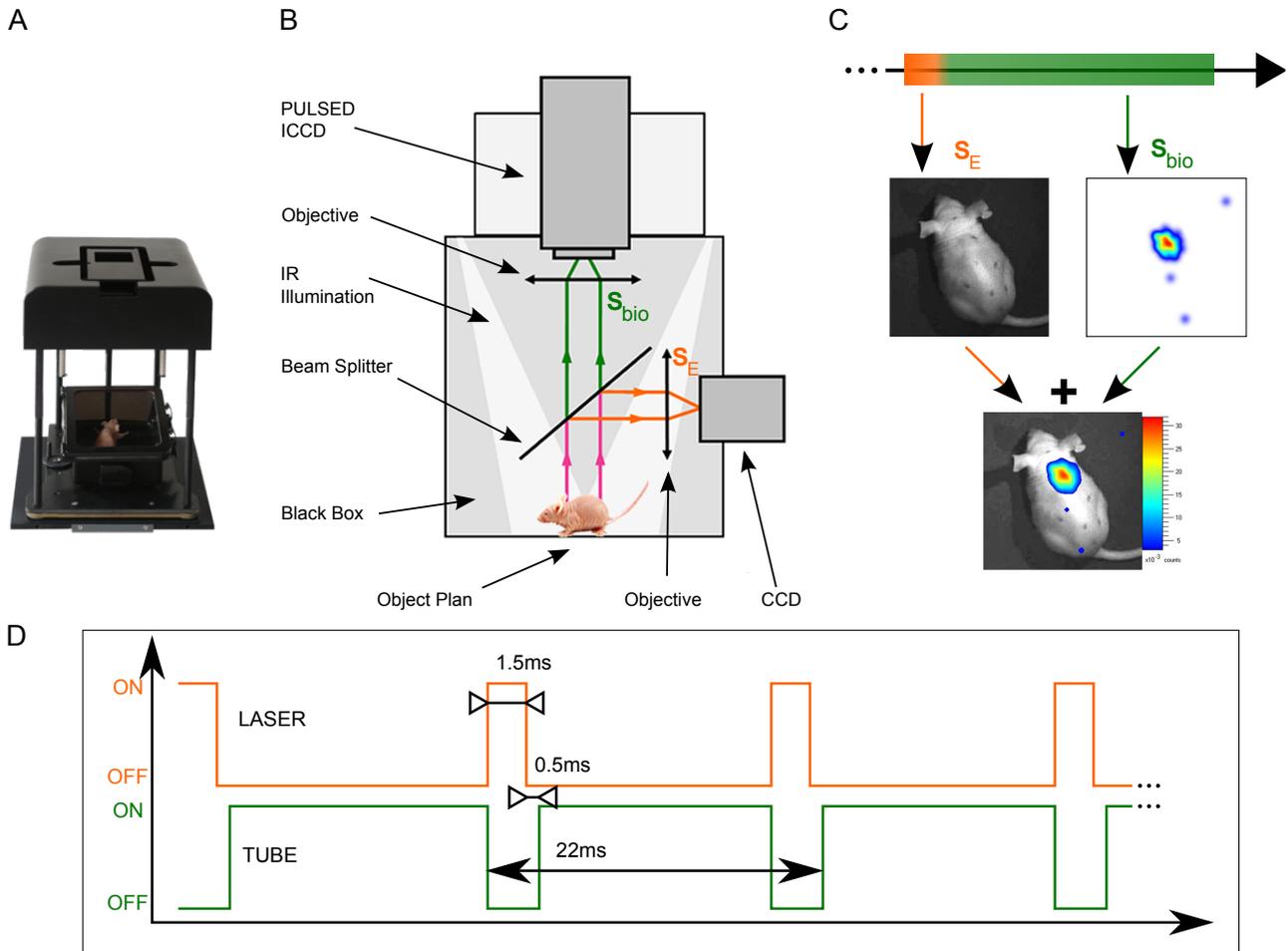


FIGURE 2.2 – Système d’acquisition « In Actio » : (A) Photo du module « In Actio ». (B) Schéma du dispositif d’acquisition simultanée de la bioluminescence S_{bio} et du flux vidéo S_E . (C) Principe de filtrage temporel des flux à acquérir et de leur reconstruction pour fournir une image de fusion en temps réel sans intégration à partir d’une trame d’acquisition. (D) Chronogramme de fonctionnement du tube et du laser.

sente au total un peu moins de 10% de la durée d’une trame normale de 22 ms. Le bruit de ce système est alors inférieur à 100 coups s^{-1} (environ 5 fois moins que le premier prototype).

Cette solution implique que le système caméra de suivi, son objectif, son positionnement et l’illumination soit optimisé pour permettre un champ de vue maximal et compatible avec le champ de vue de l’ICCD ainsi qu’une dynamique de niveaux de gris acceptable sur la vidéo de suivi. Un exemple de calcul de positionnement des différents éléments peut être trouvé dans [154]. La solution actuellement utilisée offre comme avantage de pouvoir s’insérer sous la forme d’un module au matériel existant. Cependant l’illumination du champ de vue est plus faible rendant la dynamique des niveaux de gris sur la caméra de suivi plus réduite¹. Ce dernier point ainsi que l’uniformité de l’illumination ont été particulièrement problématiques pour la partie détection des diverses informations utilisées pour l’algorithme de recalage. Nous avons

1. même si les contours sont plus nets grâce à l’utilisation d’un flash de lumière

donc apporté des améliorations constantes pour obtenir les meilleures images de suivi.

Ratio signal sur bruit : Le critère déterminant de ce type de dispositif est de perturber au minimum la détection de bioluminescence au niveau du détecteur ICCD. On note $RSB_{ref} = S/\sqrt{\sigma_T}$ le ratio signal sur bruit du système sans module complémentaire et respectivement RSB_1 et RSB_2 pour les configurations proposées. Dans ce dernier cas le signal S_2 vaut $(0.9)^2 \cdot S$ car la présence du miroir chaud réduit le signal de 10% et que l'acquisition s'effectue sur 90% de la trame. De même le bruit σ_2 vaut $0.9 \cdot \sigma_T + 0.1 \cdot \epsilon \cdot \sigma_{IL}$ de part la combinaison du bruit thermique de la caméra ICCD sur 90% de la trame et du bruit créé par le taux de rémanence ϵ de l'illumination dans la fenêtre temporelle dédiée à l'acquisition de bioluminescence. On a alors :

$$RSB_2 = 0.81 \cdot \frac{S}{\sqrt{0.9 \cdot \sigma_T + 0.1 \cdot \epsilon \cdot \sigma_{IL}}} \quad (2.1)$$

En utilisant une bande temporelle de sécurité de 0.5 ms après extinction de la diode laser, ϵ tend vers 0 et on peut alors considérer que $RSB_2 \approx 0.85 \cdot RSB_{ref}$. Ce qui est de façon remarquable, supérieure à la configuration 1 dans laquelle $RSB_1 \approx 0.60 \cdot RSB_{ref}$ [154]. Cependant nous allons voir qu'il est parfois nécessaire d'effectuer une intégration a posteriori du signal de bioluminescence dans le cas où celui-ci est trop faible.

Sauvegarde des flux de données : Les deux caméras sont synchronisées et fournissent donc une détection quasi-simultanée des deux flux optiques. Cependant ces caméras ne possèdent pas les mêmes caractéristiques intrinsèques : taille du capteur et objectifs différents par exemple. De plus, de part leurs positions dans le montage optique, des défauts d'alignement des deux champs de vue au niveau du plan objet apparaissent. Il est donc nécessaire d'ajuster les deux images acquises pour que les données soient spatialement cohérentes. Ces défauts sont corrigés en appliquant une transformation affine² et un découpage sur le flux vidéo dans le but de le faire correspondre au flux optique. Cette transformation rigide est calculée lors d'une étape de calibration et appliquée uniquement lors de la fusion des deux flux de données. Au final sur le disque dur, le flux vidéo \mathbf{V} est sauvegardé sous la forme d'un fichier vidéo encodé via le codec x264 tandis que le flux optique \mathbf{O} est sauvegardé sous la forme d'une liste d'évènements associés à leurs caractéristiques.

2.2.2 Validations du système grâce aux outils de traitements d'images

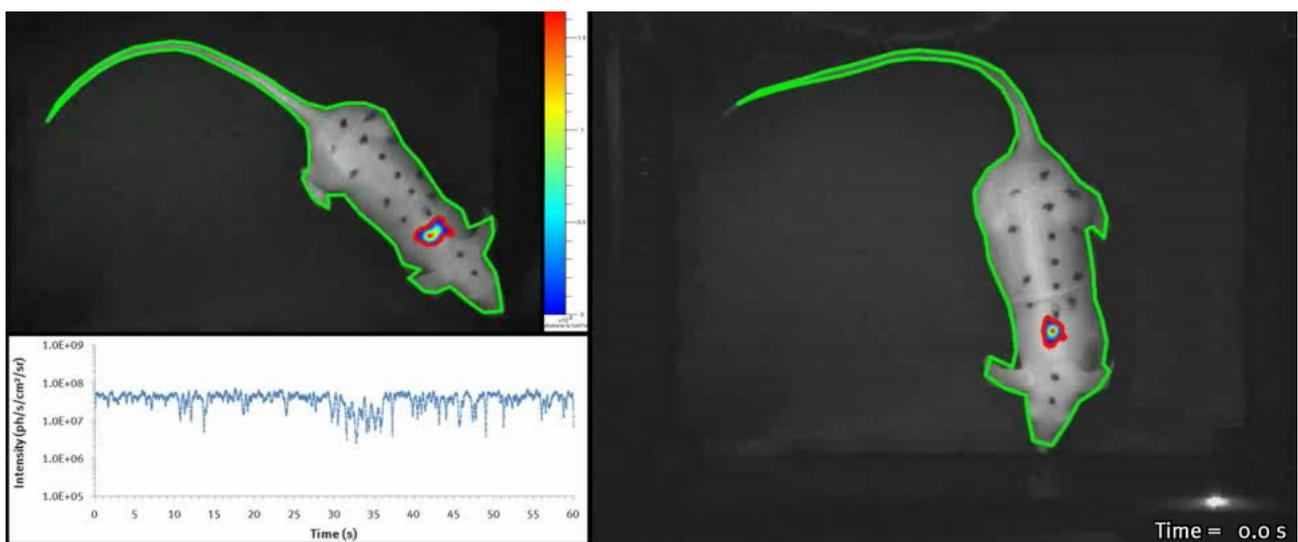
Les principaux résultats de validation sont présentés conjointement dans [154] et [155], nous n'en présentons ici que les plus significatifs et ceux liés à notre travail sur les outils d'analyse. À partir de ces documents, il est tout d'abord possible de constater que l'ajout de ce module ne dégrade pas la linéarité et la cinétique des signaux de bioluminescence acquis. Dans la version utilisée dans cette thèse, le RSB n'est inférieur que de 15% à celui de l'instrument d'origine (Eq. 2.1).

Pour valider ce dispositif sur un animal vigile, divers outils informatiques ont été conçus pour fournir des informations utilisables par les biologistes. Ces outils de segmentation automatique

2. Une homographie est théoriquement plus adaptée pour modéliser ce type problème mais dans cette configuration optique une transformation affine est amplement suffisante.

de la souris et du signal de bioluminescence fonctionnent en utilisant des outils de seuillage combinés à des opérateurs morphologiques. La détection automatique permet de mesurer les données relativement au corps de la souris et par rapport à la région d'intérêt (ROI) sélectionnée. On obtient alors, en parallèle des vidéos de fusion, une série de mesures tout le long de la séquence d'images (Film 1).

Les méthodes de détection automatique de segmentation de la souris et de la bioluminescence ont été utilisées pour montrer que ce dispositif est techniquement adapté à l'imagerie sur animal vigile [155]. L'analyse des signaux portés par la souris est alors possible et facilement utilisable par les biologistes. Ce type de dispositif associé aux méthodes de détection des ROI permet aisément de s'affranchir du biais de l'anesthésie en imagerie optique (cf. 1.3.4).



Film 1: Vidéo de suivi simultané de la la souris et de la bioluminescence (lissage de 2 mm et intégration temporelle de 200 ms).

Des validations biologiques plus poussées de cet appareil d'imagerie sur animal vigile ont été effectuées en partenariat avec le Laboratoire d'Imagerie Moléculaire Expérimentale (LIME) du Service Hospitalier Frédéric Joliot (SHFJ) et l'unité d'Embryologie Moléculaire de l'Institut Pasteur. Elles ont porté sur l'utilisation d'une sonde calcique bioluminescente pour l'imagerie de crise d'épilepsie sur animal non anesthésié ainsi que dans l'étude des cycles veille-sommeil chez les souris [152]. Cette étude a permis d'exposer l'une des applications les plus prometteuses de ce type d'imagerie qui est la corrélation entre signal biologique et mouvement ou comportement de l'animal éveillé (Fig.2.3). Cependant, cette corrélation peut être dégradée s'il est nécessaire d'avoir une intégration temporelle importante des signaux de bioluminescence.

En effet, si l'on étudie cette corrélation en fonction du temps d'intégration, on peut alors constater que le temps d'exposition est un paramètre critique pour fournir aux biologistes des mesures fiables et représentatives. Les outils de détection de ROI mis en place précédemment nous ont permis de constater que le temps d'intégration de la bioluminescence pouvait dégrader la qualité de l'analyse produite à partir des films de fusion. Il est parfois nécessaire pour augmenter le *RSB* d'allonger ce temps d'intégration vers des valeurs proches de 1 s. Pour illustrer ce phénomène nous avons extrait une séquence de 500 trames durant laquelle la souris passait

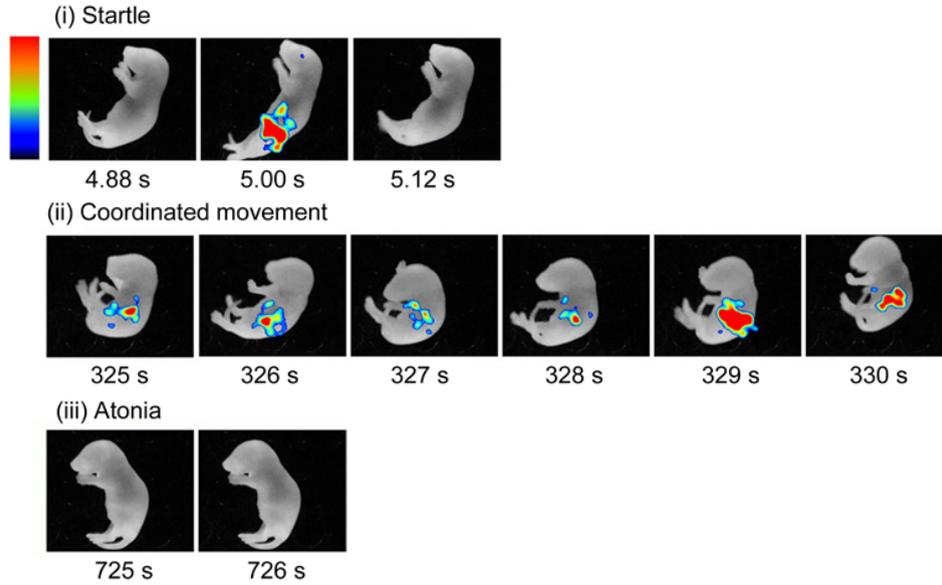


FIGURE 2.3 – Acquisition des cycles de veille-sommeil chez le souriceaux corrélés à certains états comportementaux [152]. Les temps d'intégration sont de 44 ms pour (i) et 160 ms pour (ii) et (iii).

alternativement de phases de mouvement à des phases d'inactivité. En détectant les ROI associées au signal optique sur chaque trame, nous avons mesuré l'évolution de l'étalement du signal optique au cours du temps via l'aire de la ROI principale (Fig. 2.4). Cette détection a été effectuée avec trois temps d'intégration différents : 113 ms, 250 ms et 1 s.

On observe sur ce graphique que l'aire des ROI définies sur des images avec un temps d'exposition de 113 ms à 1 s ne présente aucune variation significative lors de la phase d'inactivité de l'animal (notée B sur la Fig. 2.4), tandis que la surface augmente fortement avec un temps d'intégration de 1 s et ceci dès 250 ms dans la phase de mouvement (notée A sur la Fig. 2.4). La détermination des différentes phases d'activité de l'animal peut se faire assez facilement en affichant l'image moyenne créée par la superposition des trames vidéos V_k incluses dans une fenêtre d'intégration (Fig. 2.5).

Cette expérience montre que des temps d'exposition supérieurs à 250 ms peuvent être considérés comme trop importants pour réaliser des mesures semi-quantitatives sur les données de bioluminescence brutes. Ceci reste dépendant du niveau de signal et de l'amplitude des mouvements de l'animal.

2.2.3 Méthode de fusion des données

La méthode d'intégration temporelle est donc un point crucial de l'utilisation de cet appareil. En effet pour obtenir un ratio signal sur bruit optimal, il est nécessaire d'intégrer le signal de bioluminescence sur des fenêtres temporelles plus proches de celles de l'imagerie statique, soit entre 200 ms et 1 s. D'un point de vue mathématique, la fusion de deux flux de données, fournies par l'appareil ($\mathbf{V} = V_1, \dots, V_n$ et $\mathbf{O} = O_1, \dots, O_n$), forme une image de fusion I_k^{fusion} via la formule suivante :

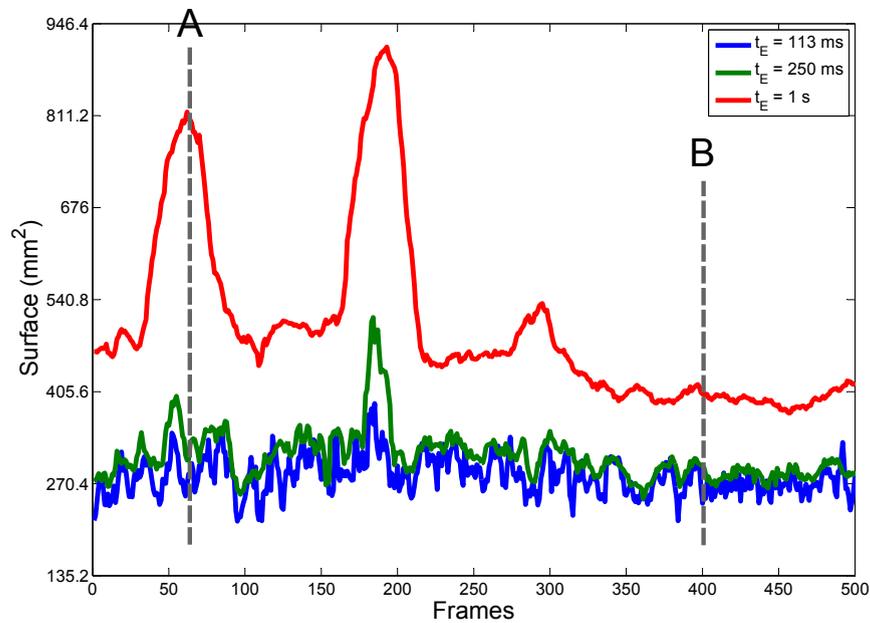


FIGURE 2.4 – Évolution de l’aire de la ROI principale au cours du temps pour 3 temps d’exposition différents (113 ms, 250 ms et 1 s). Les deux séries de trames vidéos extraites en A et B correspondent respectivement à une phase de mouvement rapide et à une phase d’inactivité.

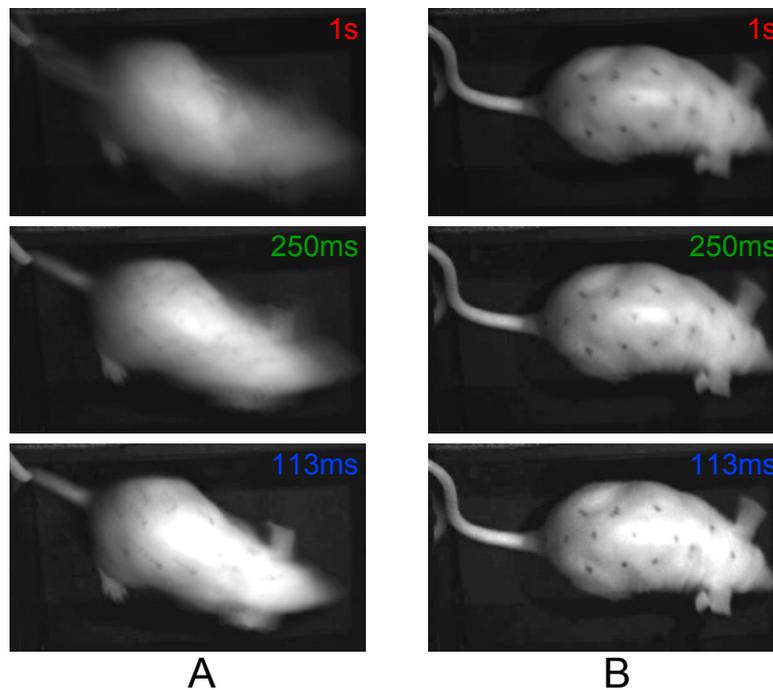


FIGURE 2.5 – Amplitude du déplacement dans une séquence vidéo : images moyennes des trames vidéos pour 3 fenêtres d’intégration différentes pour les deux périodes d’activité (A) et (B) définies sur la figure précédente.

$$I_k^{\text{fusion}} = V_k + \sum_{j=k-t_E/2}^{k+t_E/2} O_j \quad (2.2)$$

où t_E représente le temps d'intégration de la bioluminescence.

On peut remarquer rapidement que ce type de fusion basique réduit fortement l'intérêt de l'imagerie sur animal vigile si celle-ci n'est pas correctement faite. En effet si l'on étudie l'influence de celui-ci sur l'interprétation des images, on constate que le temps d'intégration devient le paramètre critique pour l'obtention de données fiables et représentatives (Fig 2.6). En effet, comme le montre une image de fusion classique à 1 s (Fig. 2.6), le flou de bougé apparaît si l'amplitude des mouvements de l'animal est importante durant le temps d'exposition. Ce flou de bougé est similaire à celui rencontré par les photographes lors de l'exposition d'une scène nocturne à une source lumineuse se déplaçant à l'intérieur du champ de vue.

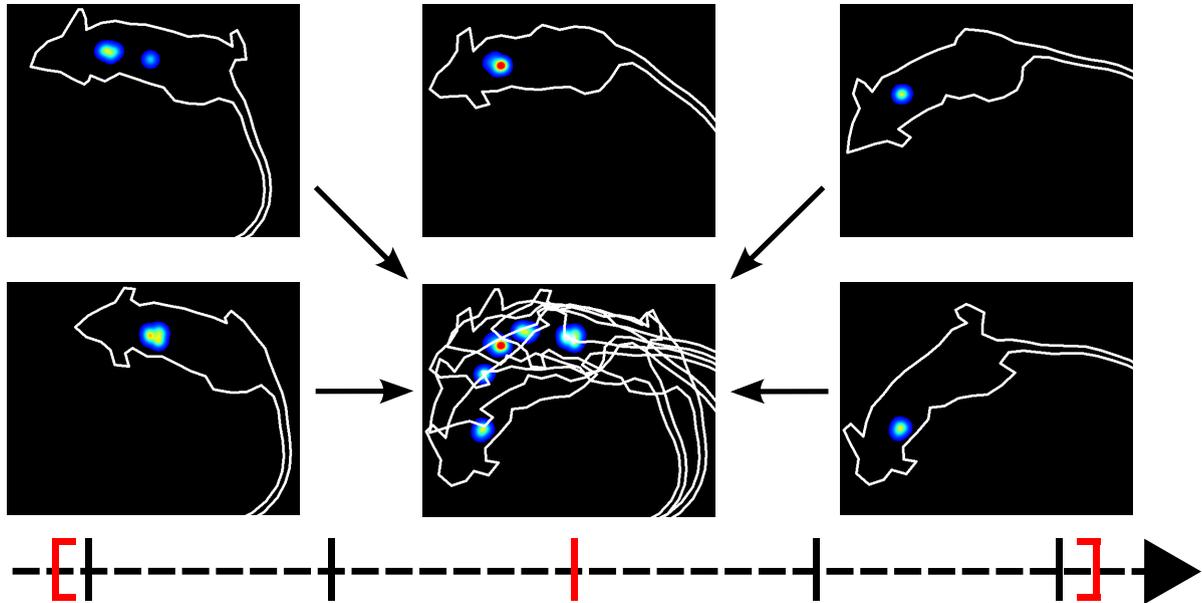


FIGURE 2.6 – Impact du mouvement de la souris sur la corrélation entre la bioluminescence et sa zone d'émission pour une fenêtre d'intégration de 1 s. Les cinq images extraites du flux de données optiques superposées au contour de la souris permettent de visualiser le mouvement de l'animal dans cette fenêtre.

Le nouveau schéma de création de fusion peut se résumer au schéma suivant (Fig. 2.7) qui inclura une étape de calcul des transformations spatiales \mathbf{T} nécessaires pour transporter les données de bioluminescence vers la trame centrale de la fenêtre d'intégration. Ce problème de fusion peut se formuler sous la forme d'un problème de recalage entre une image $I_j = \{V_j, O_j\}$ et la trame centrale I_k .

$$I_k^{\text{fusion}} = V_k + \sum_{j=k-t_E/2}^{k+t_E/2} T_{j \rightarrow k}(O_j) \quad (2.3)$$

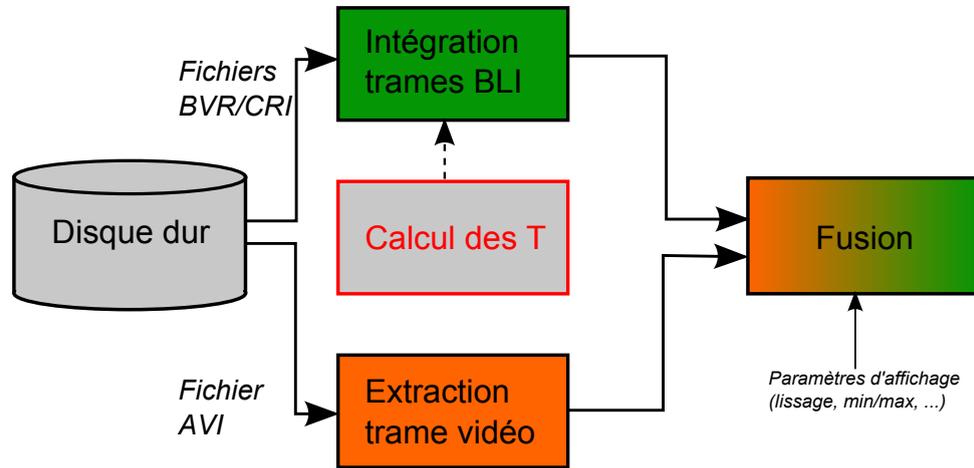


FIGURE 2.7 – Nouveau processus de création des données de fusion améliorée de la bioluminescence avec le flux vidéo. Les transformations précédemment calculées sont appliquées lors de la fusion selon l'équation 2.3.

2.3 Problématique : prendre en compte le mouvement dans la fusion des données *in actio*

Au vu des éléments soulevés lors de la validation du dispositif d'imagerie optique sur animal vigile, la prise en compte du mouvement est devenue un aspect important de l'utilisation optimale des acquisitions *in actio*. L'apport des techniques de recalage doit nous permettre de fournir des données dont l'interprétation par le biologiste est simple et précise. Ceci passe par une gestion plus robuste de l'analyse et de la fusion des flux de données tout en restant compatible avec les protocoles utilisés en routine en imagerie de bioluminescence. La segmentation automatique des zones d'émission du signal est déjà un point important facilitant la manipulation des données *in actio*. En outre, la mise en œuvre au sein du logiciel de traitement de Biospace Lab de ces outils permet de ramener les problèmes de quantification à ceux déjà rencontrés au cours d'études statiques.

Cependant, même si l'accès à une imagerie rapide est possible avec ce nouveau type d'instrument, l'analyse cinématique des données sur des temps d'exposition plus longs, de l'ordre de 200 ms à 1 s doit conserver la même pertinence. En effet, l'augmentation du *RSB* par accumulation de trames est particulièrement nécessaire en imagerie de bioluminescence tant statique que cinématique car les niveaux de flux lumineux sont particulièrement faibles.

Néanmoins, les artefacts observés lors de l'intégration a posteriori de trop nombreuses trames de bioluminescence dégradent sensiblement la résolution spatiale de ce type d'imagerie. En effet, on peut évaluer la vitesse moyenne de la souris à environ 7 cm s^{-1} soit un déplacement d'une zone d'émission de 1.54 mm au cours d'une trame de 22 ms mais de 7 cm lors d'une exposition de 1 s. Même si le premier déplacement est compatible avec les résolutions spatiales de l'imagerie optique corps entier, le second correspond quasiment à la taille du corps de la souris. Ceci réduit d'autant l'interprétation des mesures quantitatives obtenues.

D'un point de vue méthodologique, les techniques d'estimation du déplacement de la souris au cours des acquisitions vont permettre de surmonter ce problème d'artefact lié au flou de

mouvement. L'objectif est alors de reconstituer le lien entre le signal obtenu par intégration et sa zone d'émission pour permettre une adéquation entre les études statiques et cinématiques. À cause du caractère cinématique des flux mis en œuvre, la solution passe par le calcul non pas d'une transformation entre un couple d'images mais par l'estimation d'un ensemble de transformations liant toutes les données issues de l'acquisition. Il est néanmoins possible de se restreindre, dans un premier temps, à une approche basée uniquement sur le flux vidéo pour obtenir une correction acceptable des artefacts de mouvement tout le long de la séquence. Il est alors nécessaire de modéliser le problème dans un cadre robuste issu du domaine de la vision par ordinateur. Cependant nous chercherons à intégrer dans un second temps les données de bioluminescence dans une modélisation originale pour affiner les résultats.

Les deux modélisations mises en œuvre au cours de cette thèse fournissent des approches permettant une correction planaire des mouvements de la souris. Or, le montage optique du dispositif actuel ne permet d'enregistrer que le déplacement de la souris dans le plan objet ainsi qu'une fraction limitée du signal de bioluminescence de par l'orientation de la surface d'émission. On peut alors constater des fluctuations dans la mesure du signal lumineux comparables au problème rencontré lors d'acquisitions longitudinales [122]. Une correction de l'orientation de la surface par rapport à la caméra au cours des séquences vidéos est donc primordiale pour envisager effectuer des mesures sans biais sur animal vigile. La reconstruction 3D de la surface d'émission au cours des séquences sur animal vigile permet donc d'envisager une localisation en profondeur de la source au cours du temps. La démonstration d'une mesure temps-réel tridimensionnelle a été effectuée par Émilie Roncali sur banc optique via un système de miroir conique [154]. Nous nous proposons de combiner un système multi-vues et des techniques robustes d'estimation de pose pour évaluer la quantité de signal émise par une surface d'émission portée par un animal vigile et corriger les erreurs dues à l'orientation des surface d'émission. Cette combinaison intégrable au sein du dispositif existant sera basée sur le flux vidéo tout en tenant compte de la localisation du signal d'intérêt au cours de la séquence.

Chapitre 3

Estimation séquentielle du mouvement : mise en œuvre de techniques de recalage *pairwise* pour l'imagerie sur animal vigile

Mettre en œuvre les techniques de recalage d'images dans le cadre des diverses situations rencontrées en imagerie médicale ou préclinique constitue un véritable challenge. Depuis une quinzaine d'années le développement de ces nouvelles méthodes a stimulé de façon croissante la communauté de vision par ordinateur. La demande croissante des médecins et des biologistes pour de nouveaux outils d'analyse permettant la comparaison et le suivi temporel d'informations tant anatomiques que fonctionnelles a stimulé les différents axes de recherche (cf. chp. 1).

Cette thèse s'appuie sur les fondements des techniques de recalage grâce auxquelles nous avons pu mettre en œuvre, notre propre approche originale dans un cadre d'étude innovant. En effet nous avons pu constater le besoin de techniques d'interprétation automatique en imagerie optique temps réel. À travers les techniques décrites dans ce chapitre nous mettrons en place les outils nécessaires au traitement correct des flux d'informations provenant de l'imagerie sur animal vigile. Cette application soulève, comme nous l'avons constaté, des problèmes comparables à ceux rencontrés classiquement en recalage.

Même si différentes approches ont été proposées dans le domaine biomédical, l'origine du besoin de recalage de données est commune à tous les problèmes abordés. Il s'agit du mouvement tant global, au niveau de l'organisme, que local, au niveau des tissus vivants, ou bien même lié à la technique d'acquisition des données. La diversité des tâches demandées par les utilisateurs finals sous cette contrainte de correction du mouvement a permis de déployer des cadres méthodologiques différents mais complémentaires pour aligner les images.

Nous présenterons dans ce chapitre le cadre méthodologique que nous avons utilisé pour corriger les données optiques avec le mouvement estimé de l'animal à partir du flux vidéo. La méthode mise en place combine les avantages des techniques de l'état de l'art dans le but d'assurer la robustesse des résultats. Le contexte d'utilisation nécessite effectivement d'estimer de grandes séries de transformations de façon automatique. Nous montrerons avec cette méthode séquentielle des résultats suffisamment significatifs pour valider le concept et déclencher son intégration dans un logiciel commercial.

Sommaire

3.1	Cadre méthodologique du recalage séquentiel d'images	53
3.2	État de l'art du recalage <i>pairwise</i>	55
3.2.1	Représentation de la forme	55
3.2.2	Modèle de déformation	60
3.2.3	Critère de similarité	66
3.2.4	Optimisation	68
3.2.5	Récapitulatif	69
3.3	Développement d'une méthode robuste adaptée à l'estimation du mouvement de la souris	70
3.3.1	Choix d'un critère robuste	70
3.3.2	Un modèle de déformation apte à suivre les mouvements complexes	73
3.4	Fusion des données de bioluminescence <i>in actio</i> avec estimation du mouvement	74
3.5	Évaluation de l'approche séquentielle	75
3.5.1	Impact sur la localisation du signal	76
3.5.2	Analyse des caractéristiques du signal de bioluminescence	77
3.5.3	Estimation de la résolution limite de l'approche proposée	82
3.6	Discussion	83

3.1 Cadre méthodologique du recalage séquentiel d'images

Les problèmes de recalage ou d'alignement spatial de données biomédicales ont crû en parallèle du développement des appareils d'imagerie comme outils de routine clinique. Il en découle une littérature riche et très diverse dans laquelle les premiers axes de recherche poursuivent ceux engagés dans le domaine plus général de la vision par ordinateur [221]. En effet le recalage peut par exemple servir à estimer le champ de déplacement d'objets dans des séquences d'images (« optical flow ») ou bien servir à aligner des vues différentes d'un même objet pour en extraire des informations de profondeur. Nous nous intéresserons dans ce chapitre plus particulièrement aux techniques appliquées au recalage d'images médicales ou bien développées spécifiquement pour ce domaine. Nous nous appuyerons pour cela sur différents travaux de revues [80, 115, 119, 147, 190] et sur des descriptions présentées dans des manuscrits de thèse [31, 134, 146, 176, 187].

Le recalage peut se formaliser sous la forme d'une recherche d'une ou plusieurs transformations qui vont permettre d'aligner spatialement deux ou plusieurs instances d'un objet selon un critère de similarité. Dans le cadre de l'imagerie biomédicale cet objet sera tout ou partie d'un organisme vivant et ces instances représenteront les observations de cet organisme enregistrées par divers capteurs ou bien à divers instants. Nous expliciterons au cours des sections suivantes les différents cas de cette définition générale.

D'un point de vue méthodologique, on constate que les trois éléments clefs de cette définition générale sont la représentation de l'instance de l'objet, les familles de transformation possibles entre les instances et les moyens de mesurer la similarité ou la disimilarité entre instances. De plus, ces modélisations sont les éléments d'entrée de tout processus d'optimisation.

Dans le cas des données biomédicales, les mesures recueillies par les différents appareils d'imagerie peuvent être stockées sous forme d'images bi ou tri dimensionnelles qui sont le reflet d'une mesure physique au travers d'un système de détection. D'un point de vue mathématique une image I est donc le résultat de la projection Π d'un objet du monde réel vers un système informatique discret et a donc pour support de définition \mathbb{Z}^n . I est donc considérée comme une fonction, $I : \mathbb{Z}_I^n \rightarrow \mathbb{R}$, définie en un nombre fini de points discrets, régulièrement répartis sur une grille rectangulaire de dimension n . Le modèle de déformation peut être considéré comme une fonction de transport $T : \mathbb{R}_J^n \rightarrow \mathbb{R}_I^n$ reliant les espaces réels sous-jacent aux images entre eux. On constate rapidement que la composition $I \circ T$ est assez problématique car les deux fonctions ne sont pas définies sur les mêmes supports donc il est nécessaire d'interpoler I sur \mathbb{R}_J^n . Cette opération nous permettra de manipuler de façon indistincte l'image I et l'image $I_{\mathbb{R}}$ définie de la façon suivante :

$$I_{\mathbb{R}} : \mathbb{R}_J^n \rightarrow \mathbb{R} \text{ avec } I_{\mathbb{R}} : \mathbf{x} \mapsto \begin{cases} I(\mathbf{x}) & \text{si } \mathbf{x} \in \mathbb{Z}_I^n, \\ f(I(\mathcal{N}_{\mathbb{Z}}(\mathbf{x}))) & \text{si } \mathbf{x} \in \mathbb{R}_J^n \setminus \mathbb{Z}_I^n, \end{cases} \quad (3.1)$$

où $\mathcal{N}_{\mathbb{Z}}(\mathbf{x})$ définit les voisins de \mathbf{x} dans \mathbb{Z}_I^n et f une fonction d'interpolation.

À partir de cette définition d'une image il est possible de mettre en place un recalage de type iconique qui utilisera les niveaux de gris pour comparer directement les deux instances de l'objet via des critères de similarité robuste [147] et des processus d'optimisation performants [67]. On remarque dans la littérature que ce sont ces méthodes les plus utilisées actuellement dans le

domaine biomédical que se soit en mono modalité ou multi modalité¹. Les méthodes précédentes (d'un point de vue historique), qui ont pour avantage un coût calculatoire plus faible, se basent de leur côté sur des informations extraites de l'image. Ces primitives géométriques obtenues par segmentation de l'image peuvent prendre plusieurs formes que nous détaillerons. Ces méthodes dites géométriques découlent dans le cas le plus simple des méthodes manuelles. Le caractère géométrique de ces méthodes en fait l'approche naturelle pour incorporer une information a priori dans le processus de recalage. Il est par contre nécessaire de bien définir les propriétés des primitives ou amers géométriques par rapport aux familles de transformations considérées.

Pour les méthodes iconiques, le critère de similarité nécessite souvent l'ajout de contraintes ad hoc pour assurer la régularité et le difféomorphisme de la transformation estimée car on s'appuie uniquement sur les niveaux de gris de l'image. En assurant le difféomorphisme de T on impose les propriétés d'inversibilité et de régularité qui peuvent être particulièrement intéressantes. Les méthodes géométriques par contre séparent la recherche de la transformation entre un problème d'appariement des primitives et une interpolation de la transformation à partir des couples formés. Ces deux approches combinées, dans de plus en plus d'études, font appel à de multiples méthodes d'optimisation pour assurer l'optimalité de la solution fournie.

Ces développements ainsi que l'augmentation des capacités de calcul ont permis de sortir du cadre classique du recalage cérébrale au cours du temps ou bien sur une population pour proposer de nouvelles applications comme la fusion PET/CT pour combiner modalité anatomique et fonctionnelle [32] ou bien le suivi par microscopie confocal *in situ* de tissus [189].

Dans notre cas, nous nous baserons sur ces techniques dites *pairwise* pour chercher à déterminer au cours de la séquence une série de transformations entre les données des flux d'images $\{I_i = \{V_i, O_i\}\}_{i=1}^N$. Au vu des données fournies par le dispositif (cf. 2), l'approche la plus évidente est de ne considérer que le flux vidéo $\{V_i\}_{i=1}^N$ pour déterminer la transformation entre deux trames. Ce flux est composé des niveaux de gris d'une trame mais aussi des informations géométriques fournies par les marqueurs dessinés sur le corps de la souris. La figure 3.1 illustre le schéma mis en place pour déterminer les transformations nécessaires à la fusion des flux (eq. 2.3). Cette approche correspond à des problématiques rencontrées en recalage *pairwise*

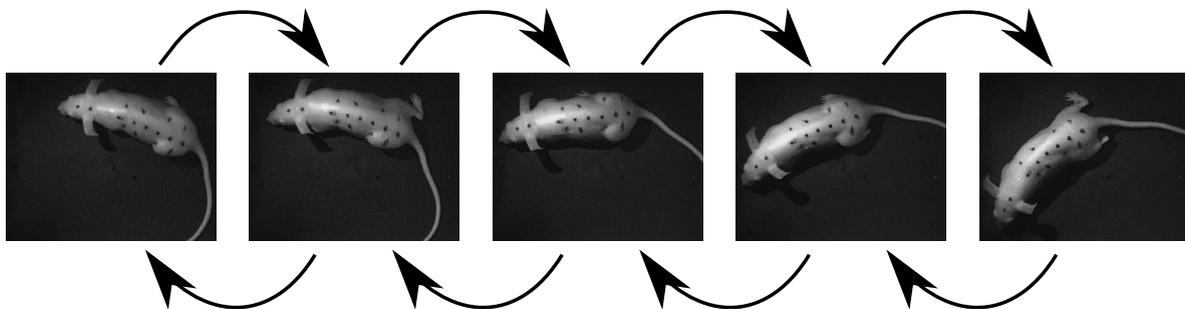


FIGURE 3.1 – Approche séquentielle associée à la fusion de données *in actio*.

d'où l'intérêt de mettre en avant les solutions proposées dans le but de justifier notre propre modélisation du problème.

1. Il est alors nécessaire de modéliser de façon plus ou moins complexe le lien entre les mesures effectuées par différents capteurs physiques.

3.2 État de l'art du recalage *pairwise*

Le cas où l'on cherche à recaler une image vers une autre est le cas le plus fréquent en imagerie médicale et il peut se formaliser mathématiquement par la formule suivante que nous expliciterons plus en détail dans cette section :

$$\hat{T} = \arg \max_{T \in \mathcal{T}} \rho(I, J, T) \quad (3.2)$$

Le recalage consiste donc à trouver la transformation optimale \hat{T} , dans la famille de transformation \mathcal{T} , qui permet d'aligner les formes portées par I sur celles de J . ρ définit une fonction de mesure de la qualité d'une transformation T pour le couple de formes de I et J soit directement soit via une représentation particulière des instances associées. Cette mesure de qualité, ou mesure de similarité, qui permet de comparer deux transformations, a une place importante dans les problèmes de recalage au même titre que la famille de transformations utilisées. La solution de ce problème généralement mal posé s'approche par des techniques tant dans le domaine continu que discret offrant chacune des propriétés d'optimalité acceptables. Il convient donc de décrire les trois différentes modélisations mises en place pour résoudre les problèmes de recalage :

- la représentation d'une forme à partir d'une image I (dans notre cas $I = V_i$ et $J = V_{i+1}$),
- le modèle de transformation qui permettra de déterminer $T_{i \rightarrow j}$,
- le critère de similarité.

3.2.1 Représentation de la forme

En parallèle des méthodes iconiques, qui se basent uniquement sur les intensités des couples d'images, diverses représentations de la forme extraite de l'image ont été mises en œuvre. Ces méthodes nécessitent donc une étape de segmentation. Cette étape permet d'identifier dans les images les éléments discriminants sous la forme de points, courbes, lignes, surface ou hypersurface, etc. On peut considérer qu'elle sera performante à partir du moment où elle aura pu identifier et individualiser un ensemble d'éléments qui seront représentatifs des objets considérés et invariant par rapport au modèle de transformation considéré.

Différentes représentations ont été proposées dans la littérature pour décrire mathématiquement de façon minimale et souple une forme géométrique. Toutefois ce problème reste ouvert dans de nombreux domaines scientifiques. En effet le but commun pour chacune des représentations proposées est de définir une forme avec des propriétés mathématiques compatibles avec des systèmes de calcul informatique (temps de calcul, manipulation vectorielle ou matricielle, etc). De plus identifier de façon précise et discriminatoire une forme dans une image reste problématique pour trois raisons qui sont liées aux processus d'acquisition :

- les images 2D sont le résultat d'acquisitions d'objets 3D et donc génératrices d'occlusions. De plus différentes acquisitions d'un même objet peuvent conduire à des images 2D semblables voire identiques. Les représentations utilisées doivent donc permettre de gérer ces vues dégénérées de l'objet et d'assurer l'unicité entre instance et représentation de l'objet.
- chaque processus d'acquisition génère son propre bruit qui va perturber l'instance observée de l'objet. Il sera alors difficile de discriminer deux instances bruitées. Il sera donc nécessaire de rendre robuste la représentation mathématique utilisée en tenant compte de l'application visée.

- l'identification des primitives doit se faire si possible sur des informations géométriques ou anatomiques de l'objet contenu dans l'image. Cette contrainte permettra de calculer un champ de déformation qui aura une plus grande validité géométrique et anatomique.

L'ensemble de ces contraintes a conduit à différentes modélisations d'une forme géométrique.

Il est possible de classer ces modélisations par degré de complexité croissante :

- les descripteurs localisés qui à partir d'un ensemble de caractéristiques locales ou de fonction 1D identifient une surface. Ces éléments stockés généralement sous forme vectorielle sont sélectionnés pour leur propriété d'invariance par rapport à des familles de transformations. C'est pourquoi ils offrent une certaine robustesse dans les travaux de catégorisation ou de comparaison de formes.
- les modèles discrets permettent de représenter la forme à partir d'un ensemble de points de contrôle et leurs relations entre eux via des méthodes d'interpolation et de triangulation.
- les modèles continus sont une alternative intéressante aux approches discrètes car ils fournissent une forme continue et différentiable via l'utilisation de fonctions d'interpolation. Les méthodes de représentation implicite basées sur des fonctions de type *level set* offrent de plus des propriétés d'invariance et de géométrie particulièrement intéressantes.

Descripteurs localisés

Utilisés de façon courante en vision par ordinateur, les descripteurs localisés permettent de discriminer facilement deux objets différents et de classer une forme dans la catégorie d'objets associés. *Zhang et Lu* [213] fournissent une revue détaillée de ces opérateurs. Dans le cadre du recalage d'images médicales il est nécessaire de faire un tri dans ces méthodes et de ne sélectionner que celles qui peuvent fournir une configuration géométrique ou anatomique discriminante pour l'étape d'appariement. En effet c'est cette décimation qui sera porteuse d'information.

Généralement composées d'extremum locaux d'une mesure (points de courbure, d'inflexion, etc) ces primitives géométriques portent une information basée sur le concept d'invariance [209]. Dans le cas du cerveau, plusieurs primitives basées sur des caractéristiques anatomiques ont pu être utilisées pour produire des couples d'appariement plus robustes. Ces premières approches ont donné lieu à la création de l'algorithme ICP (*Iterative Closest Point*) [216] qui est bien connu dans la communauté de vision par ordinateur. En outre des techniques d'appariement d'amers iconiques selon le même principe ont fourni des résultats particulièrement pertinents [137].

D'autres techniques ont été mises au point pour enrichir les primitives d'informations discriminantes. Les techniques de *shape context* [19], *shape signature*, *linear scale space* [6] et autres ont permis, à partir respectivement de l'intensité, d'une fonction 1D et de l'inflexion locale d'une courbe de contour, de représenter une forme géométrique. On peut s'intéresser aux techniques de *shape context* pour montrer les performances de l'approche géométrique. Ce descripteur fournit pour chaque point d'un contour ou d'une surface discrétisé une description de sa relation avec chacun des autres points du contour ou de la surface. Ces relations sont décrites chacune sous la forme d'un histogramme lié aux coordonnées polaires du segment (Fig. 3.2-A et B). Ces histogrammes sont stockés sous la forme d'un vecteur décrivant la forme avec des propriétés d'invariance de translation et de rotation. Ce type de descripteur a été étendu à la 3D [183] (Fig. 3.2-A), en restreignant la rotation 3D pour conserver l'invariance, ainsi que dans le domaine de l'imagerie préclinique [205](Fig. 3.2-C).

Des méthodes moins généralistes ont été mises en œuvre pour tenter d'analyser la structure

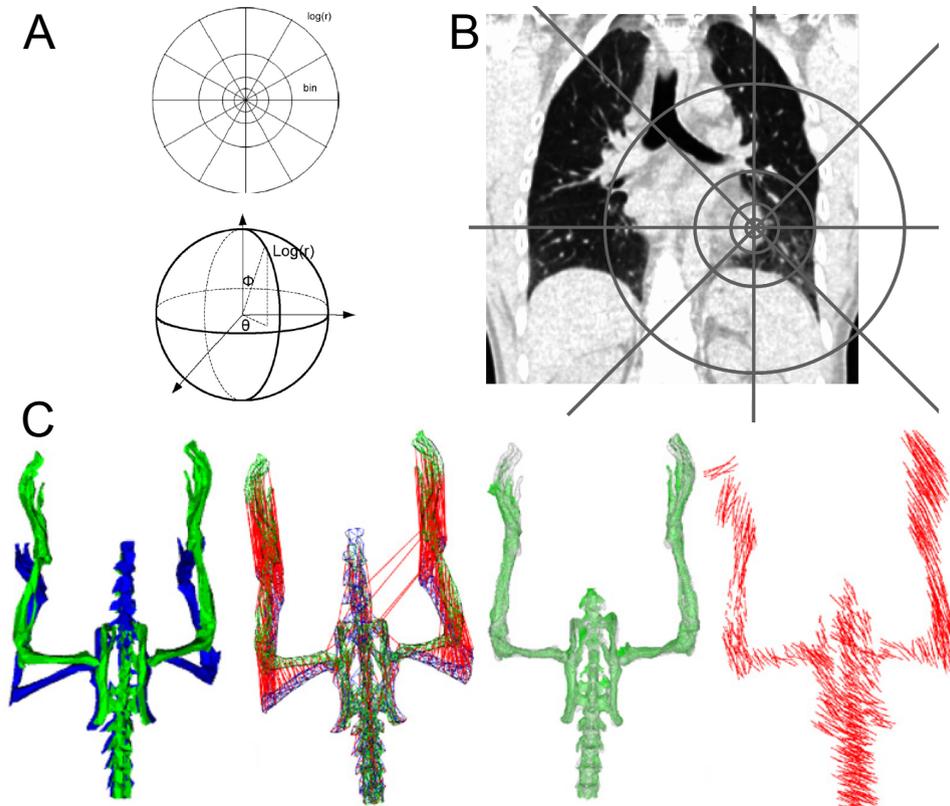


FIGURE 3.2 – Recalage basé sur les techniques *shape context*. (A) Représentations 2D et 3D du principe de collecte des informations par le *shape context*. (B) Utilisation du *shape context* dans le cadre du recalage de structures pulmonaires [183]. (C) Recalage 3D géométrique de squelette murin ou de rat avec des descripteurs basés sur le *shape context* [205] (de gauche à droite : les deux squelettes initiaux, les appariements initiaux, le résultat final avec les vecteurs de déformation).

de la forme géométrique considérée. Les techniques de recalage d'axe médian ou de squelette topologique ont un certain succès pour aligner des objets de type arbre vasculaire ou ensemble de vertèbres. Malgré des propriétés compatibles avec une représentation sous forme de graphe, le potentiel de ces méthodes restent assez restreint du fait de leur sensibilité au bruit [120].

Même si la diversité des techniques mises en œuvre est assez importante, ces techniques sont assez peu adaptées à un recalage précis de couples d'images mais sont communément utilisées pour classer des instances dans des catégories d'objets. De plus le caractère local de la déformation s'obtient en augmentant le densité de descripteurs ce qui peut être gênant pour l'étape d'appariement obligatoire en recalage géométrique et le temps de calcul.

Modèle géométrique discret

Les modèles discrets vont permettre d'encoder l'évolution d'une forme extraite de façon numérique via un lien explicite avec le déplacement des points de contrôle. L'ajout à ce modèle d'un terme de régularisation permet de gérer les problèmes de topologie. Dans ces modèles, chacun des sommets les composant est connecté à ces voisins avec une relation d'évolution

explicite.

Les représentations sous la forme de *simplex meshes* sont souvent utilisées en imagerie médicale particulièrement pour la segmentation et le tracking de structures cardiaques [129]. Des approches différentes font de leur côté évoluer ces modèles déformables grâce à des modèles physiques [132]. Ces approches sont souvent combinées à des techniques de filtrage particulière pour suivre des organes dans le cadre d'un suivi spatio-temporel.

Les méthodes actuels de segmentation d'images fournissent des modèles discrets pouvant générer des surfaces continues et différentiables. Ces paramétrisations de la surface sont pour la plupart adaptées du monde de la CAD à l'imagerie médicale pour le tracking de contour. *Branson et Belongie* ont utilisé ce type de paramétrisation de contour (B-spline) pour suivre des souris en cage avec un modèle affine de transformation [26](Fig. 3.3).

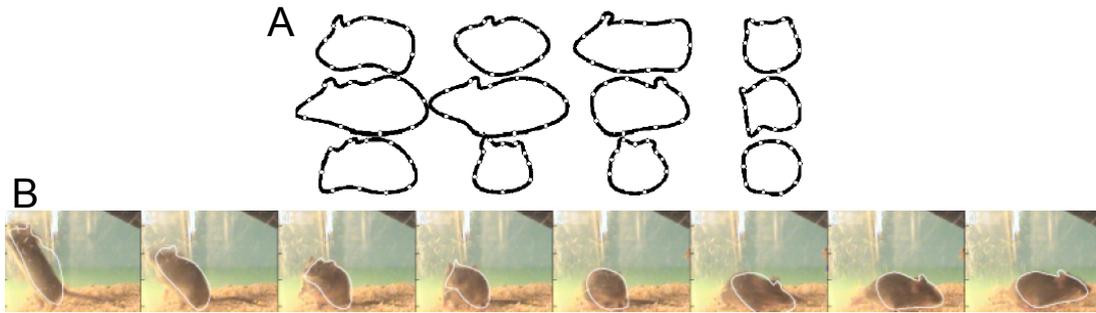


FIGURE 3.3 – Suivi de souris en cage à partir de modèles déformables. (A) Liste des contours utilisés pour représenter la souris. (B) Suivi de la souris en combinant contours déformables et modèle de déformation affine.

Même si les modèles déformables discrets offrent un compromis raisonnable entre complexité et précision géométrique, ils leur sont généralement difficiles de déterminer la géométrie locale de la forme, particulièrement dans le cas du suivi d'un animal [182].

Modèle géométrique continu

Les modèles continus génèrent quant à eux des représentations dans lesquelles les dérivées spatiales peuvent être calculées en chaque point du contour ou de la surface. Dans un second temps pour des considérations d'implémentations, ces représentations seront discrétisées. Les *snakes* décrits par *Terzopoulos et Kass* [95] sont peut être l'un des modèles les plus utilisés en traitement d'images de par leur simplicité. En effet le contour sera modélisé sous la forme d'une courbe paramétrique qui servira de base à la minimisation d'une énergie construite sur les données de l'image. Rapidement étendus à la 3D, les *snakes* sont utilisés intensivement en imagerie médicale.

D'un autre côté les représentations implicites fournissent une paramétrisation complète et naturelle d'une forme. En effet avec cette approche on considère une fonction scalaire f définie sur Ω , correspondant au domaine de l'image, qui représente la forme \mathcal{S} de la manière suivante :

$$\mathcal{S} = \{\mathbf{x} \in \mathbb{R}^n : f(\mathbf{x}) \leq 0\} \quad (3.3)$$

Sur le même principe, on utilise ce type de représentation pour définir un contour ou une

surface :

$$\mathcal{B} = \{\mathbf{x} \in \mathbb{R}^n : f(\mathbf{x}) = 0\} \quad (3.4)$$

Ce type de représentation implicite fournit des hypersurfaces pour chaque image à recaler en se fixant autour de la structure étudiée. L'objectif sera alors de déformer l'une des fonctions sur l'autre pour permettre la correspondance entre les deux images. Dans le cas de données 3D des contraintes sont ajoutées à f pour limiter son coût calculatoire et pour rendre ces méthodes aussi efficaces que celles explicites. Les surfaces algébriques basées sur des fonctions polynomiales représentent un choix possible mais généralement les méthodes basées sur des cartes de distances euclidiennes sont plus pratiques.

Ces cartes de distances sont construites à partir d'une fonction de distance signée entre chaque élément du domaine de l'image et le contour de la forme. Cette fonction permet d'expliquer l'équation 3.3 de la façon suivante :

$$\phi_{\mathcal{S}}(\mathbf{x}) = \begin{cases} 0 & \text{si } \mathbf{x} \in \mathcal{B} \\ -\mathcal{D}(\mathbf{x}, \mathcal{S}) & \text{si } \mathbf{x} \in \mathcal{S} \\ \mathcal{D}(\mathbf{x}, \mathcal{S}) & \text{si } \mathbf{x} \in [\Omega - \mathcal{S}] \end{cases} \quad \text{avec } \mathcal{D}(\mathbf{x}, \mathcal{S}) = \min_{\mathbf{y} \in \mathcal{S}} \{\|\mathbf{x} - \mathbf{y}\|_2\} \quad (3.5)$$

Différentes méthodes d'évaluation, de façon approchée [24] ou non, de la carte de distance [57] ont été mises en œuvre pour différentes applications en vision par ordinateur [136]. En effet ce type de représentations par ensemble de niveaux ou *level set* est largement utilisé pour la segmentation de formes tout particulièrement en imagerie médicale [121]. L'absence de paramétrisation et la gestion des changements de topologie en font une technique appropriée pour le recalage de deux instances d'une forme. À partir des travaux de *Borgefors* [25] sur le recalage de chanfrein diverses évolutions ont permis d'augmenter l'efficacité calculatoire et de préserver les contraintes de validité de la distance lors d'approches itératives [140].

Les avantages de cette représentation dans le cadre d'un problème de recalage sont liés au fait que \mathcal{D} est une fonction de norme unitaire et son gradient est défini partout sauf au niveau du squelette et possède une norme unitaire. De même cette représentation est invariante pour des transformations rigides et des homothéties [141]. Dans le cas de petites déformations locales, cette représentation reste stable [220] et respecte les critères décrits au début de cette section. En effet de petites variations locales du contour ou de la surface dans un rayon limité engendre des variations limitées d'une mesure aux moindres carrés entre deux cartes de distances. C'est pourquoi les problèmes de recalage sont particulièrement bien définis dans ce genre de représentations surtout dans le cadre des approches de minimisation par descente de gradient. En outre on verra qu'il est possible d'imposer des contraintes de régularité lors du recalage de structures de type *level set*.

La représentation de l'instance de l'objet n'est pas utilisable pour le recalage si un modèle de déformation ne lui est pas associé. Certains des modèles intègrent directement des méthodes internes d'évolution mais généralement dans le domaine du recalage d'images médicales il est nécessaire d'appliquer des modèles externes de déformations. Ces modèles dits déformables sont liés à différentes classes de transformations qui permettent de prendre en compte tant des déformations globales que locales.

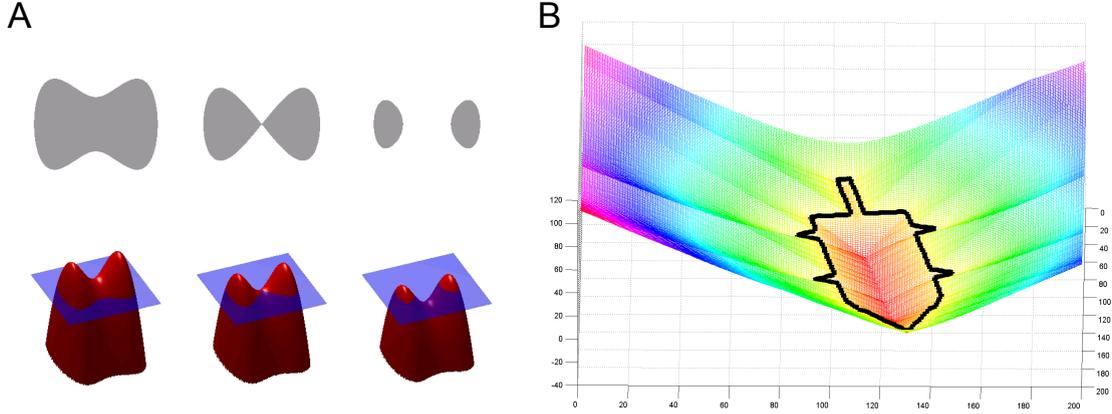


FIGURE 3.4 – Modélisation implicite d'une forme. (A) Changement topologique dans une représentation de type *level set*. (B) Affichage d'une carte de distance et du contour associés à une forme.

3.2.2 Modèle de déformation

Les différentes transformations utilisées pour déterminer les variations spatiales d'une forme sont généralement classées selon les degrés de libertés des modèles sous-jacents. D'un point de vue mathématique ces approches peuvent en outre se classer selon leur caractère paramétrique ou non. Les modèles non paramétriques permettent généralement de mieux gérer les grandes déformations [40] induites par exemple par des tumeurs [83]. Dans notre cas nous nous concentrerons sur les modèles paramétriques qui peuvent fournir des résultats similaires en combinant points de contrôle, fonction d'interpolation et méthodes hiérarchiques. Les transformations spatiales étant généralement indépendantes des différentes paramétrisations utilisées pour modéliser la forme, il est possible de formuler de façon générale les fonctions qui transportent une instance \mathcal{S}_1 vers une autre notée \mathcal{S}_2 . Ces fonctions agiront sur tous les éléments du domaine Ω d'une image définie par l'équation 3.1. Dans le cas d'une déformation paramétrique basée sur un vecteur de paramètres Θ , cette transformation se définit de la façon suivante :

$$\begin{aligned} T : \mathbb{R}^n \times \Omega &\rightarrow \Omega \\ (\Theta, \mathbf{x}) &\mapsto \mathbf{x}_T = T(\Theta, \mathbf{x}) \end{aligned} \quad (3.6)$$

Le problème de recalage de deux instances d'une forme peut alors se reformuler à partir de l'équation 3.2 :

$$\hat{\Theta} = \arg \min_{\Theta} \rho(T(\Theta, \mathcal{S}_1), \mathcal{S}_2) \quad (3.7)$$

Les éléments de Θ et leurs relations internes définissent les degrés de liberté du modèle et son caractère linéaire ou non. De plus le lien entre ces éléments et leur influence sur l'image définissent le caractère global ou local de la déformation. En effet si la modification d'un des éléments affecte l'ensemble de l'image alors on pourra parler de transformation globale (Fig. 3.5-A). Dans le cas où seule une zone de l'image est déformée alors la transformation sera dite locale. Les éléments de Θ représentent alors le déplacement de points de contrôle sous la forme des coordonnées des vecteurs de déplacement (Fig. 3.5-B).

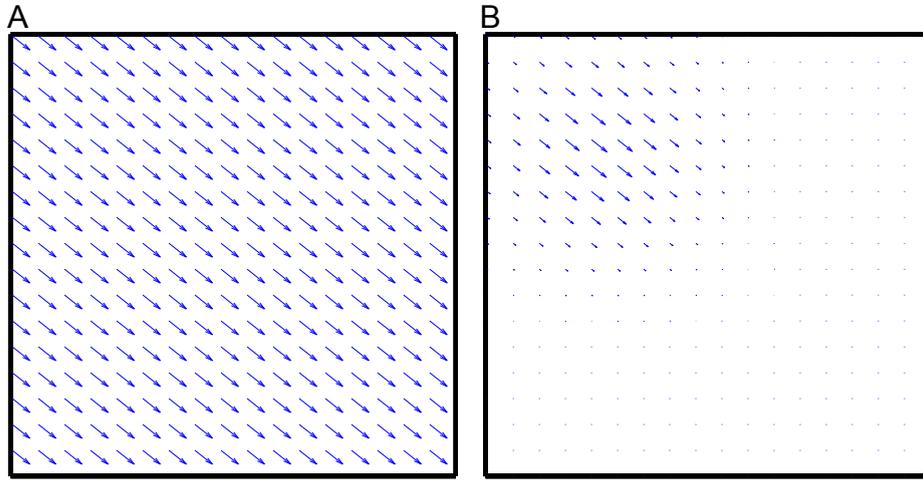


FIGURE 3.5 – Champs de déformation local et global. (A) Exemple de transformation globale : translation. (B) Exemple de transformation locale : déplacement d'un point de contrôle dans un modèle B-spline.

Transformation Globale

Le recalage global d'une image sur l'autre se définit comme le déplacement de l'ensemble des éléments de l'images (intensité de l'image ou représentation de la surface) avec le même modèle linéaire. Dans le domaine de l'imagerie médicale les modèles de transformations rigides sont utilisés pour la fusion d'images de différentes modalités et comme étape préliminaire au recalage non-rigide. Ils permettent généralement de corriger les variations de pose de l'objet étudié. Les translations, rotations, transformations affines ou homographiques sont les modèles de déformations globales les plus couramment utilisés. Les deux premiers modèles sont de type rigides et s'expriment en 2D de manière classique :

$$\mathbf{x}_T = \mathbf{R} \cdot \mathbf{x} + \mathbf{t} \text{ avec } \mathbf{R} = \begin{bmatrix} \cos \alpha & -\sin \alpha \\ \sin \alpha & \cos \alpha \end{bmatrix} \text{ et } \mathbf{t} = \begin{bmatrix} t_x \\ t_y \end{bmatrix} \quad (3.8)$$

Il est à noter que choisir le centre de l'objet comme centre de la rotation permet de faciliter la convergence de la phase d'optimisation. En assurant un maximum d'appariement de primitives ou la richesse des niveaux gris, on fournit suffisamment de contraintes, au vu des trois degrés de liberté de l'équation 3.7, pour garantir l'optimalité de la solution. Il est assez simple d'ajouter à ce modèle, deux nouveaux degrés de liberté qui vont permettre de prendre en compte les facteurs d'échelle selon les axes principaux (Fig. 3.6). Chaque pixel de l'image est alors projeté dans un système de coordonnées homogènes $\mathbf{x} = [x \ y \ 1]$ ou l'on peut formuler cette transformation sous une forme matricielle :

$$\mathbf{x}_T = \mathbf{A} \cdot \mathbf{x} \text{ avec } \mathbf{A} = \begin{bmatrix} a \cos \alpha & -\sin \alpha & t_x \\ \sin \alpha & b \cos \alpha & t_y \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (3.9)$$

Dans ce même système de coordonnées homogènes, il est possible de modéliser des transformations plus complexes de type homographique utilisables par exemple pour aligner différentes

vues dans des systèmes multi-caméras. De plus *Paragios et al.* [140] ont montré que les modèles de déformations affines sont particulièrement compatibles avec les représentations implicites de type *level set*.

Étendre ces transformations en 3D dans le cadre du recalage nécessite de s'affranchir de la représentation classique d'une rotation par composition de matrices orthogonales basées sur les angles d'Euler. En effet cette modélisation fournit une matrice complexe dans laquelle les trois angles d'Euler sont interdépendants ce qui a conduit à privilégier des expressions vectorielles ou matricielles. Il est alors possible d'exprimer la rotation 3D sous la forme d'une exponentielle liant l'angle voulu à son axe unitaire de rotation [130]. Les quaternions [1] sont une autre représentation d'une rotation 3D qui permet une composition facile de petites rotations dans un schéma itératif. De plus ces deux représentations permettent de définir des expressions de rotations 3D dérivables et indépendantes des angles d'Euler des modélisations classiques.

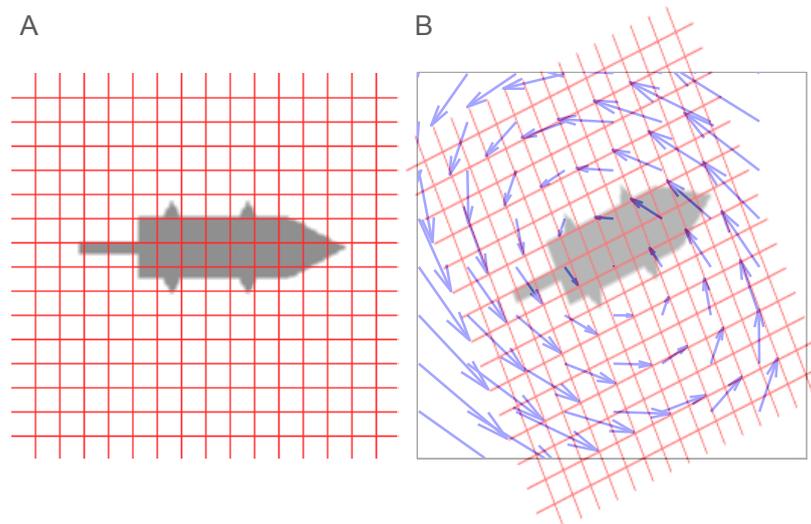


FIGURE 3.6 – Transformation globale : (A) Identité, (B) Transformation affine (image déformée et le champ vectoriel de déformation associé).

Particulièrement utile pour modéliser les biais phénotypiques inter-individus ou bien de positionnement de macro-structure, ces modèles ont du mal à prendre en compte les mouvements plus complexes entre instances. Avec des approches par blocs [137] ces modèles peuvent toutefois fournir des approximations acceptables de mouvements locaux. Cependant pour déterminer plus précisément des mouvements complexes de tissus ou des déformations complexes, de nombreuses approches ont été proposées rendant populaires les modèles non rigides.

Transformation Locale

Ces modélisations sont particulièrement intéressantes puisque qu'elles permettent de déplacer jusqu'à chacun des pixels ou voxels de l'image individuellement. Généralement exprimées à partir d'un ensemble de points de contrôle et de fonctions d'interpolation, elles permettent de manipuler à moindre coût calculatoire des problèmes de recalage dense. Ces modèles cherchent à prendre en compte tant le caractère global que local de la déformation ainsi que sa régularité pour respecter le caractère physique et donc continu du champ de déplacement.

Pour être exhaustif différents modèles ont été proposés mais ils partagent tous le caractère mal posé de leur formulation vis à vis de leur grand nombre de degrés de libertés. Il est donc nécessaire d'adjoindre au modèle choisi des contraintes de régularité pour assurer l'unicité et l'optimalité de la solution fournie. Ces contraintes de régularisation peuvent se baser sur des contraintes physiques sous jacentes à la structure transformée (modèles dits réalistes) ou non (modèles dits *free-form*). Le premier groupe de modèles comprend les modèles élastiques introduits par *Bajcsy et Kovacic* [13] appliqués dans le recalage de différentes structures ou dans la création d'atlas [12, 46, 167] et les modèles fluides [28, 45]. Ces modèles sont particulièrement lourds à mettre en œuvre par rapport au gain espéré en comparaison des modèles *free-form*.

Le choix le plus simple pour modéliser le champ de déformation dans les modèles *free-form* est basé sur le concept de flot optique (*optical flow*) [84] appliqué au recalage d'image. Dans ce cas on peut modéliser le mouvement sous la forme d'un ensemble de vecteurs (\mathbf{u}, \mathbf{v}) appliqué à chaque élément de l'image ou du volume :

$$\mathbf{x}_T = \mathbf{x} + \begin{bmatrix} \mathbf{u} \\ \mathbf{v} \end{bmatrix} \quad (3.10)$$

Cependant au vu de cette formulation le problème de recalage de l'équation 3.7 se trouve être sous dimensionné pour des modèles de déformations locales. C'est particulièrement vraie dans le cas de la méthode *optical flow* car il est uniquement possible de déterminer précisément la composante normale du mouvement (*aperture problem*). Pour lisser le champ de déformation, on va alors chercher à contraindre le déplacement dans le plan de l'image avec l'ajout d'un nouveau terme à l'équation 3.7 :

$$E_{reg} = \int \|\nabla \mathbf{u}\|^2 + \|\nabla \mathbf{v}\|^2 d\mathbf{x} \quad (3.11)$$

Ce terme de lissage est l'une des façons de contraindre la déformation à être régulière et est généralement typique du modèle associé. Cependant leur but commun est de préserver le caractère inversible de la transformation au cours du recalage et par conséquent la topologie de l'objet transformé.

Les versions paramétriques de ces modèles *free form* sont basées sur l'interpolation du champ de déformation à partir des déplacements d'un ensemble de points de contrôle. Ces points de contrôle vont influencer le déplacement des éléments de l'image ou du volume dans un certain voisinage. Ces points peuvent être répartis de façon plus ou moins homogènes sur le domaine de l'image. De ce point de vue, estimer les paramètres de ces modèles revient à déterminer une fonction inconnue en fonction d'un nombre fini de ses valeurs dans un espace de dimension n . Cette fonction représentera le champ de déformation appliqué aux coordonnées spatiales de l'instance ou de sa modélisation. Si l'on considère un ensemble de points de contrôle $\{P_i\}_{i=1}^m$ et l'ensemble de points $\{P_i^T\}_{i=1}^m$ associés dans l'image transformée, le problème d'approximer la fonction f de déformation vectorielle se résume à la minimisation de la fonctionnelle suivante :

$$\mathcal{H}(f) = \sum_{i=1}^M \|f(P_i) - P_i^T\|_2^2 + \lambda E_{reg}(f) \quad (3.12)$$

Plusieurs termes de lissage ont été proposés permettant une interpolation plus ou moins exacte de la fonction f sur des grilles de points de contrôle plus ou moins régulières. Nous présenterons les plus populaires dans le domaine de l'imagerie médicale et que nous avons pu mettre en œuvre au cours de cette thèse.

Free Form Deformations : Les transformations de type *Free Form Deformation* (FFD) ont été introduites par *Sederberg et al.* [164] pour modéliser les déformations d'une grille régulière par une combinaison linéaire de fonction spline. Ces fonctions sont souvent de type B-spline car elles permettent alors un contrôle local via des combinaisons linéaires de fonctions polynomiales non-négatives à support compact minimal. Les déplacements des points de contrôle de $\{P_i\}_{i=1}^m$ vers $\{P_i^T\}_{i=1}^m$ sont alors interpolés de manière \mathcal{C}^2 continue et régulière. Ce modèle paramétrique de déformation est utilisé communément en recalage d'images médicales [126, 153, 159]. Il est particulièrement facile à associer avec un modèle hiérarchique de déformation pour assurer le difféomorphisme de la transformation [158].

Dans le cas d'une transformation 2D, applicable à notre problème, T est définie sur une grille régulière Φ de points uniformément espacés $\{\phi_{i,j}\}_{i=0,j=0}^{n_x-1,n_y-1}$, où n_x et n_y sont respectivement les nombres de points de contrôle de la grille dans les directions x et y . Les points de contrôle sont régulièrement espacés de δ_x et δ_y et influencent chacun des pixels \mathbf{x} de l'image contenus dans cette espace délimité autour d'eux. En conséquence, pour chaque pixel \mathbf{x} son vecteur de déformation est défini par le produit tensoriel des 4×4 points de contrôle voisins de celui d'indices i et j :

$$T(\mathbf{x}) = \sum_{l=0}^3 \sum_{m=0}^3 B_l(u)B_m(v)\phi_{i+l,j+m}. \quad (3.13)$$

Dans cette formulation, $u = x/\delta_x - 1$ et $v = y/\delta_y - 1$ représentent les coordonnées relatives du pixel \mathbf{x} dans la cellule englobante (Fig. 3.7). B_r représente quant à elle la r -ième fonction B-Spline :

$$\begin{aligned} B_0(t) &= (-t^3 + 3t^2 - 3t + 1)/6 \\ B_1(t) &= (3t^3 - 6t^2 + 4)/6 \\ B_2(t) &= (-3t^3 + 3t^2 + 3t + 1)/6 \\ B_3(t) &= t^3/6 \end{aligned} \quad (3.14)$$

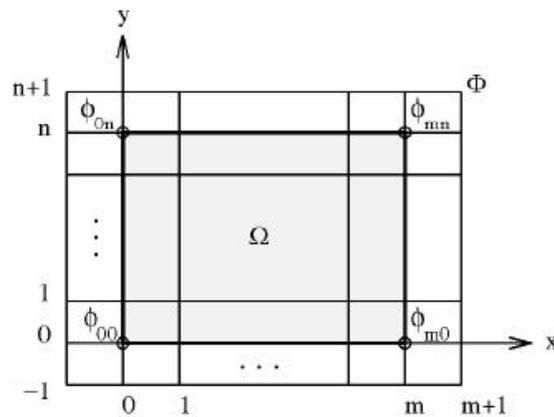


FIGURE 3.7 – Paramétrisation d'une cellule de points de contrôle pour une déformation FFD.

On peut constater que la transformation résultante T n'est pas un difféomorphisme dans ces conditions car $T(P_i) \neq P_i^T$. Ceci est principalement dû au concept d'approximation sous-jacent aux B-Splines. Lee et al. [108] ont montré que sous certaines contraintes (limitation du

déplacement maximum autorisé des points de contrôle) il est possible d'envisager de récupérer cette propriété de difféomorphisme. De plus avec l'ajout d'un terme de régularité basé sur l'équation 3.11 on peut obtenir une transformation lissée ayant une signification biologique plus importante. Cette propriété de difféomorphisme combinée à la \mathcal{C}^2 -continuité permet de manipuler cette modélisation de façon aisée dans divers processus de minimisation (tant variationnels que discrets). Nous verrons ce dernier point de façon plus précise dans le chapitre 4.

Les principaux désavantages des FFD sont liés aux contraintes imposées sur le positionnement des points de contrôle. En effet ceux ci doivent être régulièrement espacés dans le domaine Ω alors même que généralement l'instance observée n'en occupe qu'une partie. On obtient alors des points dont l'influence est faible sur la déformation de la forme contenue dans l'image et qui sont sujets à une plus grande variabilité. C'est encore plus significatif dans le cas d'une modélisation de type *level set* dans laquelle l'invariance est restreinte au voisinage du contour. On peut constater alors qu'un grand nombre de points de contrôle n'ont une influence que sur le coût calculatoire de la méthode.

On peut donc envisager de modéliser les déformations non rigides avec un modèle de déformation qui ne prendrait en compte que des points de contrôle autour du contour.

Thin Plates Splines : Les transformations de type *Thin Plate Splines* (TPS) sont l'une des modélisations possibles vis à vis du problème d'interpolation présenté plus haut. En effet ces fonctions splines, introduites par *Bookstein* [23], fournissent une approche intéressante pour modéliser des déformations à partir de couples de marqueurs. C'est pourquoi elles furent utilisées premièrement dans des problèmes où l'étape d'appariement était déjà effectuée car elles assurent la superposition exacte de \mathbf{P} vers \mathbf{P}^T . Comme toutes fonctions RBF (*Radial Basis Functions*) [3], les TPS permettent d'interpoler une fonction f via une combinaison de fonctions radiales symétriques G dont le centre se trouve être un point de contrôle :

$$f(\mathbf{x}) = \sum_{b=1}^{N_P} w_b G(\|\mathbf{x} - \mathbf{P}\|) \quad (3.15)$$

Dans cette équation $\|\cdot\|$ représente la distance euclidienne et les w_b représentent les poids de la combinaison linéaire des fonctions radiales. Plusieurs noyaux ont été proposés pour modéliser ces fonctions radiales : noyau gaussien, fonctions quadratiques et TPS. Ces dernières prennent en compte le caractère global de la transformation T :

$$T_{\text{TPS}}(\mathbf{x}) = \mathbf{A} \cdot \mathbf{x} + \sum_{b=1}^{N_P} \mathbf{w}_b \cdot G_{\text{TPS}}(\|\mathbf{x} - \mathbf{P}\|) \text{ avec } G_{\text{TPS}} = r^2 \log r^2 \quad (3.16)$$

La matrice \mathbf{A} représente quant à elle la partie globale de la transformation appliquée à \mathbf{x} . Les paramètres Θ à déterminer dans le problème d'optimisation de l'équation 3.7 sont donc l'union des paramètres de \mathbf{A} et les poids $\mathbf{W} = \{\mathbf{w}_b = [w_b^x \ w_b^y \ 0]\}_{b=1}^{N_P}$. Ces paramètres sont aussi la solution [41] de l'équation linéaire suivante (en 2D) dans laquelle toutes les coordonnées sont exprimées dans un système affine :

$$\begin{bmatrix} \mathbf{K} & \mathbf{P} \\ \mathbf{P}^{\text{tr}} & \mathbf{0}_{3,3} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \mathbf{W} \\ a_{xx} & a_{yx} & 0 \\ a_{xy} & a_{yy} & 0 \\ a_x & a_y & 0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{P}^T \\ \mathbf{0}_{3,3} \end{bmatrix} \text{ avec } K_{i,j} = G_{\text{TPS}}(\|P_i - P_j\|) \quad (3.17)$$

On définit pour la suite \mathbf{L} comme étant la partie gauche de cette équation. Si l'on réécrit l'équation 3.16 avec ces notations, on obtient alors :

$$\mathbf{x}^T = \mathbf{A} \cdot \mathbf{x} + [G_{\text{TPS}}(\|\mathbf{x} - \mathbf{P}_1\|) \cdots G_{\text{TPS}}(\|\mathbf{x} - \mathbf{P}_{N_P}\|)] \cdot \mathbf{W} \quad (3.18)$$

Si maintenant on combine cette équation avec l'équation fondamentale des TPS (eq. 3.18) on obtient pour \mathbf{x}^T une expression linéaire en fonction du déplacement des points de contrôle :

$$\mathbf{x}^T = \tilde{\mathbf{K}} \cdot \begin{bmatrix} \mathbf{P}^T \\ \mathbf{0}_{3,3} \end{bmatrix} \text{ avec } \tilde{\mathbf{K}} = [G_{\text{TPS}}(\|\mathbf{x} - \mathbf{P}_1\|) \cdots G_{\text{TPS}}(\|\mathbf{x} - \mathbf{P}_{N_P}\|) \mid \mathbf{x}] \quad (3.19)$$

Cette formulation est particulièrement bien adaptée au cadre variationnel car la partie non-linéaire ne dépend que des positions initiales de \mathbf{x} et des points de contrôle \mathbf{P} . $\tilde{\mathbf{K}}$ peut donc être calculé une unique fois au début de l'algorithme d'optimisation. Pour assurer le lissage de la transformation, le terme de régularité est basé sur l'énergie de lissage des TPS [23]. Ce terme peut être réécrit en s'appuyant sur la démonstration de la solution du problème de régularisation à partir de la position des points de contrôle :

$$E_{\text{reg}}^{\text{TPS}}(\Theta) = \|\mathbf{W} \cdot \mathbf{K} \cdot \mathbf{W}^{tr}\|_F^2 = \|\mathbf{P}^T \cdot \mathbf{L}_N \cdot \mathbf{P}^{T,tr}\|_F^2 \quad (3.20)$$

\mathbf{L}_N est la matrice comprenant les termes de \mathbf{L} contenus dans les lignes et les colonnes de 1 à N_P . À partir de cette modélisation on peut reformuler l'équation 3.7 en y intégrant ce dernier terme :

$$\hat{\Theta} = \arg \min_{\Theta} \rho(T(\Theta, \mathcal{S}_1), \mathcal{S}_2) + \gamma E_{\text{reg}}(\Theta) \quad (3.21)$$

γ permet de pondérer la contribution du terme de régularisation vis à vis de la fonction de similarité entre les deux instances contenues dans les images. Ce paramètre évolue classiquement pour permettre d'augmenter le caractère local de la déformation lors de l'optimisation.

Il est à noter que ce cadre d'optimisation est particulièrement adapté au recalage géométrique si l'on fixe comme points de contrôle les points basés sur des descripteurs locaux. Il convient alors de résoudre en parallèle le problème d'appariement. Les appariements peuvent être effectués grâce à la richesse des descripteurs utilisés ou bien être intégrés au processus de recalage [42]. Cette dernière solution permet de gérer les correspondances aberrantes qui peuvent apparaître lors de la détection des primitives géométriques. *Chui et Rangarajan* [42] ont mis au point un algorithme qui via l'intégration d'une matrice de correspondance non binaire (*softassign*) permet d'optimiser l'appariement des points via une méthode de recuit simulé en parallèle de la déformation de type TPS (TPS-RPM pour *Robust Point Matching*). Avec des images issues du flux vidéos, on peut extraire facilement la position des marqueurs disposés sur la peau de la souris et évaluer la transformation entre les deux instances de la souris (Fig. 3.8). Cependant malgré une sensibilité assez faible aux appariements aberrants et une garantie de convergence, cet algorithme par son temps de calcul assez important ne peut facilement s'intégrer dans une approche séquentielle.

3.2.3 Critère de similarité

La fonction de similarité entre deux instances est fortement liée à leurs représentations et à l'application associée, entraînant l'élaboration de diverses fonctions de mesure [145]. On

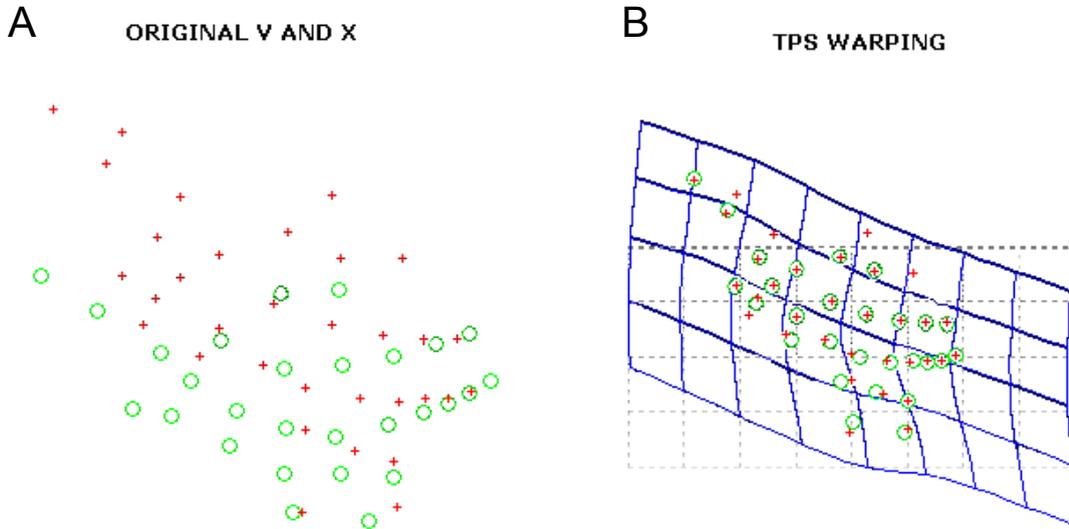


FIGURE 3.8 – Expériences avec l’algorithme TPS-RPM [42] : (A) les deux ensembles de points extraits du couple d’images. (B) Appariement final des couples de points et estimation de la transformation TPS associée.

constate cependant que la distance euclidienne est la manière la plus naturelle de comparer deux nuages de points indépendamment du modèle de transformation choisi ce qui est le cas dans les algorithmes TPS-RPM ou ICP (Iterative Closest Point). Les primitives géométriques plus complexes sont quant à elles comparées dans leur propre espace via les distances associées. Dans le cas des approches iconiques les critères de similarité se sont étoffés pour tenir compte des différentes relations possibles entre les intensités mesurées. En effet s’il existe une relation fonctionnelle entre les mesures enregistrées dans l’image on peut comparer les deux images avec des critères postulants différents types de relation. On va donc considérer pour cette section deux images I_1 et I_2 représentant de façon indistincte les niveaux de gris ou la carte de distance associée à une forme détectée dans l’image. I_1 joue le rôle d’image source tandis que I_2 celui de l’image cible.

Les approches les plus intuitives considèrent une conservation des intensités présentes dans les deux images. La somme des différences aux carrés (SDC) est peut être la plus populaire des méthodes mises en œuvre dans le domaine du recalage :

$$\rho_{\text{SDC}} = \int_{\Omega} (I_1(\mathbf{x}) - I_2(\mathbf{x}))^2 d\mathbf{x} \quad (3.22)$$

Cependant on constate que cette mesure a tendance à pondérer trop fortement les valeurs aberrantes. Cet effet peut être réduit en utilisant des M-estimateurs de type Beaton-Turkey, qui vont imposer une valeur de différence maximale, ou en choisissant une mesure de la somme des différences absolues (SDA) :

$$\rho_{\text{SDA}} = \int_{\Omega} |I_1(\mathbf{x}) - I_2(\mathbf{x})| d\mathbf{x} \quad (3.23)$$

Ces mesures ont le gros avantage d’être extrêmement rapide à calculer. Elles fournissent une approche satisfaisante que dans le cas de la conservation de l’intensité comme dans le cas du

calcul du flot optique. Cependant dans la majorité des cas, les conditions d'acquisitions ne sont pas totalement reproductibles d'une fois sur l'autre entraînant des biais plus ou moins linéaires dans les intensités. Si l'on considère une relation linéaire entre les intensités, on peut chercher à corrélérer les intensités normalisées présentes dans les deux images via le critère de corrélation normalisé :

$$\rho_{CCN} = \frac{1}{\sigma_{I_1} \sigma_{I_2} |\Omega|} \int_{\Omega} (I_1(\mathbf{x}) - \mu_{I_1}) - (I_2(\mathbf{x}) - \mu_{I_2}) d\mathbf{x} \quad (3.24)$$

Si l'on cherche à comparer des images dont les intensités ne sont pas reliées par des modèles explicites ce qui est le cas du recalage d'images contenant différentes structures ou provenant de différentes modalités, alors les critères statistiques prennent tout leur sens. Tout particulièrement ceux issus de la théorie de l'information. La mesure la plus utilisée dans ces conditions est en effet liée au concept d'information mutuelle appliquée au recalage d'image [191]. Ce critère d'information mutuelle normalisée (IMN) permet de comparer l'entropie jointe $H(\cdot, \cdot)$ des deux images à la somme des deux entropies $H(\cdot)$ liées à chaque image :

$$\rho_{IMN} = 2 - \frac{2H(I_1, I_2)}{H(I_1) + H(I_2)} \quad (3.25)$$

Ces mesures statistiques ont pour rôle de mesurer l'indépendance entre les intensités de deux pixels considérées comme des variables aléatoires. D'un point de vue pratique ces deux fonctions sont évaluées à partir respectivement de l'histogramme de l'image et de l'histogramme joint des deux images (sous la forme d'un histogramme 2D). En effet, les définitions de ces mesures font intervenir respectivement la probabilité p_i liée à la distribution des intensités dans l'histogramme de l'image et la probabilité $p_{i,j}$ liée à la distribution des intensités dans l'histogramme joint.

$$H(I) = - \sum_i p_i \log p_i \text{ et } H(I_1, I_2) = - \sum_i \sum_j p_{i,j} \log p_{i,j} \quad (3.26)$$

Cette fonction de similarité a été utilisée pour fusionner des mesures spatiales tant 2D que 3D provenant de systèmes d'acquisitions différents mais aussi dans le cadre du recalage de représentation implicite [85]. De plus la théorie de l'information mutuelle sous-jacente à ce critère de similarité deviendra une des clefs des méthodes de recalage de groupe d'images de façon simultanée (*groupwise* en anglais) [222].

3.2.4 Optimisation

L'optimisation de ces fonctions de similarité fait appel à une large gamme de méthodes d'optimisation : recherche exhaustive, descente de gradient, relation binaire, optimisation combinatoire, etc. Le but commun de toutes ces méthodes est de fournir les paramètres maximisant ou minimisant la fonction de similarité. Toutes ces techniques présentent des sensibilités plus ou moins importantes aux conditions initiales et des propriétés différentes d'accès à l'optimum global en fonction du modèle de transformation utilisé.

La plus simple d'entre toutes est d'évaluer le critère de similarité en différents valeurs de ses paramètres. Cette méthode de recherche exhaustive dans le voisinage des paramètres de l'état Θ_i peut être envisageable dans un cas rigide 2D où les degrés de libertés sont restreints à un angle de rotation et deux translations. La combinaison des paramètres fournissant le meilleur

résultat est sélectionnée et servira de point de départ à l'itération suivante. Au vu de son coût calculatoire dans le cas d'un modèle de transformation non rigide, cette méthode fut rapidement remplacée même si son principe ne doit pas être totalement occulté au vu du développement des méthodes discrètes d'optimisation combinatoire.

Dans le cas des modèles non-rigides que nous avons décrit, l'espace des paramètres devient extrêmement grand rendant difficile d'envisager atteindre avec les méthodes exhaustives le minimum global de la fonction. De plus la convexité de la fonction n'est généralement vraie que dans le voisinage du minimum global. Le nombre important de minima locaux créés par le bruit, les erreurs de segmentation, les appariements locaux et les approximations liées à l'interpolation ont conduit à l'élaboration de méthodes plus robustes d'optimisation.

Les techniques les plus populaires dans le cadre du recalage d'images sont basées sur l'approximation locale du critère de similarité par une fonction quadratique ou quasi-quadratique. Il est alors possible d'envisager d'utiliser des techniques de type *Downhill Simplex* ou *Powell* qui font abstraction des propriétés analytiques du critère. Cependant s'il est possible d'estimer le gradient de la fonction E , alors des algorithmes de type descente de gradient ou gradient conjugué peuvent être, malgré la non linéarité du recalage non rigide, des méthodes plus performantes. Dans ce cas à chaque itération les paramètres de l'étape suivante seront estimés dans la direction du gradient :

$$\Theta_{i+1} = \Theta_i + \lambda \frac{dE}{d\Theta}(\Theta) \quad (3.27)$$

Dans le cas du gradient conjugué, cette formule est légèrement modifiée pour assurer une convergence plus rapide :

$$\Theta_{i+1} = \Theta_i + \lambda h(\Theta_i) \text{ où } h(\Theta_i) = \frac{dE}{d\Theta}(\Theta_i) + \beta_i h(\Theta_{i-1}) \quad (3.28)$$

Différentes formulations de β sont possibles mais celle de Polak-Rivière semble être la plus courante $\beta = \max\{0, \beta^{\text{PR}}\}$. Cependant dans les deux cas une recherche linéaire de la meilleure valeur de λ est nécessaire. Des méthodes de second ordre de type Marquart-Levenberg permettent de prétendre à une convergence plus rapide mais avec un coût calculatoire plus grand car elles nécessitent le calcul ou l'approximation de la Hessienne d'une fonction hautement non linéaire tout le long du processus de minimisation. Toutes ces méthodes basées sur les dérivées du critère de similarité n'offrent toutefois pas de garantie théorique sur l'accès à la solution optimale dans le cas hautement non linéaire du recalage non rigide.

D'un autre côté, nous avons pu constater avec les travaux de *Chui et Rangarajan* [42] que les méthodes de recuit simulé offrent des performances très intéressantes du point de vue du caractère optimal de la solution mais au prix d'une convergence assez lente. Les techniques les plus récentes, dans leur utilisation en recalage, font appel à l'optimisation discrète pour assurer une solution quasi-globale et une convergence très rapide. Les premiers travaux appliquant les travaux d'optimisation de graphes à ce type de problème ont mis en avant des résultats extrêmement positifs [67]. Nous décrirons ces méthodes dans la section 4.2.4 car elles nous ont permis de minimiser notre fonction de similarité dans un espace de variables de très grande dimension.

3.2.5 Récapitulatif

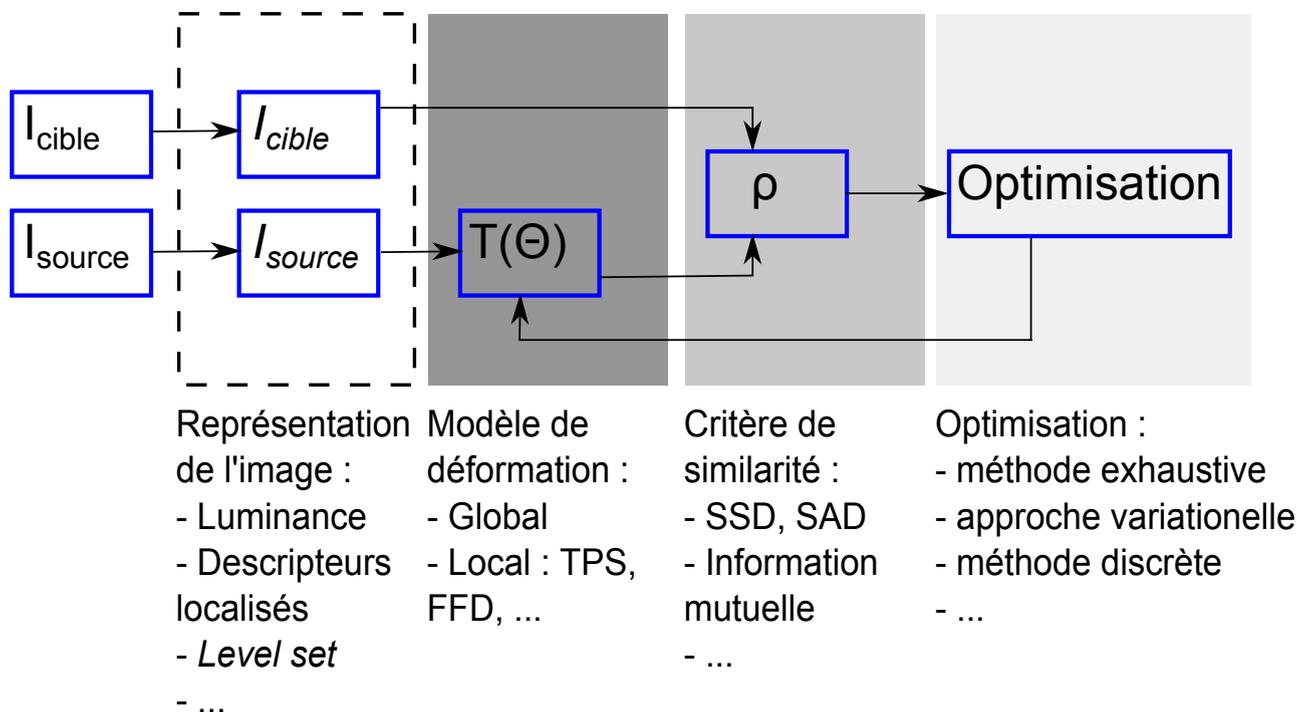


FIGURE 3.9 – Récapitulatif des modélisations classiques dans le cadre du recalage d'un couple d'images.

3.3 Développement d'une méthode robuste adaptée à l'estimation du mouvement de la souris

3.3.1 Choix d'un critère robuste

À partir de ces différentes modélisations nous avons pu avoir un aperçu des techniques de recalage adaptables à notre problème d'estimation robuste du mouvement de la souris. Dans le cadre de notre problème d'estimation séquentielle du mouvement, les données fournies par le système d'acquisition sont composées :

- d'un ensemble de N trames vidéos $\{V\}_{t=1}^N$
- pour chaque trame t , des informations anatomiques $\{l_i^t\}_{i=1}^{N_l}$ liées à la position des N_l marqueurs détectés sur le corps de l'animal.

Ces marqueurs sont détectés grâce à deux méthodes robustes : soit via un opérateur de corrélation ou par détection d'un minimum local par des opérateurs morphologiques. Les trames vidéos sont de leur côté segmentées avec les mêmes méthodes que celles utilisées pour les mesures sur l'animal vigile (cf. 2.2.2). Pour chaque trame ainsi traitée on obtient donc le contour de l'animal à partir duquel sa carte de distance (eq. 3.5) est calculée de manière rapide et précise [57]. De la même manière les informations géométriques collectées sont plongées dans une représentation implicite : $\phi_{lan}(\mathbf{x}; t) = \min_{i \in [1, N_l]} \mathcal{D}(\mathbf{x}, l_i^t)$. Ces deux cartes de distances ϕ_{lan} et ϕ_{sil} , respectivement liées au contour et aux informations géométriques de la souris, sont les données d'entrées de cette approche (Fig. 3.10).

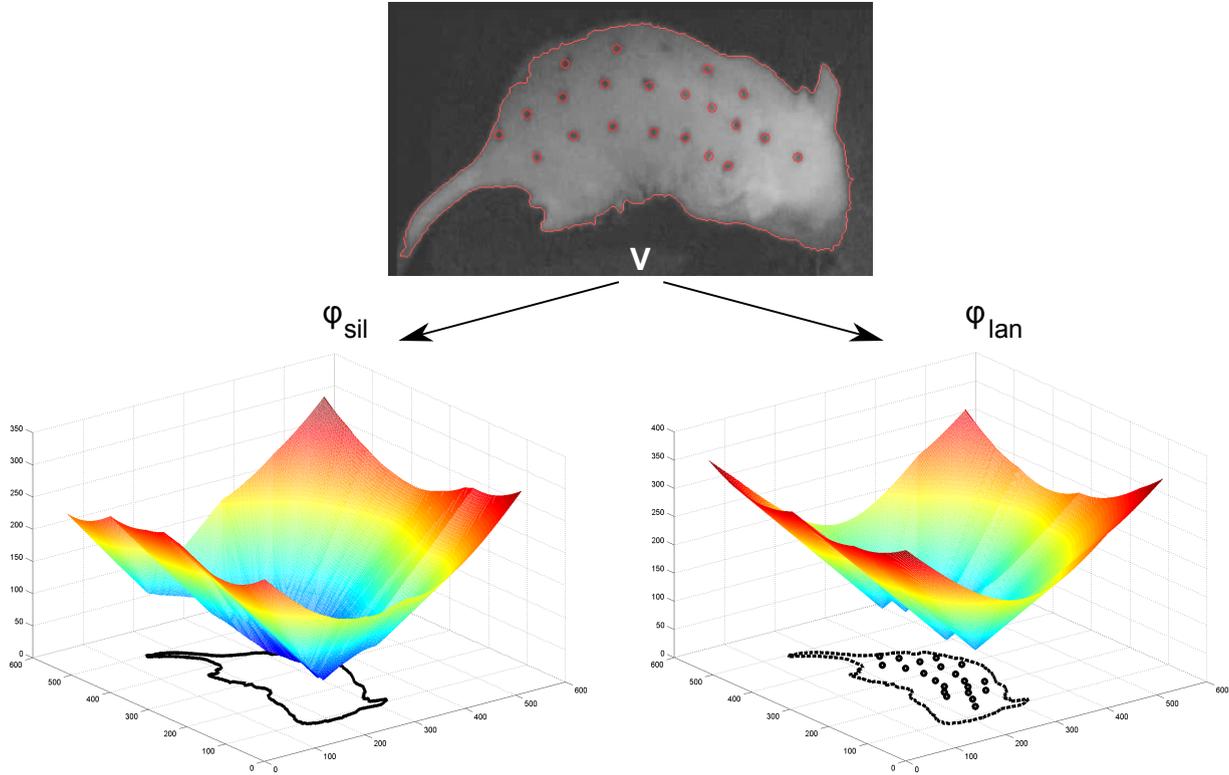


FIGURE 3.10 – Représentations implicites des données issues d'une trame vidéo

L'utilisation des *level set* fournit différents avantages dont le principal est d'assurer une invariance de ces données lors de leur transport via un modèle affine [141] ce qui est idéal pour initialiser notre calcul séquentiel. En outre dans le cas non-rigide, elle est adaptée dans le cas de déformations restreintes au voisinage du contour de la souris [220]. On peut donc définir une première mesure de similarité E_{sc} qui relie les représentations de la forme \mathcal{S} de la trame t avec celle de trame suivante $t + 1$:

$$E_{sc}(T(\Theta)) = \iint_{\Omega} \chi_{\alpha}(\phi_{sil}(\mathbf{x}; t)) \left(\phi_{sil}(\mathbf{x}; t) - \phi_{sil}(T(\Theta, \mathbf{x}); t + 1) \right)^2 d\mathbf{x}, \quad (3.29)$$

La fonction χ_{α} permet de contrôler la largeur de la bande autorisée $[-\alpha/2, \alpha/2]$ autour de l'isocontour sur la base d'une fonction de Dirac. L'utilisation d'un critère SDC se justifie par sa simplicité de calcul et par la réduction de l'influence des appariements aberrants avec χ_{α} . E_{sc} va donc permettre de créer des correspondances géométriques significatives entre deux contours de souris successifs et les iso-contours inclus dans la bande définie par χ_{α} . Cependant la projection de la pose de l'animal sur le plan de la caméra rend difficile la prise en compte des mouvements complexes de la souris par les seules informations du contour. Même si ce critère fournit une contrainte puissante pour aligner les zones en bordure de la souris, les incertitudes sur les parties de la souris éloignées de cette zone peuvent être assez grandes [177]. La figure suivante montre bien que les incertitudes projetées sous la forme d'ellipse autour des points de contrôles d'une transformation TPS augmentent à mesure que l'on s'éloigne du contour de l'objet.

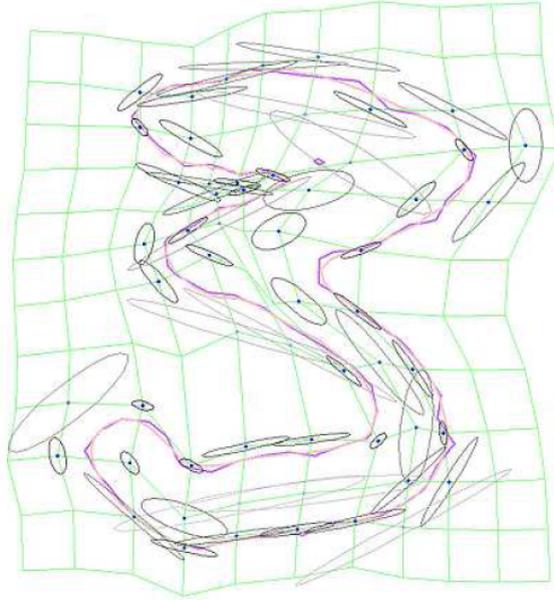


FIGURE 3.11 – Projection des incertitudes sur les points de contrôle après le recalage de deux objets. Chaque ellipse représente l’incertitude sur la position du point de contrôle (reproduit de [177]).

Dans notre cas la situation est plus défavorable que l’exemple précédent car nous manipulons des formes qui peuvent présenter de sévères occlusions au niveau du contour de l’animal et dont le lien avec la pose de l’animal n’est absolument pas unique. En outre la surface d’émission du signal de bioluminescence a de grande chance de se situer sur les parties centrales du corps de la souris rendant nécessaire d’assurer la validité de la transformation sur l’ensemble de la souris.

Dans le but de dépasser cette limite, nous avons cherché à intégrer des informations géométriques dans notre définition du critère de similarité. Ceci nous a conduit à considérer différentes techniques comme celle de *Chui et al.* (Fig. 3.8). Cependant l’apparition ou la disparition sur chaque trame d’un certain nombre de marqueurs nous a poussé à envisager un critère plus robuste grâce à son association aux techniques de *level set*. La réconciliation de ces deux approches permet d’envisager des résultats performants quand les amers géométriques sont placés sur le contour d’une forme plane [127]. Pour assurer la précision du recalage sur la surface intérieure du corps de la souris, les représentations implicites des marqueurs vont guider la mise en correspondance des deux ensembles de points :

$$E_{lc}(T(\Theta)) = \iint_{\Omega} \mathcal{H}_{\alpha}(\phi_{lan}(\mathbf{x}; t)) \left(\phi_{lan}(\mathbf{x}; t) - \phi_{lan}(T(\Theta, \mathbf{x}); t + 1) \right)^2 d\mathbf{x}, \quad (3.30)$$

Cette contrainte n’est imposée que sur les parties intérieures de la surface du corps de l’animal via l’utilisation d’une fonction \mathcal{H}_{α} de type Heaviside.

Les deux critères, réunis dans une même fonction de mesure la similarité ρ , fournissent un terme reliant les deux formes contenues dans le flux de données cinématiques :

$$\rho(T(\Theta, \mathcal{S}_t), \mathcal{S}_{t+1}) = E_{sc}(T(\Theta)) + \beta E_{lc}(T(\Theta)) \quad (3.31)$$

β est expérimentalement fixé à partir d'un échantillon d'une séquence test et conservé constant pour le reste des séquences. À partir de cette mesure on peut envisager aligner les formes contenues dans les images avec différents modèles de mouvement tant global que local (cf. section 3.2.2). Un modèle rigide est utilisée uniquement pour initialiser l'approche non rigide pour le premier couple de trames. Ensuite on peut aisément considérer que la transformation $T_{t-1 \rightarrow t}$ est une bonne initialisation à la transformation $T_{t \rightarrow t+1}$.

3.3.2 Un modèle de déformation apte à suivre les mouvements complexes

Le critère de similarité de l'équation 3.31 porte de façon intrinsèque des qualités acceptables pour le recalage non-rigide [141]. De plus pour déplacer chaque photon détecté présent dans le fenêtre d'intégration vers la trame centrale (Fig. 2.6), il est nécessaire d'obtenir un champ de déformation qui devra être local et lissé. Le cadre non-rigide correspond donc totalement à notre situation. Cependant pour assurer la validité géométrique de la transformation ainsi que sa régularité, il est nécessaire de lui adjoindre un terme de lissage [52] :

$$E_{t \rightarrow t+1}(\Theta) = E_{sc}(\Theta) + \beta E_{lc}(\Theta) + \gamma E_{reg}(\Theta) \quad (3.32)$$

De façon classique le paramètre γ tendra vers 0 pour autoriser des transformations de plus en plus locales au cours de la minimisation.

Le choix de modéliser la déformation entre deux formes avec les TPS est guidé par :

- la nécessité d'avoir une grille irrégulière au vu de la représentation de type *level set* utilisée dans le critère de similarité. En effet les informations pertinentes sont alors concentrées autour du contour et des amers géométriques.
- la réduction du nombre de points de contrôles pour ne pas générer trop de minima locaux
- la possibilité d'intégrer ce modèle dans une approche hiérarchique en passant de la transformation du niveau l à celle du niveau $l + 1$ par application de la transformation précédente sur l'ensemble plus large des nouveaux de points de contrôle P_{l+1} : $\Theta_{l+1}^0 = T(\hat{\Theta}_l, P_{l+1})$.
- la faible coût calculatoire de cette modélisation dans une optimisation itérative car il est possible de pré-calculer les termes de l'équation 3.19.

La combinaison de ce modèle de déformation et d'une représentation implicite de nos données nous a conduit à optimiser la fonction d'énergie globale avec une méthode variationnelle. En effet les propriétés de continuité et de convexité ainsi que les iso-contour (restreint par χ_α) vont guider le gradient vers un minimum local de manière fiable. La dérivée du critère de similarité est estimée à chaque pas de façon rapide grâce aux pré-calcul des TPS et la validité de $\nabla\phi$ sur une bande autour du contour ou d'un amer :

$$\frac{dE}{d\Theta} = \int_{\Omega} -2\phi(T(\Theta, \mathbf{x}), t+1) \left(\phi(\mathbf{x}, t) - \phi(T(\Theta, \mathbf{x}), t+1) \right) \left\langle \frac{dT}{d\Theta}(\Theta, \mathbf{x}) | \nabla\phi(T(\Theta, \mathbf{x}), t+1) \right\rangle d\mathbf{x} \quad (3.33)$$

Même si la distance n'est pas conservée pour des déformations locales, *Zhu et al.* et *Paragios et al.* ont montré que ce genre d'approches restaient valables pour le recalage de zones proches

du contour. α doit rester faible pour conserver cette propriété dans le cas de transformations successives.

Pour réduire le coût calculatoire au cours de l'optimisation, le critère global est discrétisé sur un ensemble de points dont la densité est plus forte dans la bande définie par χ_α et à proximité des amers géométriques. Cette densité évolue naturellement avec χ_α pour conserver le même nombre de points.

Cette méthode nous a permis d'obtenir des résultats de recalage parfaitement en adéquation avec notre objectif d'assurer un champ de déformation correct sur toute la surface apparente de la souris (Fig. 3.12). La robustesse de cette approche sera démontrée au vu des résultats sur le traitement du flux de données de bioluminescence tout le long de séquence.

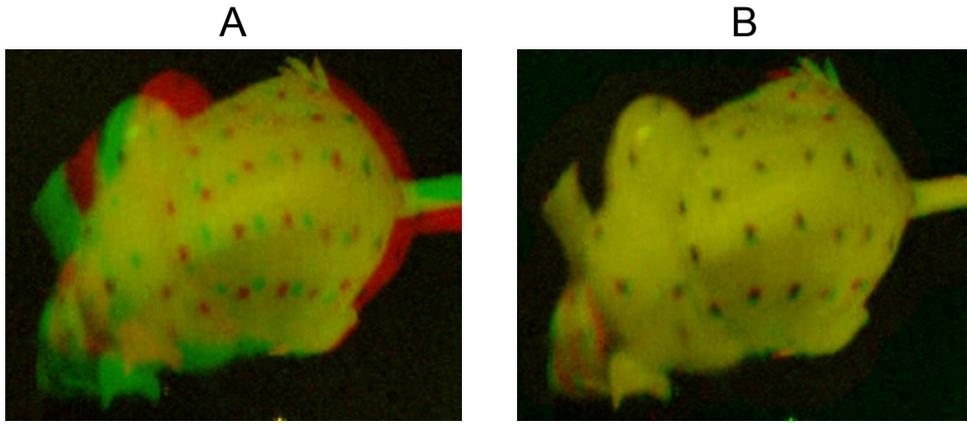


FIGURE 3.12 – Recalage d'une trame sur la suivante. Chaque image occupe un canal d'une image RGB : (A) avant recalage, (B) résultat après recalage.

3.4 Fusion des données de bioluminescence *in actio* avec estimation du mouvement

Après estimation du mouvement de l'animal entre chaque trame, l'ensemble des transformations \mathbf{T} est stocké dans un fichier pour être utilisé, par la suite, pour le transport des trames de signal optique $\{O\}_i^N$. Ce transport sera effectué de façon lui aussi séquentielle pour créer des séquences de bioluminescence qui seront ensuite traitées par le logiciel d'analyse. Si l'on définit la fenêtre temporelle sous la forme d'un nombre de trames sélectionnées : $N_T = N_{\text{inf}} + 1 + N_{\text{sup}}$, alors il est possible d'exprimer la trame courante de signal intégré en fonction des données précédemment transportées :

$$O_j^T = T_{j-1 \rightarrow j}(O_{j-1}^T) - T_{j-1-N_{\text{inf}} \rightarrow j-1}(O_{j-1-N_{\text{inf}}}^T) + T_{j+N_{\text{sup}} \rightarrow j}(O_{j+N_{\text{sup}}}^T) \quad (3.34)$$

Cette formulation est particulièrement pratique dans le cadre de la manipulation de flux de données car d'un point de vue informatique les opérations mises en œuvre sont extrêmement simples et rapides.

La fusion des deux flux de données peut alors s'effectuer sur chaque trame en fonction des paramètres choisis par l'utilisateur. Celui-ci définira la fenêtre d'intégration temporelle ainsi que

les paramètres internes de la fusion (transparence, contraste de l'image vidéo, lissage spatial des données de bioluminescence et autres). Si l'on reprend alors l'exemple de la figure 2.6 dans lequel 44 trames de signal sont accumulées, soit 1 s, il est possible de montrer que la correction du mouvement a un impact visuel important sur l'interprétation des données (Fig. 3.13). En effet si l'on compare les deux images on constate alors qu'uniquement celle avec correction du mouvement peut être interprétée correctement car une seule source est véritablement présente. Le flou de bougé de l'image de gauche détruit la corrélation entre le signal de bioluminescence et la localisation de sa surface d'émission.

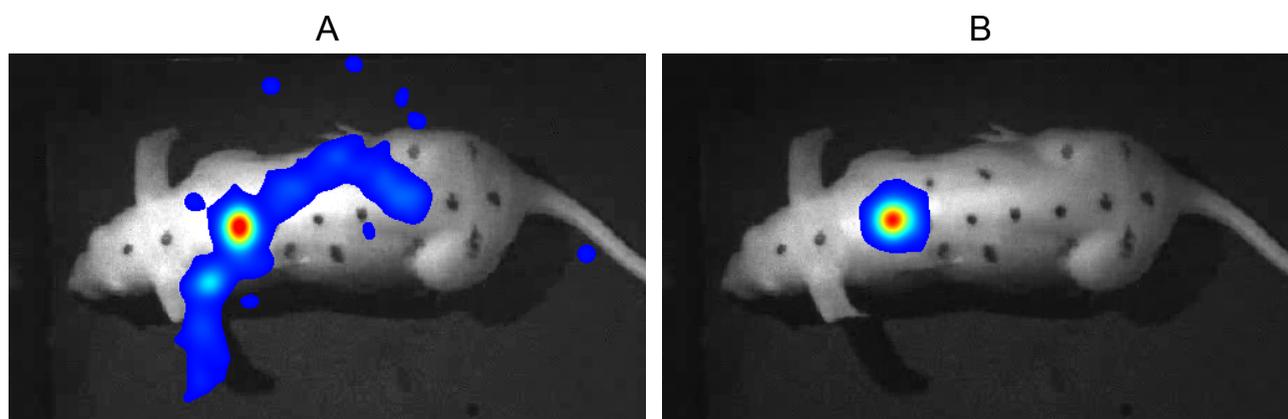


FIGURE 3.13 – Fusion d'une trame vidéo avec les données de bioluminescence contenues dans une fenêtre temporelle de 1 s, respectivement sans et avec correction du mouvement.

3.5 Évaluation de l'approche séquentielle

Dans le but de valider le processus de recalage proposé, nous allons tenter d'évaluer l'intérêt de tenir compte du mouvement de l'animal dans l'intégration du signal optique provenant d'animaux non anesthésiés. Cette évaluation permettra, en outre, de valider l'utilisation de la méthode de fusion sur des flux de données cinématiques et donc la robustesse et la précision au cours du temps du recalage séquentiel présenté plus haut.

Pour arriver à démontrer ces deux points, nous avons effectué différents tests sur 8 séquences dont plusieurs milliers de transformations sont à déterminer. Ces séquences sont extraites d'une bibliothèque d'acquisitions effectuées avec le dispositif *In Actio* (cf. 2.2) en collaboration avec le Dr. Raphaël Boisgard au sein du laboratoire LIME (Laboratoire d'Imagerie Moléculaire Expérimentale), unité mixte du CEA et de l'INSERM.

Nous avons donc cherché à nous assurer de trois points qui nous semble être des indicateurs de réussite de la méthode :

- l'impact sur la localisation du signal optique intégré selon différentes fenêtres temporelles,
- l'étude des caractéristiques liées à l'analyse du signal,
- l'estimation d'une limite de résolution spatiale des études sur animal vigile.

3.5.1 Impact sur la localisation du signal

Cette série de résultats est réalisée sur une séquence test de 100 trames de signal vidéo acquises avec le premier prototype. Le signal de bioluminescence est rajouté a posteriori en désignant manuellement une zone de l'animal comme surface d'émission du signal. On obtient alors pour chaque trame de signal vidéo, une trame de signal optique constant et dont la localisation suit le mouvement de l'animal. De plus cette séquence vidéo a servi à évaluer les paramètres de pondération des différentes énergies qui seront utilisées par les séquences suivantes.

Le critère utilisé pour déterminer l'influence de l'algorithme d'estimation de mouvement se base sur la mesure de la dispersion du signal à l'intérieur de la fenêtre temporelle sélectionnée. Le signal étant de forme circulaire ou ellipsoïde sur cette séquence on peut aisément calculer le centre de chacun des spots de bioluminescence, notés \mathbf{C} , qui seront représentatifs de la position du signal sur chaque trame. À partir de ses positions, il est possible, pour chaque temps d'exposition T , de calculer la distance entre le spot central et toutes les autres positions à l'intérieur de la fenêtre :

$$D_j^T = \frac{1}{N_T} \sum_{i=N_{\text{inf}}}^{N_{\text{sup}}} \|\mathbf{C}_i - \mathbf{C}_j\|_2 \quad (3.35)$$

Ce critère est calculé avant et après recalage du flux optique pour différentes valeurs de temps d'exposition.

Si l'on compare, pour deux temps d'exposition différents (500 ms et 1 s) les deux valeurs obtenues au cours de la séquence, il est possible d'observer l'efficacité de la correction de la dispersion du signal (Fig. 3.14). Cette figure nous permet de constater que les résultats de notre méthode sur cette séquence sont assez faiblement influencés par l'amplitude des mouvements de l'animal (faible au début et plus grande à la fin). Les moyennes obtenues avec d'autres temps d'exposition confirment la correction observée dans les deux précédents cas (Table 3.1). L'illustration de cette amélioration, quelque soit le temps d'exposition, peut en outre se retrouver dans la figure 3.15 qui décrit l'évolution de la valeur moyenne du gain obtenu en fonction du temps d'exposition.

La robustesse de la correction du mouvement observé avec cette première séquence test nous a amené à considérer que les paramètres utilisés (pondération des énergies, densité de points de contrôle ou de discrétisation de l'énergie) sont adaptés pour obtenir une solution optimale. De plus cette courte analyse permet d'entrevoir des résultats plus significatifs avec des séquences acquises dans des conditions normales. L'étude des séquences fera donc appel à des outils d'évaluation proches de ceux utilisés en imagerie optique statique.

Fenêtre temporelle :	0.25 s	0.35 s	0.5 s	0.75 s	1 s
Avant correction (mm) :	1.51	1.98	2.47	3.37	3.99
Après correction (mm) :	0.3	0.32	0.37	0.44	0.48

TABLE 3.1 – Dispersion moyenne du signal de bioluminescence avant et après correction pour différentes fenêtres temporelles.

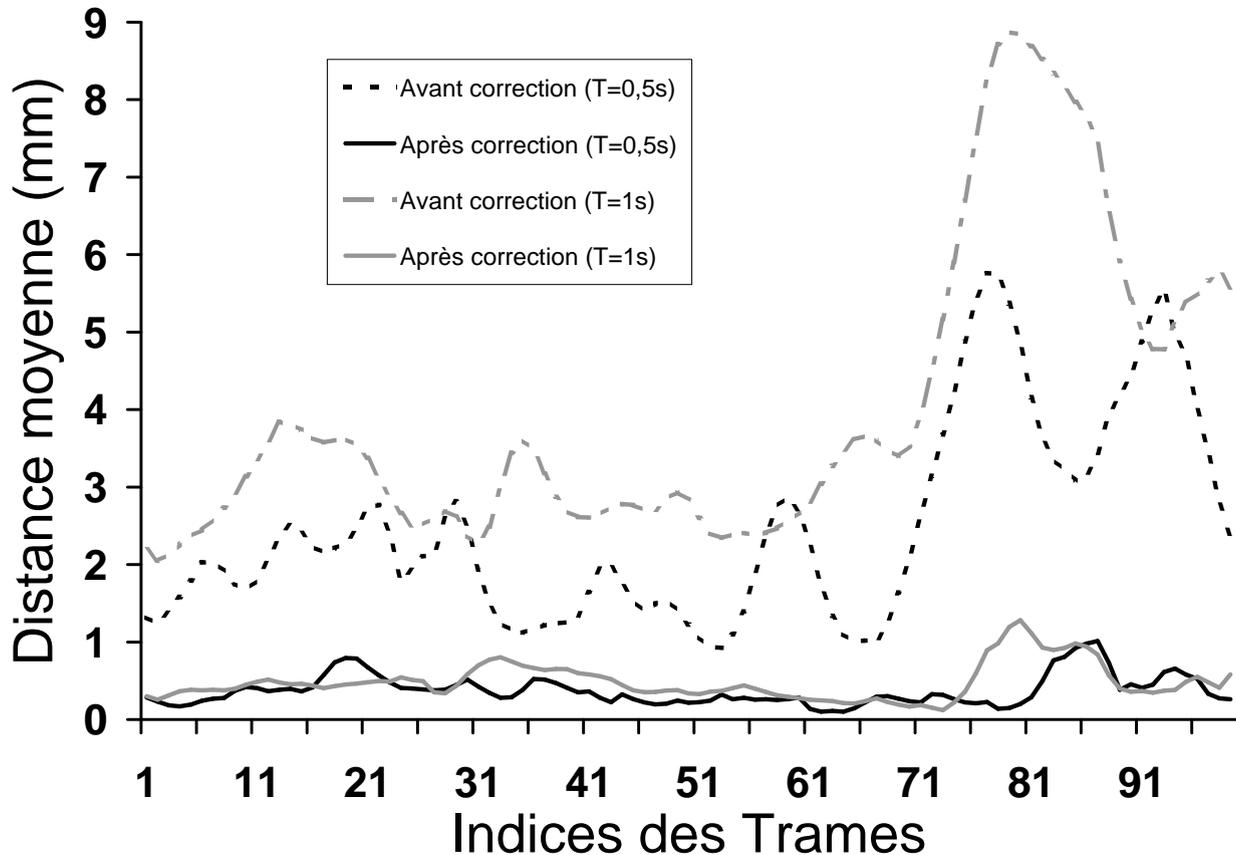


FIGURE 3.14 – Mesure de la dispersion du signal, via D_j^T , pour différents temps d'exposition avant et après correction du mouvement. La mesure est effectuée tout le long de la première séquence de test.

3.5.2 Analyse des caractéristiques du signal de bioluminescence

Les trois séquences suivantes qui représentent respectivement 2351, 2605 et 3908 trames ont été acquises avec une seule source circulaire de signal positionnée sur le dos de la souris. À partir de ces séquences, nous avons cherché à déterminer le gain apporté par notre méthode d'estimation du mouvement sur les procédures classiques d'analyse de l'imagerie optique. Le principal outil utilisé est la région d'intérêt (ROI) comme nous le montre l'étude de la section 1.3.3. De plus dans notre cas ces mesures nécessitent d'être effectuées de façon automatique pour être utilisable en routine. En utilisant les méthodes de segmentation sur animal vigile décrites dans le chapitre 2 avant et après correction du mouvement de l'animal, nous avons pu mesurer le ratio comparant le nombre de ROI détecté pour une seule source implantée.

De façon attendue le nombre de ROI correctement détectées est meilleur après correction du mouvement quelque soit le temps d'intégration choisis (Fig. 3.17). En effet, dans le pire cas, le nombre de trames avec le mauvais nombre de ROI détectés augmente jusqu'à 40% ou 50% du total de la séquence. Après correction avec notre approche non-rigide, au minimum 95% des trames sont segmentées avec le bon nombre de ROI. Chaque séquence est segmentée avec

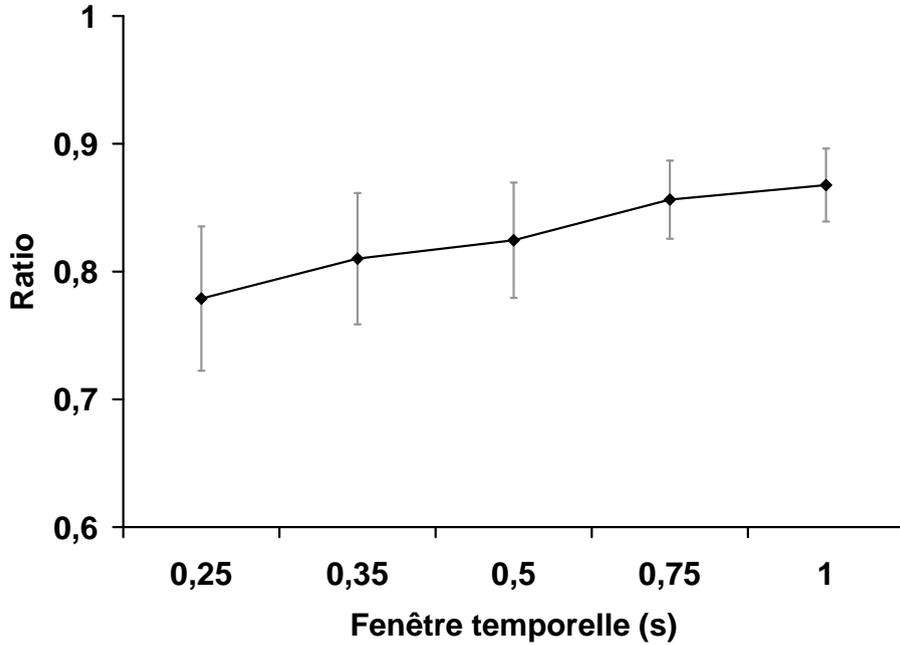


FIGURE 3.15 – Évolution du gain moyen observé avec l'utilisation de cette méthode d'estimation du mouvement. Les barres d'incertitude représentent l'écart-type des valeurs de gain observés dans la première séquence.

les mêmes paramètres pour permettre la comparaison. Dans le but d'exploiter un peu plus ce critère, nous avons étudié l'évolution du nombre de ROI détectées, avant et après correction, pour chaque trame réalisée avec intégration (Table 3.2). On constate que la grande majorité des trames présentant le mauvais nombre de ROI détectés ($\neq 1$) sont conformes après utilisation de notre approche de recalage précis des données optiques. On peut aussi remarquer le faible nombre de trames qui sont détériorées par notre tentative de correction du signal.

De manière complémentaire à ces résultats, nous avons mesuré les paramètres géométriques des ROI collectées dans les deux cas pour estimer au plus juste l'impact de la correction du mouvement sur le signal. L'aire A , la taille maximale L et l'intensité I sont mesurées pour chaque ROI détectée et leurs variations moyennes sont répertoriées dans le tableau 3.3. On peut alors constater qu'en moyenne l'étendue géométrique (A et L) des ROI détectées décroît avec notre méthode de correction du mouvement sans que toutefois on observe des variations significatives d'intensité. Ce dernier point étant primordial pour conserver la qualité des mesures effectuées.

Dans le but de synthétiser les résultats précédents, nous avons déterminé le caractère circulaire des ROI détectées via le rapport entre leur aire A_i et leur périmètre P_i :

$$c = 4.\pi. \sum_{i=1}^N A_i/P_i^2. \quad (3.36)$$

Au vu du caractère circulaire de la zone d'émission de la source implantée, les données reconstruites devront présenter une valeur de circularité proche de 1. C'est ce que l'on peut observer sur la figure 3.18 où sont exposées les valeurs de \bar{c} pour différents temps d'exposition.

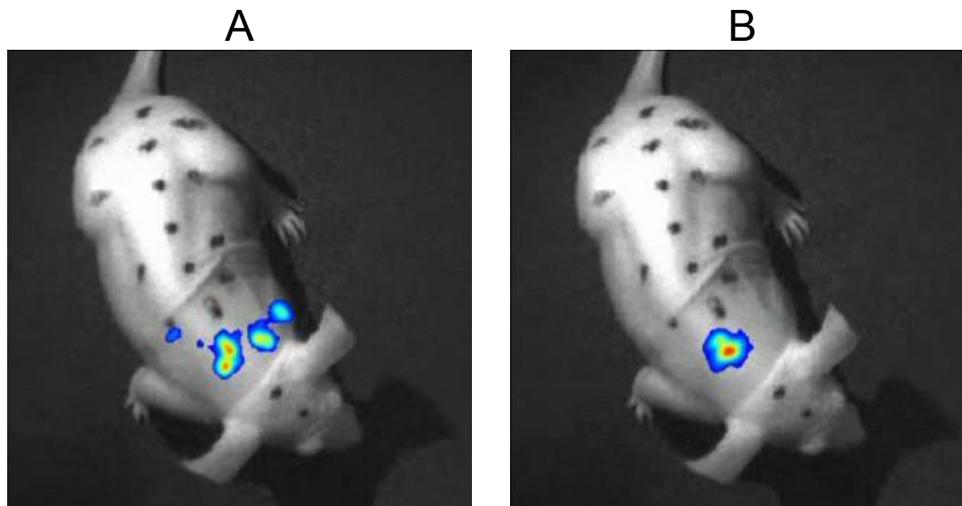


FIGURE 3.16 – Visualisation de 2 images de fusion issues du film avec un temps d'exposition de 1 s : (A) sans correction et (B) avec correction du mouvement.

À partir de ce dernier résultat on peut constater que notre approche permet de conserver les caractéristiques du signal malgré les effets négatifs induits par une augmentation des durées d'exposition pendant des phases de mouvement de l'animal. Le corollaire de ces résultats positifs est de pouvoir considérer que la procédure d'estimation des transformations calculées à partir du flux vidéos est particulièrement précise et robuste. Pour évaluer plus justement les limites de précision des transformations estimées, il nous est nécessaire d'évaluer la discrimination possible entre deux sources proches.

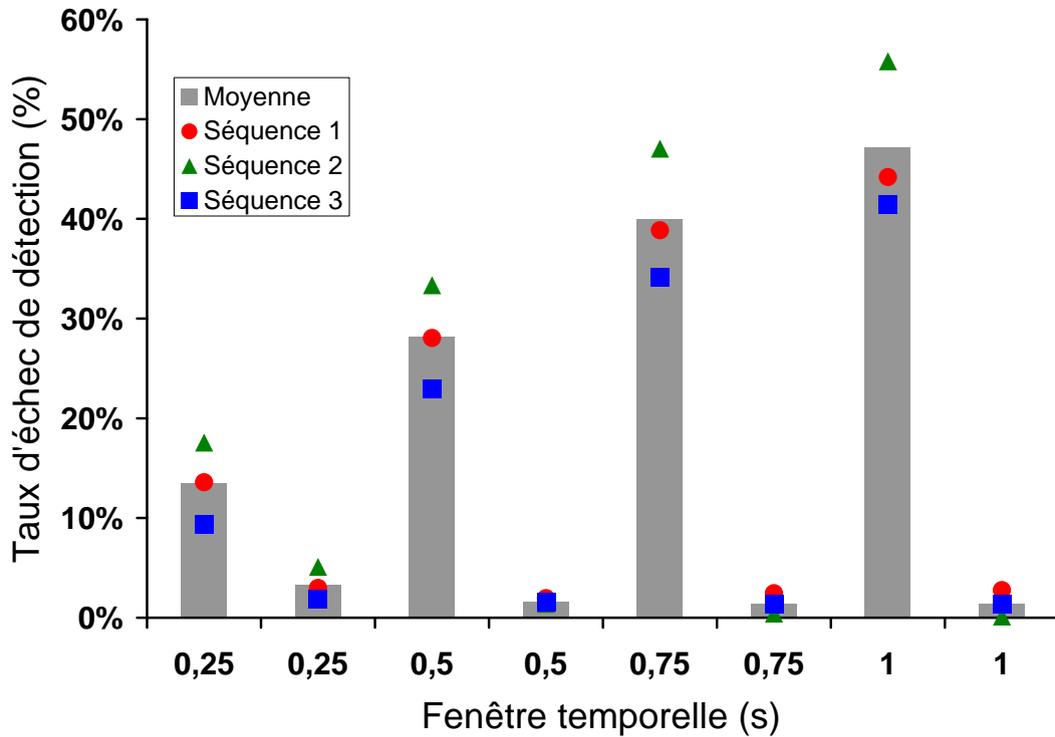


FIGURE 3.17 – Comparaison du nombre de ROI détectées avec le nombre réel de source dans 3 flux de données de bioluminescence, avant et après correction du mouvement. Le taux moyen d'échec est exposé en fonction des temps d'exposition (à gauche sans correction et à droite avec). Les valeurs moyennes obtenues sont accompagnées des valeurs pour chacune des séquences.

	0.25 s	0.5 s	0.75 s	1 s	
Séquence 1 :	1 → 1	86%	71,6%	60,7%	55,3%
	1 → ≠ 1	0,4%	0,4%	0,5%	0,5%
	≠ 1 → 1	11%	26,5%	36,9%	42%
	≠ 1 → ≠ 1	2,6%	1,6%	2%	2,2%
Séquence 2 :	1 → 1	82,2%	65,8%	52,7%	44,2%
	1 → ≠ 1	0,26%	0,81%	0,3%	0%
	≠ 1 → 1	12,7%	32,8%	46,9%	55,7%
	≠ 1 → ≠ 1	4,9%	0,6%	0,2%	0,1%
Séquence 3 :	1 → 1	90,4%	76,6%	65,5%	58,5%
	1 → ≠ 1	0,3%	0,5%	0,3%	0,1%
	≠ 1 → 1	7,8%	21,8%	33,1%	40,1%
	≠ 1 → ≠ 1	1,6%	1,1%	1,1%	1,3%

TABLE 3.2 – Évolution pour chaque trame de signal intégré, du nombre de ROI détectées, suite à la correction du mouvement. Les résultats des trois séquences sont regroupés au sein des quatre cas possibles en fonction du temps d'exposition.

	0.25 s	0.5 s	0.75 s	1 s
Séquence 1 : ΔA	-10,2%	-16,3%	-19,8%	-23,3%
	ΔL	-13,0%	-19,3%	-23,1%
	ΔI	2,8%	2,7%	2,4%
Séquence 2 : ΔA	-7,3%	-12,2%	-19,1%	-25,4%
	ΔL	-9,6%	-15,2%	-22,2%
	ΔI	3,2%	4,2%	3,4%
Séquence 3 : ΔA	-7,3%	-12,9%	-17,1%	-18,9%
	ΔL	-8,8%	-14,0%	-18,0%
	ΔI	2,2%	2,1%	1,4%

TABLE 3.3 – Évolution, suite à l'utilisation de la méthode de recalage, des caractéristiques géométriques ainsi que du signal d'intérêt mesuré pour trois séquences et différents temps d'exposition.

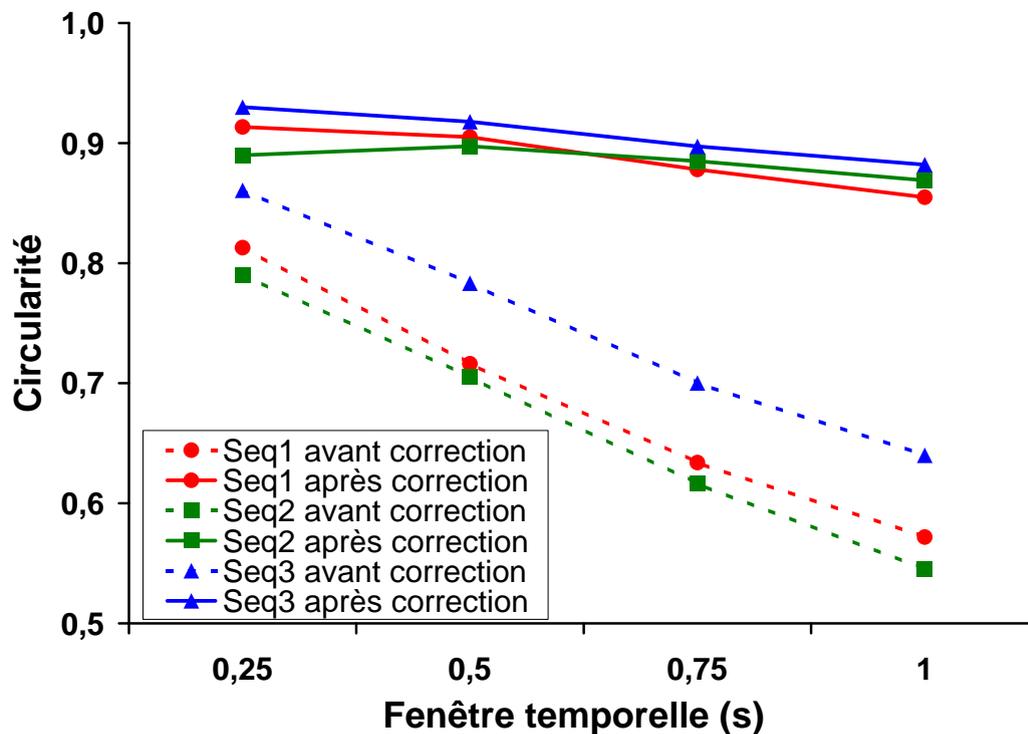


FIGURE 3.18 – Évolution du caractère circulaire des régions détectées avant et après correction du mouvement en fonction du temps d'exposition.

3.5.3 Estimation de la résolution limite de l'approche proposée

Comme dernier point d'analyse de l'impact positif de notre processus de recalage, nous avons cherché à montrer que cette méthode de fusion permettait d'effectuer des études dans des conditions proches des études statiques sur le point crucial de la résolution spatiale. C'est pourquoi nous avons positionné deux sources espacées de 1 cm sur le corps de la souris :

- pour les séquences 4 et 5, les deux sources sont perpendiculaires à l'axe principal de la souris,
- pour les séquences 6 et 7, les deux sources sont sur l'axe principal de la souris.

À partir de ces 4 séquences composées au total de 14033 trames de signal vidéo et optique, nous nous sommes intéressés au taux de détection d'échec de détection du nombre de ROI attendue sur chaque trame (ici 2). C'est un critère important pour déterminer si une analyse robuste et pertinente des flux cinématiques est possible indépendamment du temps d'exposition choisi. On peut en effet constater qu'avec la procédure actuelle d'intégration du signal, l'interprétation des acquisitions est difficile (Fig. 3.19-A).

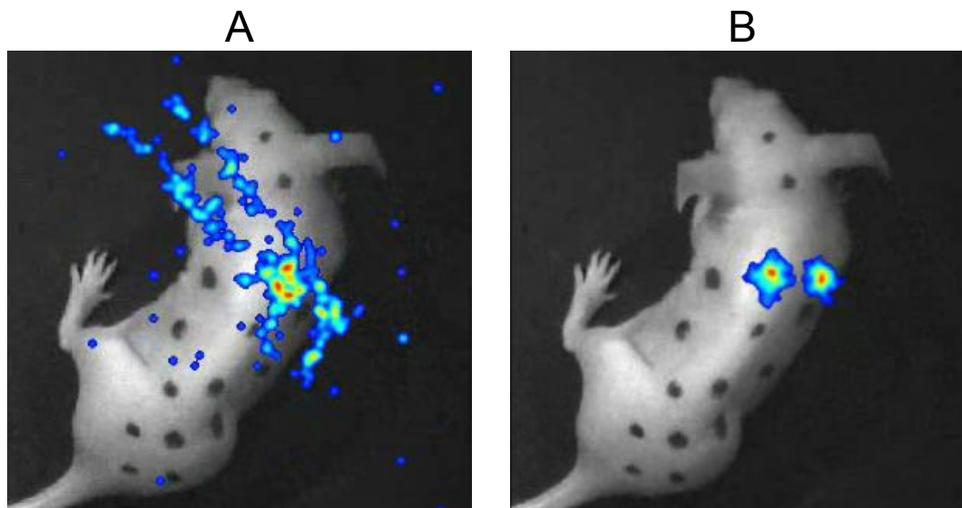


FIGURE 3.19 – Visualisation de 2 images de fusion issues du film avec un temps d'exposition de 1 s : (A) sans correction et (B) avec correction du mouvement.

À travers la figure 3.19-A, on observe le gain obtenu en corrigeant le mouvement lors de l'intégration tant sur la visualisation des flux fusionnés qu'au niveau de l'analyse. En étudiant le nombre de ROI détectées sur chaque trame de signal après intégration sans et avec correction (Table 3.4), on peut constater que quantitativement les résultats restent compatibles avec une analyse automatique du flux de données optiques. En effet, même si les valeurs exposées dans le tableau suivant sont un peu moins tranchées que celles constatées dans le cas d'une source, l'impact d'une fusion tenant compte du mouvement permet une discrimination des deux sources, espacées de 1 cm dans la grande majorité des cas.

	0.25 s	0.5 s	0.75 s	1 s
Séquence 4 : avant correction	32,2%	78,2%	64,5%	73,4%
après correction	10,4%	10,7%	18,0%	28,9%
Séquence 5 : avant correction	13,5%	23,2%	32,2%	39,7%
après correction	2,2%	2,0%	4,5%	9,2%
Séquence 6 : avant correction	11,8%	27,0%	34,7%	40,6%
après correction	2,3%	4,1%	4,0%	6,3%
Séquence 7 : avant correction	4,2%	9,6%	13,4%	20,0%
après correction	0,4%	1,3%	4,7%	11,9%

TABLE 3.4 – Évolution du taux d'échec de détection du nombre attendu de ROIs pour les quatre séquences et différents temps d'exposition.

3.6 Discussion

Dans le but de répondre à notre objectif d'estimation du mouvement de la souris, nous avons décrit dans ce chapitre les différentes modélisations envisageables de notre problème à partir de la littérature. En effet à travers une revue non exhaustif du domaine du recalage entre couple d'images, nous avons présenté les principales modélisations utilisées dans le cadre de l'imagerie médicale.

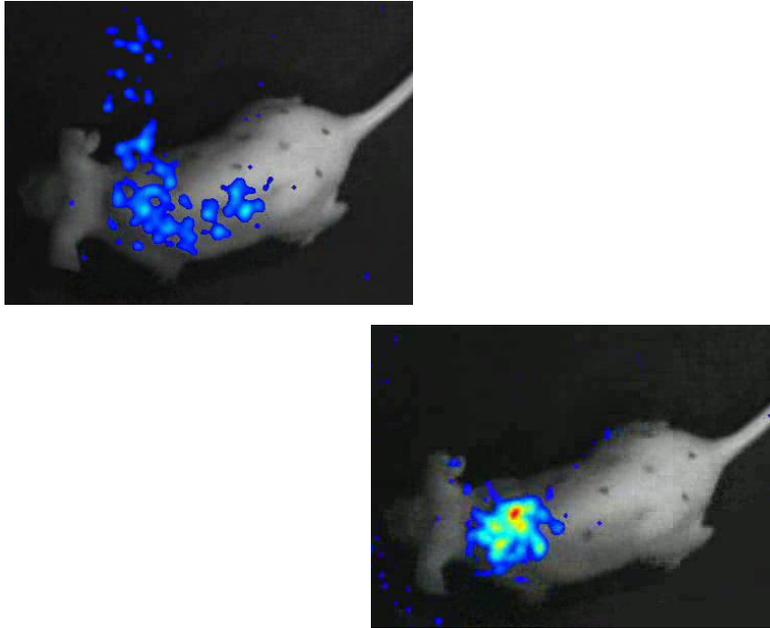
À partir des données de notre problème, nous avons considéré, comme choix adéquat, la représentation via des ensembles de niveaux (*level set*). Celle-ci fournit la robustesse théorique nécessaire à l'estimation d'une transformation non rigide entre deux images. De plus elle permet une intégration aisée des informations géométriques fournies par des marqueurs intégrés sur la souris. Sa combinaison avec une représentation sous la forme de TPS des déformations de l'animal permet une certaine souplesse d'utilisation et une grande adéquation avec la méthode d'optimisation variationnelle choisie.

Notre contribution a permis de combiner toutes les informations contenues dans des couples d'images issus du flux vidéo dans le processus de recalage. Cette combinaison est nécessaire au vu des mouvements hautement non-rigides effectués par l'animal dans un contexte d'observation selon un unique point de vue. Ce contexte d'acquisition du flux vidéo et la minimisation des erreurs générées lors de tout processus de recalage ont guidé ce choix qui nous permet d'assurer une grande qualité aux informations obtenues sur le mouvement de l'animal. En effet l'objectif principal de notre méthode vient de la nécessité de corriger spatialement chaque photon, reçu par le détecteur, pour éviter le flou de bougé observé.

La validation de la précision et de la robustesse de la méthode de recalage nous a conduit à étudier les conséquences du transport des données de bioluminescence sur le processus de fusion de données. Ce processus de fusion doit en effet permettre la conservation du lien entre la bioluminescence et sa surface d'émission. Les différents tests, que nous avons effectué, ont corroboré l'impact visuel obtenu sur diverses vidéos via des mesures quantitatives. Ces mesures ont démontré tant l'intérêt de notre nouveau processus de fusion pour augmenter la précision de la localisation de la zone d'émission que sa compatibilité avec les outils classiques de l'imagerie optique statique.

Cette approche fut validée in fine par une série d'expériences avec des tumeurs, constituées de cellules PC12, insérées en sous cutané. Quelques minutes avant l'acquisition, on injecte 200 μ L de

luciférase (15 mg mL^{-1}). Une vidéo des résultats obtenus sur une des acquisitions est présentée sous la forme d'une superposition des films de fusion avant et après recalage (Film 2). On peut alors constater l'impact positif de notre méthode sur l'analyse des données fusionnées. À partir de cette série de résultats, il a été décidé d'implanter, dans le logiciel d'analyse de Biospace Lab, la méthode d'estimation du mouvement grâce aux seules informations provenant du flux vidéo.



Film 2: Superposition des films de fusion avant et après recalage (lissage de 2.5 mm et intégration temporelle de 1 s).

Cependant les tests effectués au cours de l'élaboration de cette méthode ainsi que les constatations visuelles complétées par les discussions avec les utilisateurs finaux de la méthode, nous ont amené à constater que les résultats obtenus pouvaient être sous-optimaux. La principale cause de ces résultats dégradés est due à la configuration du dispositif d'acquisition qui amène à détecter le mouvement de l'animal uniquement dans le plan de la caméra alors que celui-ci est intrinsèquement dans l'espace. Pour tendre vers une méthode optimale de correction du mouvement de l'animal sans modification du système d'acquisition nous avons cherché à prendre en compte l'information fournie par les données de bioluminescence malgré leur faible information spatiale. Dans le même temps, nous avons légèrement modifié le système d'acquisition pour multiplier les vues et tenter de reconstruire l'enveloppe 3D de l'animal trame après trame.

Chapitre 4

Fusion simultanée des flux de données cinématiques

En exploitant une partie du flux de données issues du système d'acquisition, nous avons pu élaborer une méthode de fusion des données vidéos et optiques qui permet une analyse fine et robuste tout le long des séquences. Toutefois au cours de la validation de cette méthode, nous nous sommes aperçus que malgré des résultats majoritairement positifs certaines trames pouvaient n'être que faiblement corrigées. La problématique devient alors, guidé par les avancées les plus récentes, d'utiliser toutes les données présentes pour améliorer les performances du processus de recalage et d'assurer ainsi la localisation précise des données du signal biologique quelque soit la fenêtre temporelle.

Dans ce but, ce problème, décrit précédemment sous la forme d'un recalage séquentiel de couples d'images vidéos, est reformulé sous la forme d'un ensemble dont les images de différents canaux d'informations, le composant, vont être simultanément déformées pour s'aligner entre elles. Nous verrons que des techniques développées récemment fournissent un cadre particulièrement adéquat pour ce type de problème. Il est de plus parfaitement compatible avec la représentation implicite de nos données issues du flux vidéo permettant de conserver une base théorique intéressante à ce problème de recalage. Les données optiques sont quant à elles intégrées dans notre nouvelle approche sous la forme d'une information statistique qui prendra en compte la globalité du signal de la population.

De même pour assurer une optimisation performante de ce problème, nous avons choisi de repenser sa modélisation sous la forme d'un graphe basé sur les *Markov Random Field*. Les sommets de ce graphe sont alors composés des nœuds du modèle de déformation non-rigide tandis que les potentiels des arêtes du graphe sont reliés au fonctions de similarité au sein de la population. Cette représentation sous forme de graphe permet d'utiliser des approches nouvelles et performantes d'optimisation adapté au domaine discret. En effet la complexité du graphe augmente en parallèle du nombre de degrés de libertés du modèle de déformation qui gère toutes les images de la population.

Nous présenterons donc les origines des éléments méthodologiques de la solution que nous avons construite. Celle-ci basée sur une modélisation discrète de notre problème, nous permettra de montrer l'intérêt de cette approche pour les problèmes complexes de recalage non rigide. Les contraintes restant identiques de celles de la méthode séquentielle, nous chercherons donc à montrer l'apport significatif de ce nouveau cadre méthodologique par rapport au précédent.

Sommaire

4.1	Le recalage <i>groupwise</i> : un cadre naturel d'approches pour le fusion de données <i>in actio</i>	87
4.1.1	État de l'art	87
4.1.2	Une adaptation à l'estimation précise du mouvement de l'animal dans le cadre de l'imagerie optique	92
4.2	Fusion de population d'images multi-canaux dans une approche discrète	94
4.2.1	Modélisation de la transformation	94
4.2.2	Modélisation discrète du problème	95
4.2.3	Caractéristiques des potentiels MRF pour le recalage simultané de flux vidéo et optique	97
4.2.4	Optimisation de notre graphe de type MRF	100
4.3	Résultats expérimentaux et comparaison avec notre approche séquentielle	101
4.3.1	Évaluation du recalage <i>groupwise</i> d'une pile d'images multi-canaux	101
4.3.2	Étude de la dispersion du signal optique sur une séquence test	102
4.3.3	Mesure du gain en terme d'analyse des flux cinématiques	104
4.4	Discussion	107

4.1 Le recalage *groupwise* : un cadre naturel d’approches pour le fusion de données *in actio*

Accompagnées par le développement des capacités informatiques, les applications des techniques de recalage se sont étoffées pour permettre une prise en compte plus fines des besoins des utilisateurs. Nous avons pu constater dans le chapitre 1.2 que l’utilisation des atlas tenait une place prépondérante tant dans l’utilisation des différentes modalités que dans les méthodes d’analyse associées. En effet ils permettent tant de collecter des informations anatomiques que fonctionnelles d’une population d’individus et par la suite de caractériser les variations observées de cette même population [51, 103]. En outre l’étude algorithmique de l’anatomie d’une structure ou bien d’un organisme [178] autorise le suivi de la variabilité intra population et des différences inter populations à travers la génération de champs de déformation reliant une grande quantité de données anatomiques vers un système commun de coordonnées. Il alors possible d’y effectuer diverses tâches de segmentation [172]. Dans ce même cadre, on peut suivre par exemple l’évolution spatio-temporel de la distribution de différents tissus cérébraux chez le fœtus à partir de différentes acquisitions [73].

Ce nouveau domaine de recherche a donc généré la création d’un nouveau cadre méthodologique pour le recalage de séries d’images entre elles. Même s’il est envisageable de comparer une à une les images entre elles en utilisant les méthodes traditionnelles du recalage *pairwise*, les méthodes de recalage de groupe (*groupwise*) ont vu le jour depuis une décennie pour prendre en compte le problème dans sa globalité. Elles permettront dans leurs dernières évolutions de s’affranchir du problème fondamental du choix d’une source et d’une cible inhérent à un problème de recalage *pairwise*.

4.1.1 État de l’art

Nous l’avons constaté dans la partie 3.2, déformer une image dans le but de l’aligner avec une autre instance de l’objet observé est actuellement une tâche commune et l’on dispose de différentes modélisations pour résoudre ce problème. Plusieurs approches de vision par ordinateur explore le problème de la déformation mutuelle d’ensembles de données, géométriques ou iconiques, pour le recalage de groupe d’images. Même si l’identification des homologies dans des groupes de taille importante est le but commun de ces méthodes, leur différence principale tient à la définition de l’image de référence. Celle-ci est définie, soit directement soit par le domaine sous-jacent noté Ω_R , comme la cible de l’ensemble \mathbf{T} de transformations ayant pour source une des images de la population de taille N .

$$\mathbf{T} = \{T_i : \mathbf{x}_R = T(\mathbf{x}_i), i = 1, \dots, N\} \quad (4.1)$$

La différence principale entre toutes les approches proposées réside dans la manière de définir et manipuler le domaine de référence.

Définition explicite ou implicite d’une image de référence

Historiquement en parallèle de l’extension des méthodes *pairwise* à ce problème, des travaux sur l’identification et l’optimisation de l’image de référence ont été menés [142]. La synthèse de ces deux points a conduit à déterminer le champ de déformation entre chacune des images et une

image de référence préalablement sélectionnée selon les critères de similarité classique [123]. Ces méthodes restent cependant dramatiquement dépendantes de la présence de l'image de référence dans la population considérée d'images. En effet, la sélection a priori d'une image cible dans le cas d'une population d'images impose donc d'utiliser un critère plus ou moins robuste, pour déterminer la pose de référence parmi un groupe. Or celui-ci peut exhiber une grande variance de pose rendant complexe et dangereux la désignation d'une image de référence, représentant de manière optimale le reste de la population. Le mauvais choix de l'image de référence peut par ricochet complexifier inutilement le calcul des champs de déformations. En effet ce choix explicite de l'instance de référence risque de générer un biais dans tous les calculs issus de ce choix. Ce choix peut alors engendrer des atlas non compatibles car leur image de référence est simplement choisie de façon différente ou de manière peu fiable réduisant l'intérêt principal des atlas.

Ce défaut peut aisément être dépassé si l'on effectue le recalage de toutes les instances de la population vers une instance virtuelle qui n'est pas prédéfinie. Celle-ci peut être identifiée en considérant successivement chaque membre comme image de référence [165]. Chaque image de référence va donc générer une transformation moyenne à partir des transformations *pairwise* avec les autres instances de la population. Ensuite l'ensemble des images moyennes vont être sommé pour créer l'image de référence de cette population (Fig. 4.1). L'utilisation des comparaisons *pairwise* permettent d'augmenter sensiblement les performances mais laisse de côté les propriétés statistiques globales de la population.

La seconde amélioration apportée fut construite autour de l'utilisation des informations statistiques contenues dans l'ensemble de la population pour définir l'image de référence. Il a donc été élaboré des techniques de construction de l'image de référence en parallèle du calcul des déformations grâce au calcul itératif de l'image commune à la population [91]. Celle-ci se définit comme le lieu où les images de la population sont déformées de manière minimale selon un critère de moindre carré [91] ou bien basée sur l'information mutuelle [20]. Dans ce dernier cas, les déformations sont estimées avec un modèle FFD et leur détermination s'effectue sous la contrainte d'un champ moyen de déformation nul. Ces deux approches sont similaires aux problèmes de génération du modèle d'un objet. C'est pourquoi des méthodes unifiant cet aspect et le recalage *groupwise* ont été proposées en s'appuyant sur un critère MDL (Minimum Description Length) [181]. Cependant ce type d'approche repose toujours sur l'utilisation d'une image de référence en considérant des images peu éloignées de celle-ci, interdisant la présence dans la population, d'images portant des caractères phénotypiques ou traumatiques importants. De plus, la gestion de population d'images de modalités différentes dans ce cadre méthodologique est difficile.

Évolution vers des modélisations sans *template*

Différentes approches ont été proposées récemment pour s'affranchir de ce problème de définition d'une cible commune pour toute la population. Elles s'adressent tant aux problèmes géométriques qu'iconique.

Recalage de populations de données géométriques : De manière identique aux techniques utilisées dans le cadre du recalage d'une image vers l'autre, la pertinence anatomique ou géométrique d'un critère uniquement fondé sur les niveaux de gris est sujette à question.

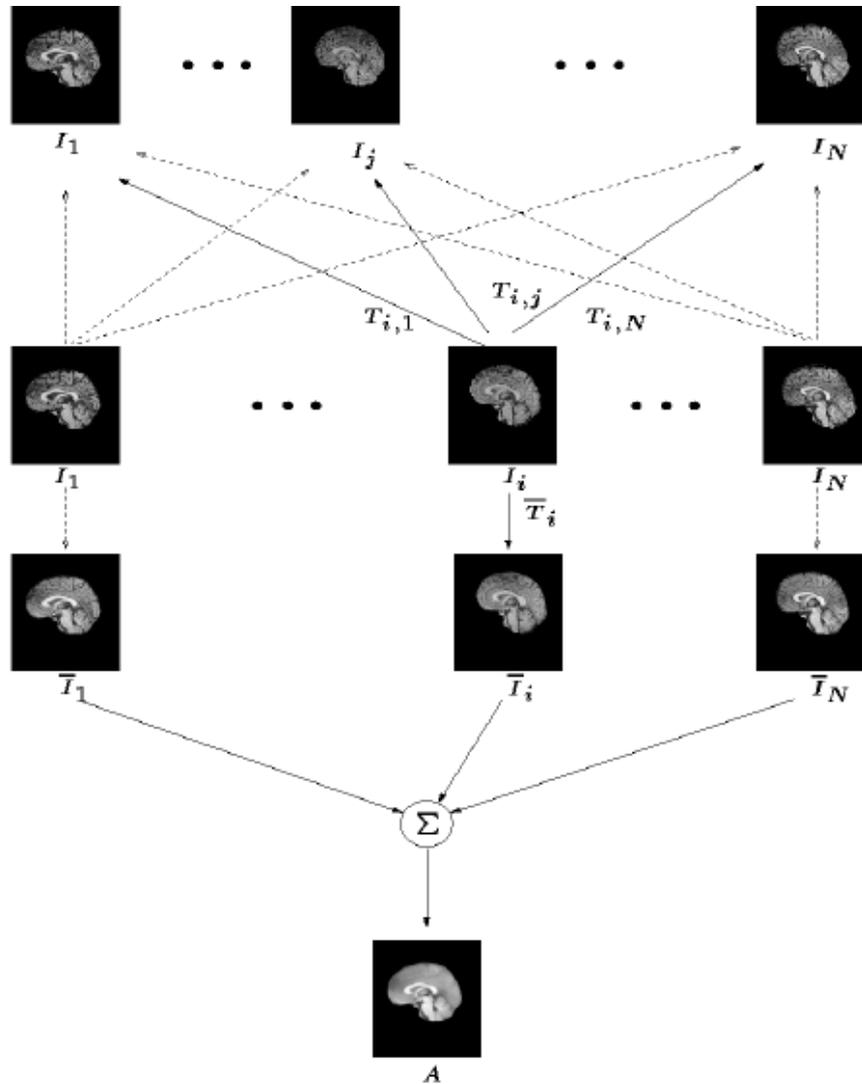


FIGURE 4.1 – Schéma de construction d'une image de référence et d'un champ de déformation moyen à partir de toutes les déformations possibles entre couples d'images [165].

Cela est particulièrement vraie dans le cadre d'un recalage *groupwise* construit sur un critère global. C'est pourquoi de nombreuses approches ont été proposées en étendant des algorithmes de type HAMMER [167] au recalage de populations d'images décrites par des descripteurs localisés [204]. Dans la même optique de construction d'atlas anatomiques fondés sur des données géométriques, Wang et al. [196] proposent de minimiser la somme des divergences de Jensen-Shannon des densités de probabilités associées à chaque attribut des descripteurs (Fig. 4.2). On peut par ailleurs noter que des techniques à base de MDL proches de celles décrites plus haut ont été utilisées dans le cadre du suivi des mouvements d'un animal à partir du flux vidéo [75] avec des résultats restreints à des parties du corps.

Sur le même principe de plus en plus les méthodes traditionnelles de recalage géométrique d'ensemble d'amer sont revisitées pour permettre la construction d'atlas anatomique fondé sur des données invariantes [193, 196].

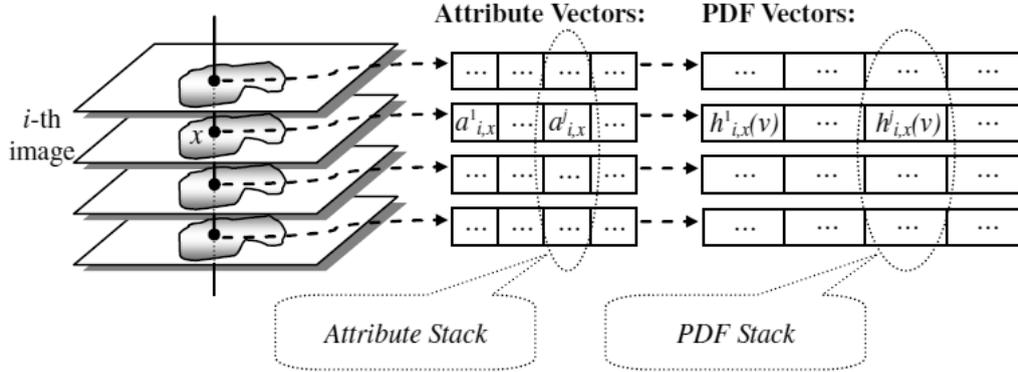


FIGURE 4.2 – Schéma de création de pile de données provenant de descripteurs localisés sur toute la pile d'images de différents sujets. Ses attributs sont ensuite comparés sous la forme de vecteur de densité de probabilité tenant compte du voisinage (Reproduit de [196]).

Critère de similarité global pour le recalage iconique : D'autres mécanismes sont donc requis pour traiter simultanément l'ensemble du groupe sans considérer d'image de référence. En s'appuyant sur les propriétés statistiques d'une pile de N images il est possible de s'affranchir d'expliciter l'image de référence [128] en utilisant un critère de similarité global basé sur la somme des entropies de pile de pixels $\{I_1(T_1(x_v)), \dots, I_N(T_N(x_v))\}$ où x_v se situe dans le système commun de coordonnées. Cette idée fut étendue au domaine de l'imagerie médicale pour permettre l'alignement conjoint de coupes cérébrales dans un modèle affine [222] puis non rigide [14] de transformation. Ce critère de type *congealing* est dans ces deux dernières approches basées sur la fonction H d'entropie :

$$\rho_{\text{global}} = \sum_{v=1}^{|V|} H(I(T(\mathbf{x}_v))), \quad (4.2)$$

permettant d'utiliser une optimisation par descente de gradient. La figure 4.3 présente les résultats obtenus avec ce critère dans le cadre du recalage d'images cérébrales. On constate alors que la compacité, traduit en terme mathématique par le critère de type *congealing*, est bien augmentée par cette méthode.

Recalage global et local de population d'images : L'idée de réunir en une seule approche l'alignement d'images avec une instance de référence et un critère global offrent la perspective de combiner leurs avantages. Toutefois, le manque de modularité et leur coût calculatoire important demeurent un obstacle à prendre en compte pour manipuler ces concepts dans une modélisation commune. En effet la difficulté principale des différentes méthodes *groupwise* réside dans le grand nombre d'opérations à effectuer (Fig. 4.1) et la mémoire tampon nécessaire qui génèrent au final des temps de calcul assez importants. Les approximations effectuées pour réduire l'influence de ce point ont permis des développements intéressants [116, 222] mais dont les performances ne sont pas totalement satisfaisantes dans le cas non-rigide. On peut aussi constater que ces techniques restent peu flexibles sur la gestion de données provenant de différentes modalités et donc de la modularité du critère de similarité qu'il soit de type *pairwise* ou global. De même elles restent liées à des modèles de déformations prédéfinies.

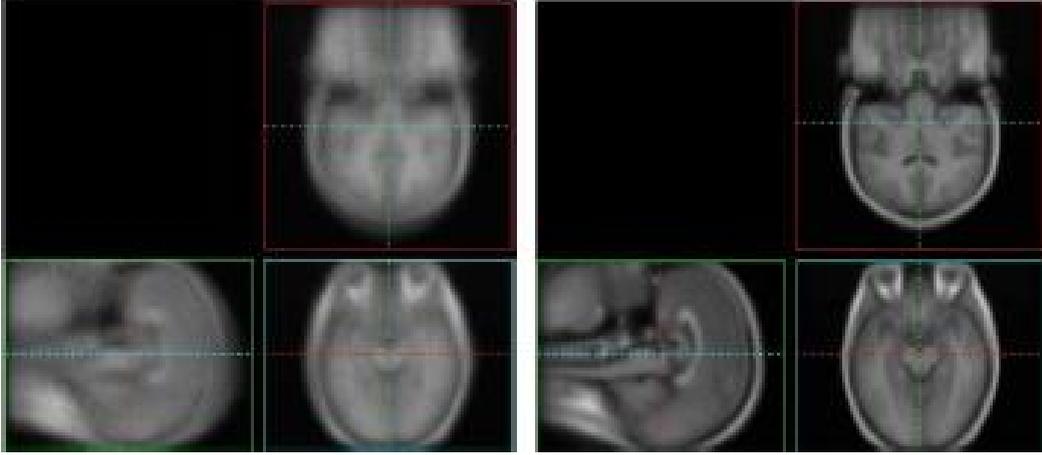


FIGURE 4.3 – Superposition dans le domaine de référence des coupes orthogonales issues de 127 volumes d'IRM avant et après recalage *groupwise* avec un critère de type *congealing* [222].

La mise en place par *Sotiras et al.* [171] d'une méthode fusionnant les critères de similarité global et *pairwise* dans un cadre performant d'optimisation discrète [101] permet d'augmenter le nombre d'applications envisageables. La modélisation proposée permet de réunir les composantes précédentes, décrites dans la littérature, et le terme de régularité nécessaire à tout problème non-rigide :

$$E_{\text{gw}} = E_{\text{pw}} + E_{\text{global}} + E_{\text{reg}} \quad (4.3)$$

Chacune des deux premières énergies est modulaire vis à vis respectivement du critère local de comparaison, noté ρ , et des diverses mesures de compacité statistique, notées γ , de la population. Diverses transformations sont utilisables dans le modèle proposé. Le critère de similarité va chercher à comparer localement les informations portées par les couples d'images i et j . Celles-ci seront comparées dans le système commun de coordonnées, noté Ω_{R} , via les deux transformations T_i et T_j issues de \mathbf{T} :

$$E_{\text{pw}} = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \iint_{\Omega_{\text{R}}} \rho(I_i(T_i^{-1}(\mathbf{x})), I_j(T_j^{-1}(\mathbf{x}))) d\mathbf{x} \quad (4.4)$$

Nous verrons dans la suite que ce critère peut être reformulé pour éviter de manipuler les transformations inverses ce qui est toujours délicat dans le cas des transformations non-rigides. De plus les calculs seront rétro-projetés dans le domaine commun aux images i et j : $\Omega_i \cup \Omega_j$. De la même manière, le critère global, inspiré des travaux de *Zollei et al.* [222], est exprimé dans le domaine commun à toutes les images : $\Omega_1 \cup \dots \cup \Omega_N$. Ces deux éléments combinés à un terme de régularité exprimé de façon simple dans le cas d'une optimisation discrète permettent d'obtenir des résultats particulièrement satisfaisants (Fig. 4.4). Ce point et la modularité de l'approche en font un choix tout à fait pertinent pour notre problématique.

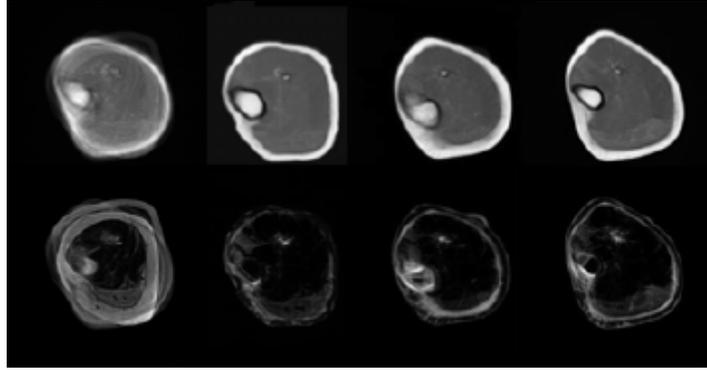


FIGURE 4.4 – Impact visuel sur le recalage de série de coupes de muscle de la cuisse [171]. De gauche à droite superposition des images dans le domaine de référence Ω_R : pose initiale des images, après recalage *groupwise* et deux exemples de recalage *pairwise*.

4.1.2 Une adaptation à l'estimation précise du mouvement de l'animal dans le cadre de l'imagerie optique

Nous avons cherché dans le chapitre précédent à établir une modélisation assurant des correspondances significatives pour un couple d'images vidéo. Dans cette modélisation, nous avons considéré classiquement que l'une des images (image source) se déformait vers l'autre (image cible) or il est possible que ce schéma souffre de deux désavantages intrinsèques [90] :

- une seule des deux images est déformée vers l'autre
- l'images cible est désignée à priori.

Ces défauts sont actuellement en passe d'être surmontés dans le cas du recalage de populations d'images. Or il est assez aisé de considérer que nos flux de données constitue une population d'images formées d'acquisitions de deux modalités différentes. On peut alors envisager transporter ces images, dites multi-canaux, vers un système commun de coordonnées d'où nous pourrions établir des relations entre toutes les images.

Au vu de l'état de l'art, les techniques dites *groupwise* exhibent donc de meilleurs résultats sur des problèmes de recalage cherchant à déterminer un ensemble de transformations reliant un ensemble d'images. Dans notre cas, les séquences d'images, constituant le flux de données généré par le système d'acquisition, peuvent être considérées comme une population d'images de l'animal sous différentes poses. Les variations de ces poses au cours de la séquence définissent le déplacement de l'animal au cours du temps. Pour estimer ces mouvements, les images, issues des deux flux de données, vont être déformées non l'une vers la suivante mais de façon simultanée vers un système commun mais virtuel de coordonnées correspondant à des déformations minimales pour l'ensemble du groupe de poses observées (Fig. 4.5).

Ce type de modélisation semble adaptée à notre problématique et permet d'intégrer les informations fournies par les données de bioluminescence d'une manière naturelle car, in fine, on cherche à aligner les données optiques sur une certaine fenêtre temporelle. On peut considérer de plus que l'ajout d'informations provenant des observations optiques ne peut que favoriser la recherche des variables cachées d'un modèle de déformation non-rigide. Cette information ne peut être que de nature statistique car la bioluminescence en tant que telle est pauvre en information spatiale. Si des signaux similaires sont présents sur plusieurs trames et que

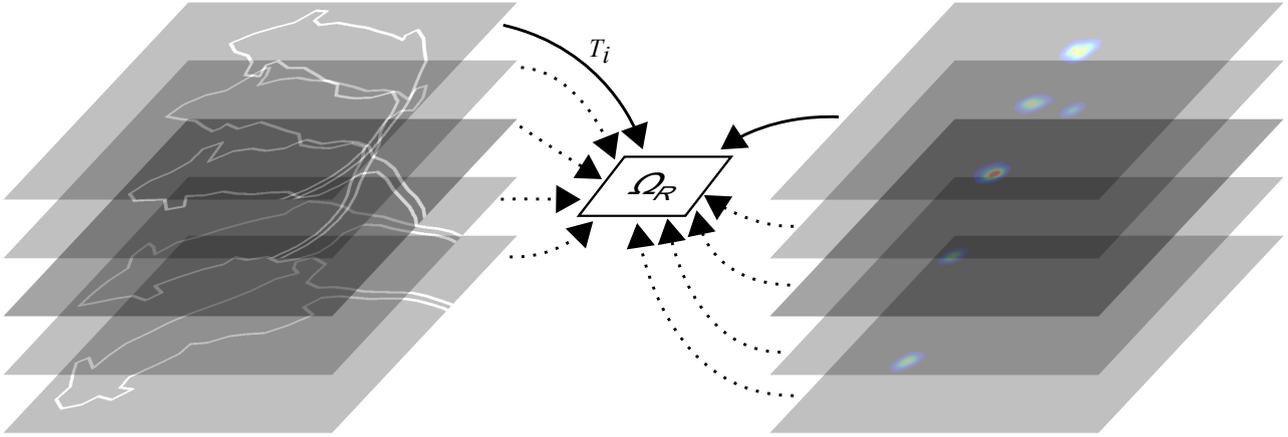


FIGURE 4.5 – Principe du recalage *groupwise* multi-canaux : les trames issues des flux vidéo et optique sont considérées comme différentes observations d'un objet à des instants différents. Pour l'ensemble des images, on cherche à déterminer les champs de déformations qui vont les relier à un système commun de coordonnées Ω_R .

l'animal ne se déplace pas alors le signal s'accumulera au même endroit. Et donc si l'animal se déplace, le signal sera lissé spatialement. La correction des mouvements de l'animal peut donc influencer cette accumulation du signal. On cherchera donc à augmenter la compacité du signal optique en parallèle de l'alignement des images vidéos vers Ω_R . De cette manière on s'affranchit du problème de définir implicitement ou explicitement une image de référence ce qui est particulièrement complexe dans le cas d'images provenant de plusieurs modalités.

Les transformations reliant les images multi-canaux et qui sont nécessaires pour la correction du mouvement (cf. Eq. 2.3) sont disponibles dans ce cas que s'il est possible d'assurer le difféomorphisme des transformations reliant les images à Ω_R . En effet la transformation $T_{i \rightarrow i+1}$ reliant deux images successives (i et $i+1$) sera estimée de la manière suivante à partir des transformations T_i et T_{i+1} liant les éléments de notre population au domaine de référence :

$$T_{i \rightarrow i+1} = T_i \circ T_{i+1}^{-1}, \quad (4.5)$$

C'est pourquoi une approche de détermination des champs de déformation particulièrement efficace et robuste et assurant le difféomorphisme est obligatoire.

Un dernier point intégrable de façon aisée dans notre approche *groupwise* est la prise en compte des informations géométriques extraites des trames vidéos qui sous la forme d'ensemble de niveaux assurent la signification des correspondances établies. Pour toute ces raisons, le cadre méthodologique proposé avec *Sotiras et al.* semble s'accorder à notre problématique de prise en compte de tous les flux de données disponibles. Les informations géométriques provenant des représentations implicites seront évaluées via un critère *pairwise* (Eq. 4.4) tandis que les données de bioluminescence seront incorporées simultanément sous la forme d'une distribution dont on évaluera la compacité sur la globalité de la population (sur le principe de l'équation 4.2). Le difféomorphisme de \mathbf{T} nécessaire à notre contexte est assuré par une modélisation sous contrainte d'une déformation de type FFD. En ce qui concerne le cout calculatoire de cette méthode, il est géré efficacement par l'intermédiaire d'une optimisation discrète sur un graphe de type MRF (*Markov Random Field*).

4.2 Fusion de population d'images multi-canaux dans une approche discrète

L'approche *groupwise* de notre problème d'estimation de mouvement à partir des flux de données *in actio* est basée sur le cadre méthodologique proposé par *Sotiras et al.* [171] dans lequel nous intégrerons nos N images multi-canaux $\{I_1, \dots, I_N\}$. Chaque image multi-canaux $I_i = \{V_i, O_i\}$ est donc composée des informations provenant du flux vidéo V_i et du flux de données biologiques O_i qui sont acquis de façon simultanée (cf. chapitre 2). On cherche à partir de ces données à transporter le plus précisément possible cette population d'images vers une pose commune, accessible avec des difféomorphismes décrivant des déformations non-rigides. Contrairement à la méthode élaborée dans le chapitre précédent, nous tenons compte de toutes les informations disponibles pour estimer le champ de déformation $\mathbf{T} = \{T_1, \dots, T_N\}$ qui transporte toutes les instances de la population vers un système commun de coordonnées. Ce problème de recalage sera modélisé avec une approche discrète sous la forme d'un problème de minimisation.

4.2.1 Modélisation de la transformation

Au vu des propriétés exposées dans la section 3.2.2, les transformations de type B-Splines FFD sont particulièrement adaptées à notre problème. En effet, il est possible avec ce type de transformations d'imposer le caractère inversible d'une transformation de manière explicite. Il suffira alors de limiter le maximum du déplacement \mathcal{D} à être inférieur à 40% de la distance entre les points de contrôle [39]. De plus la nature du déplacement généré par la moyenne pondéré du déplacement d'une grille G_i de points de contrôle \mathbf{p} est parfaitement compatible avec une modélisation discrète et une optimisation efficace [67]. De façon générale \mathcal{D} peut être calculé sous la forme suivante :

$$\mathcal{D}(\mathbf{x}) = \sum_{\mathbf{p} \in G} \eta(|\mathbf{x} - \mathbf{p}|) \mathbf{d}_{\mathbf{p}} \quad (4.6)$$

$\eta(\cdot)$ détermine alors la pondération de chacun des points de contrôle \mathbf{p} dans le déplacement d'un pixel \mathbf{x} . Dans notre cas, cette fonction est de type B-Spline et s'exprime selon l'équation 3.13 et les paramètres décrits dans la figure 3.7.

Notre but étant de déformer une population d'images vers un système commun de coordonnées de façon simultanée, nous considérons une grille de déformation générale $\mathbf{G} = \{G_1, \dots, G_N\}$, où chaque grille $G_i : [1, K] \times [1, L]$ correspond à une image à déformer et appartenant au domaine Ω_i correspondant. Cette grille est commune aux données du flux vidéo et de celles du flux optique. En lieu et place d'une déformation directe de toute la population, les grilles vont être déformées simultanément pour maximiser l'alignement, à travers les variations du vecteur $d_{p_i^k}$ de chaque point de contrôle k d'une grille G_i . La transformation d'un pixel \mathbf{x}_i de l'image I_i peut alors s'écrire :

$$T_i(\mathbf{x}_i) = \mathbf{x}_i + \mathcal{D}_i(\mathbf{x}_i) \quad (4.7)$$

Cette modélisation ouvre la voie à une approche multi-échelle simple basée sur le raffinement des densités des grilles et la création d'une pyramide gaussienne des piles d'images. Il est alors envisageable de déterminer un large éventail de déplacements autorisés au sein de la

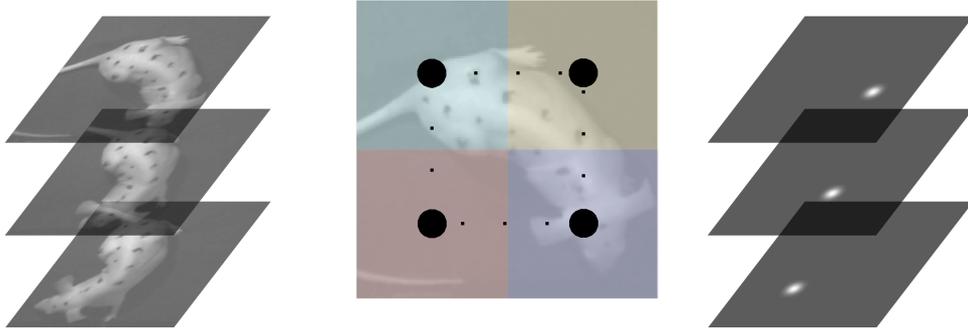


FIGURE 4.6 – Principe de superposition des grilles de points de contrôle sur les images optique et vidéo. Chaque point de contrôle déforme une zone autour de lui et lors de l’optimisation son déplacement est influencé par cette même zone.

pile d’images selon une approche de la plus large à la plus fine largement utilisée en recalage d’images médicales [162]. Ces déformations influenceront simultanément les différentes images (vidéos ou optique) à chaque niveau de précision. Cette approche est similaire à celle utilisée dans les méthodes de *Block Matching* [137] même si celles-ci n’offrent pas la possibilité de gérer des images multi-canaux et des approches intrinsèquement *groupwise*.

La pile d’images étant constitué d’images successives, il est possible de considérer que l’ensemble des déformations à déterminer est composé de petites déformations. Ceci permet d’éloigner le spectre d’un minimum existant à l’extérieur de la région considérée autour du point de contrôle.

4.2.2 Modélisation discrète du problème

Les dimensions de l’espace des paramètres sont relativement importantes dans ce type de problème *groupwise* et la non-convexité des fonctions d’énergie associées nécessitent l’utilisation de méthodes performantes pour relever ce challenge. Une possibilité assez largement utilisée dans la communauté de vision par ordinateur est basée sur l’optimisation discrète. Ses principaux atouts résident dans sa capacité à offrir des garanties sur la qualité de la solution fournie et la possibilité d’une bonne efficacité en terme de coût calculatoire [100]. Ces approches sont en outre totalement modulaire vis à vis du modèle défini par : les variables cachées à estimer et les observations. L’optimisation discrète repose sur une partie de la théorie des graphes dont les caractéristiques et les concepts sont fournis dans le livre de *Papadimitriou et Steiglitz* [139]. *Komodakis* fournit dans son manuscrit de thèse une description détaillée des potentiels de cette méthode de minimisation dans différents domaines de la vision par ordinateur (segmentation d’images, reconstruction par stéréovision,...) et du recalage d’images médicales. En effet ce cadre méthodologique est devenu très populaire dans ce dernier domaine [67, 114, 171, 173].

Toutes ces méthodes ont pour but de chercher à estimer des variables cachées, notées L qui peuvent représenter en autre soit des labels, la profondeur ou le déplacement. À partir de nos observations multi-canaux, I_i , nous pouvons construire une énergie $E : (L, I_i) \rightarrow E(L, I_i) \in \mathbb{R}$

que l'on cherche à minimiser :

$$L_{\text{opt}} = \arg \min_L E(L, I_i) \quad (4.8)$$

L_{opt} représente la solution optimale qui correspond à la meilleure configuration de valeurs parmi toutes celles possibles.

Dans notre cas, notre modèle de déformation est basé sur les variations de position des nœuds des grilles \mathbf{G} . Nous avons donc choisi d'échantillonner les déplacements de ces nœuds selon les directions horizontales et verticales. Ce choix permet de faire un compromis entre la qualité de la transformation et le coût calculatoire. Dans le but de conserver un nombre raisonnable d'échantillons, l'optimisation s'effectuera d'une manière itérative (définie selon le temps t) et on échantillonnera plus finement les déplacements en fonction du niveau dans la pyramide d'images.

Nous considérons donc un ensemble discret de labels $L = \{l_1, \dots, l_q\}$ qui sont associés à des échantillons du champ de déformation $\{\mathbf{d}^{l_1}, \dots, \mathbf{d}^{l_q}\}$. \mathbf{d}^{l_p} correspond à affecter le label l_p à un point de contrôle p qui pourra se déplacer du vecteur défini par l'échantillon identifié par le label l_p . Par exemple si à partir du tableau 4.1 l'on considère que $l_p = 4$ alors p se déplacera d'un vecteur $[-\delta_x/2, 0]$ où δ_x correspond au déplacement maximum autorisé. Pour toute une grille on obtient un graphe dont les sommets représentent les points de contrôle et les arrêtes les dépendances entre chacun des sommets (Fig. 4.7). Notre problème de recalage d'une population d'images consiste alors à associer l'ensemble optimal de label aux grilles \mathbf{G} qui à travers la déformation associée vont aligner l'ensemble des images. Notre problème d'optimisation sur les paramètres \mathbf{d} se transforme donc en problème d'optimisation combinatoire sur les labels L . Un niveau G_0 sera ajouté à la modélisation pour prendre en compte les données de bioluminescence dans leur globalité.

l_p	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$d_x^{l_p}$	0	$\delta_x/2$	δ_x	$-\delta_x/2$	$-\delta_x$	0	0	0	0
$d_y^{l_p}$	0	0	0	0	0	$\delta_y/2$	δ_y	$-\delta_y$	$-\delta_y/2$

TABLE 4.1 – Exemple de lien entre labels et échantillons de déplacement des points d'une grille G . L'échantillonnage peut s'effectuer de multiple façon.

D'un point de vue mathématique, ce type de problème peut être formulé de façon efficace avec des graphes de type *Markov Random Field* [186]. Un modèle MRF est composé de deux entités :

- un graphe \mathcal{G}_{MRF} où chaque sommet s représente une variable aléatoire et chaque arrête (s, t) représente la dépendance entre les variables aléatoires s et t ,
- un ensemble de fonction de potentiel V .

L'énergie associée à une configuration de label \mathbf{l} se formule de façon suivante en fonction des potentiels :

$$E_{\text{MRF}}(\mathbf{l}) = \sum_{\mathbf{p} \in \mathbf{G}} V_{\mathbf{p}}(l_{\mathbf{p}}) + \sum_{\mathbf{p} \in \mathbf{G}} \sum_{\mathbf{q} \in \mathcal{N}(\mathbf{p})} V_{\mathbf{pq}}(l_{\mathbf{p}}, l_{\mathbf{q}}) \quad (4.9)$$

où $\mathcal{N}(\mathbf{p})$ représente le voisinage des nœuds \mathbf{p} . Cette formule somme sur les sommets associés différents potentiels :

- $V_{\mathbf{p}}(\cdot)$ qui est le potentiel dit unitaire permettant de déterminer si la valeur assignée au nœud p correspond aux données observées, ici les images.

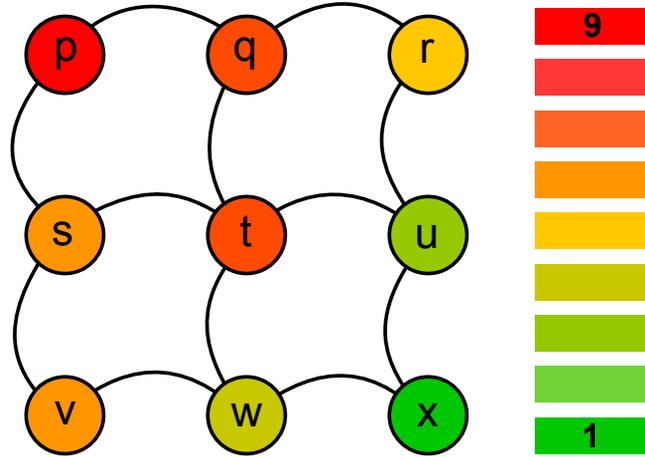


FIGURE 4.7 – Graphe de type *Markov Random Field* adapté sur une grille de points de contrôle G . Chaque sommet correspond à un point de contrôle et sa couleur correspond au label qui lui est assigné et donc au déplacement associé (tableau 4.1).

- $V_{\mathbf{pq}}(\cdot, \cdot)$ qui est le potentiel de couple (ou *pairwise* en anglais) permettant de déterminer l'influence d'une valeur de label attribuée à p sur celle attribuée à q .

Cette énergie peut être complexifiée au risque d'engendrer un coût calculatoire important pour un faible apport en terme de qualité des transformations estimées pour ce type de recalage [67, 171].

Dans notre modélisation, l'équation 4.9 peut être réécrite en décomposant le terme *pairwise* entre un potentiel reliant deux grilles G_i et G_j entre elles et un potentiel interne à une grille :

$$E_{\text{MRF}}(\mathbf{l}) = \alpha \sum_i^n \sum_{\mathbf{p}_i^k \in G_0} V_{\mathbf{p}_i^k}(l_{\mathbf{p}_i^k}) + \beta \sum_i^{n-1} \sum_{j=i+1}^n \sum_{\mathbf{p}_i^k \in G_i} \sum_{\mathbf{q}_j^k \in G_j} V_{\mathbf{p}_i^k \mathbf{q}_j^k}(l_{\mathbf{p}_i^k}, l_{\mathbf{q}_j^k}) + \gamma \sum_i^n \sum_{\mathbf{p}_i^\lambda \in G_i} \sum_{\mathbf{q}_i^\mu \in \mathcal{N}(\mathbf{p}_i^\lambda)} V_{\mathbf{p}_i^\lambda \mathbf{q}_i^\mu}(l_{\mathbf{p}_i^\lambda}, l_{\mathbf{q}_i^\mu}) \quad (4.10)$$

Dans cette équation, le premier terme (dit *singleton*) représente l'accumulation des mesures basées sur les intensités (ici liées aux données de bioluminescence) le long de la pile d'images. Le second terme (dit *inter-pairwise*) permet d'évaluer la similarité entre des paires d'images vidéos tandis que le dernier (dit *intra-pairwise*) évalue la régularité des déformations estimées. α , β et γ sont les paramètres fixés de pondération de cette énergie que l'on déterminera expérimentalement. Les différents potentiels de cette énergie peuvent être représentés dans un schéma explicatif (Fig. 4.8) établissant le lien avec les images de notre population.

4.2.3 Caractéristiques des potentiels MRF pour le recalage simultané de flux vidéo et optique

Les trois potentiels de l'équation 4.10 définissent le modèle attaché aux données, I_i , de notre problème et reflètent l'objectif d'alignement de toutes les données avec des transformations

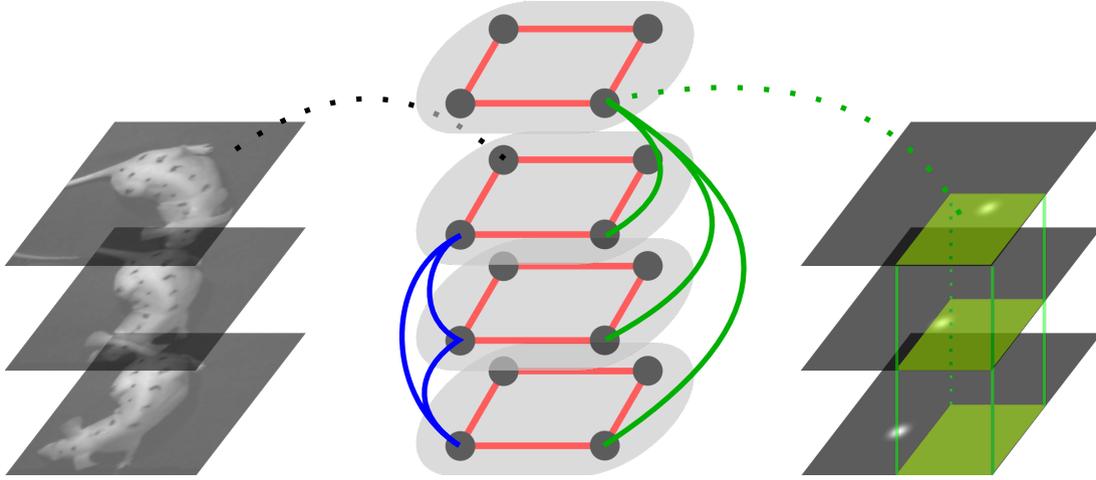


FIGURE 4.8 – Représentation sous forme de graphe de notre problème de recalage discret d’une population d’images multi-canaux. On retrouve à gauche et à droite les différentes images composant une pile. Au centre le graphe construit à partir des grilles de contrôle G_i de la déformation FFD associée à chaque image (pointillés noirs). G_0 placé au dessus des grilles G_i permet de modéliser la compacité des données de bioluminescence via les potentiels associés à ce niveau. Les différentes interactions entre les sommets (points noirs) et entre sommets et images symbolisent les potentiels V de l’énergie définie dans l’équation 4.10 : le terme *singleton* en vert, le terme *intra-pairwise* en rouge et le terme *inter-pairwise* en bleu.

optimales et régulières \mathbf{T} .

Compacité de la distribution du signal de bioluminescence : L’idée générale derrière ce potentiel (illustré en vert sur la figure 4.8) est de considérer que si les images sont alignées alors la distribution locale du signal optique deviendra de plus en plus compacte autour des zones d’émission du signal. On peut constater cet effet lors de la correction du flou de mouvement par exemple avec notre première méthode. Dans notre cas l’écart-type de la distribution est la mesure statistique qui nous a semblé, après tests, la plus adaptée à notre cas où le signal est très disparate sur chaque trame. Dans une description idéale de notre problème, il serait nécessaire que ce potentiel soit dépendant des déformations appliquées à toutes les images. Or dans ce cas il serait nécessaire d’allourdir fortement le coût calculatoire avec l’ajout dans le graphe d’interactions complexes (*high order clique*) et rendant le problème plus difficile à optimiser. Nous avons donc choisi de considérer que lors du déplacement d’un point de contrôle $\mathbf{p}_i \in G_i$, les autres images ne sont pas déformées durant l’itération courante t . Cette approximation est peu restrictive et est assez commune dans les processus de minimisation discrète par mouvement d’expansion :

$$V_{\mathbf{p}_i^k}^t(l_{\mathbf{p}_i^k}) \approx \int \cdots \int_{\Omega_1 \cup \cdots \cup \Omega_n} \eta_s^{-1}(\mathbf{x}_i, \mathbf{p}_i^k) \cdot \psi(T_1^{t-1}(\mathbf{x}_1), \cdots, T_i^t(\mathbf{x}_i), \cdots, T_n^{t-1}(\mathbf{x}_n)) \cdot STD(O_1(T_1^{t-1}(\mathbf{x}_1), \cdots, O_i(T_i^t(\mathbf{x}_i)), \cdots, O_n(T_n^{t-1}(\mathbf{x}_n))) \, d\mathbf{x}_1 \cdots d\mathbf{x}_n \quad (4.11)$$

Avec

$$\psi(\cdot) = \prod_{(i,j) \in [1,n] \times [1,n]} \delta(|T_i^t(\mathbf{x}_i) - T_j^{t-1}(\mathbf{x}_j)|)$$

qui permet d'identifier les pixels dont les positions ont été recalculées dans le domaine de référence tandis que

$$\eta_s^{-1}(\mathbf{x}_i, \mathbf{p}_i^k) = \frac{\eta(|\mathbf{x}_i - \mathbf{p}_i^k|)}{\int_{\Omega_i} \eta(|\mathbf{y}_i - \mathbf{p}_i^k|) d\mathbf{y}_i}$$

évalue l'influence d'un pixel x_i sur le point de contrôle \mathbf{p}_i . Si l'on se place dans le cas d'une influence de type plus proche voisin, alors chaque pixel n'influencera que le point de contrôle le plus proche avec un coefficient de 1. Or dans notre cas d'une déformation FFD, l'influence du pixel dépend via η du déplacement de la grille. L'équation 4.11 dérive de l'équation 4.2 dans laquelle les coûts sont ramenés de manière pratique à l'intersection des images déformées par les transformations directes. On obtient avec cette formule une indication sur le coût de déformer l'image I_i via l'application du label $l_{\mathbf{p}_i^k}$ sur le nœud p_i^k appartenant à la grille G_i et situé à la position k en tenant compte uniquement des informations optiques. La compacité des données de bioluminescence est mesurée via l'écart-type (noté STD) de la distribution des intensités le long de la pile d'images ou plus précisément de la région concernée par les labels modifiés (Fig. 4.8).

Similarité de couples d'images vidéos : Ce terme permet d'évaluer la similarité entre toutes les images fournies par le flux vidéo après avoir été déformées par une paire de labels (via le déplacement des grilles associées). Il s'exprime sous la forme suivante :

$$V_{\mathbf{p}_i^k \mathbf{q}_j^k} \left(l_{\mathbf{p}_i^k}, l_{\mathbf{q}_j^k} \right) \approx \int_{\Omega_i \cup \Omega_j} \delta(T_i(\mathbf{x}_i), T_j(\mathbf{x}_j)) \cdot \eta_p^{-1}(\mathbf{x}_i, \mathbf{p}_i, \mathbf{x}_j, \mathbf{q}_j) \cdot \rho(T_i(\mathbf{x}_i), T_j(\mathbf{x}_j)) d\mathbf{x}_i d\mathbf{x}_j, \quad (4.12)$$

dans laquelle ρ permet de mesurer la similarité entre deux images comme dans tout problème classique de recalage. $\delta(\cdot) = \delta(|T_i(\mathbf{x}_i) - T_j(\mathbf{x}_j)|)$, aussi utilisée dans eq.4.11, est basée sur une fonction de Dirac permet de déterminer quels pixels $\mathbf{x}_i \in \Omega_i$ et $\mathbf{x}_j \in \Omega_j$ sont liés à la même position dans le domaine où la comparaison s'effectue. Dans ce cas, l'influence des pixels sur les points de contrôles est un peu plus complexe :

$$\begin{aligned} \eta_p^{-1}(\mathbf{x}_i, \mathbf{p}_i, \mathbf{x}_j, \mathbf{q}_j) &= \eta_p^{-1}(|\mathbf{x}_i - \mathbf{p}_i|, |\mathbf{x}_j - \mathbf{q}_j|) \\ &= \frac{\eta(|\mathbf{x}_i - \mathbf{p}_i|) \eta(|\mathbf{x}_j - \mathbf{q}_j|)}{\int_{\Omega_i \cup \Omega_j} \delta(T_i(\mathbf{y}_i), T_j(\mathbf{y}_j)) \eta(|\mathbf{y}_i - \mathbf{p}_i|) \eta(|\mathbf{y}_j - \mathbf{q}_j|) d\mathbf{y}_i d\mathbf{y}_j}. \end{aligned} \quad (4.13)$$

La construction d'une fonction ρ assurant la validité et la robustesse des correspondances entre les images vidéos est toujours aussi complexe. Nous cherchons à conserver une finesse des transformations estimées sur toutes les parties du corps comme nous avons pu avoir à le faire avec la première méthode. En reprenant les notations de la création de notre critère robuste de la section 3.3.1, nous avons défini ρ à partir d'une représentation implicite de la silhouette de l'animal et des marqueurs placés sur son corps (respectivement ϕ_{sil} et ϕ_{lan}) dans le système de

coordonnées $\Omega_i \cup \Omega_j$:

$$\begin{aligned} \rho_{\text{sil}}(T_i(\mathbf{x}_i), T_j(\mathbf{x}_j)) &= \chi_\mu \left(\phi_{\text{sil}}(T_i(\mathbf{x}_i)) \right) \left(\phi_{\text{sil}}(T_i(\mathbf{x}_i)) - \phi_{\text{sil}}(T_j(\mathbf{x}_j)) \right)^2, \\ \text{et} \\ \rho_{\text{lan}}(T_i(\mathbf{x}_i), T_j(\mathbf{x}_j)) &= \mathcal{H}_\nu \left(\phi_{\text{sil}}(T_i(\mathbf{x}_i)) \right) \left(\phi_{\text{lan}}(T_i(\mathbf{x}_i)) - \phi_{\text{lan}}(T_j(\mathbf{x}_j)) \right)^2, \\ \text{d'où} \\ \rho &= \rho_{\text{sil}} + \kappa \rho_{\text{lan}} \end{aligned} \quad (4.14)$$

On se référera aux équations 3.29 et 3.30 pour les définitions des éléments de ce critère qui permet d'établir des correspondances géométriques entre les paires de poses prises par l'animal au sein de la pile. Il permet d'assurer la robustesse de la comparaison entre images qui sont peu différentiables et surtout dont les conditions d'acquisition ne sont pas optimales (point de vue de la caméra, conditions d'éclairage). Nous avons montré dans le chapitre précédent que les performances de ce critère sont très acceptables pour ce type de flux de données vidéos.

Régularité des transformations estimées : Les potentiels des équations 4.11 et 4.12 définissent des contraintes sur l'ensemble des déformations à estimer à partir des deux flux de données cinématiques. Or rien n'assure la régularité locale de chaque transformation imposée à une image de la population. Ces transformations étant paramétrées sous forme de grille, il est tout à fait naturel de définir simplement cette contrainte au niveau de chaque grille G_i en s'appuyant sur l'indicateur classique des modélisations continues $\|\nabla u\|$. Dans notre modélisation sous forme de MRF, cette contrainte peut se traduire sous la forme d'un potentiel qui pénalisera les différences de valeurs de déformations prises par des sommets appartenant au même voisinage. Ce potentiel *inter-pairwise* sera alors défini à partir d'une distance entre les magnitudes des vecteurs de déformation d'une grille G_i :

$$V_{\mathbf{p}_i, \mathbf{q}_i} (l_{\mathbf{p}_i}^k, l_{\mathbf{q}_i}^\xi) = \left| \mathbf{d}^{l_{\mathbf{p}_i}^k} - \mathbf{d}^{l_{\mathbf{q}_i}^\xi} \right|_1 \quad (4.15)$$

$d_{\mathbf{p}_i}^{l^k}$ définit alors le déplacement associé au label l^k d'un point de contrôle \mathbf{p}_i .

4.2.4 Optimisation de notre graphe de type MRF

Les paramètres optimaux de ce modèle peuvent être déterminés par les méthodes d'optimisation combinatoire les plus récentes [175]. Ces méthodes sont particulièrement puissantes sur des problèmes de type NP-difficile comme peut l'être notre problème de choix de labels optimaux sur des potentiels issus d'un graphe de type MRF. Les méthodes ICM (Iterated Conditional Modes), LBP (Loopy Bielef Propagation) et α -expansion offrent des approximations tout à fait acceptable. Nous avons utilisé la méthode d'optimisation Fast-PD élaborée par *Komodakis et al.* [101] pour minimiser notre graphe. Cet algorithme permet de minimiser de façon linéaire un problème de type primal-dual approximant un problème NP-difficile. Cette approche permet de garantir que la solution obtenue dans un temps très rapide sera toujours la meilleure approximation de la véritable solution. De plus contrairement aux approches variationnelles utilisées dans notre méthode précédente, cette méthode n'est pas sensible aux conditions initiales.

Grâce à cet algorithme de minimisation performant et à une modélisation sous forme de recalage *groupwise* d'une population d'images multi-canaux, notre processus de fusion des flux cinématiques avec intégration du signal optique montrera des résultats surement supérieurs à ceux obtenus avec notre précédente méthode.

4.3 Résultats expérimentaux et comparaison avec notre approche séquentielle

La méthode que l'on vient de décrire a pour but de calculer l'ensemble des transformations entre les images des flux de données et un système commun de coordonnées. Les performances intrinsèques d'une approche similaire basée sur des populations d'images comparées uniquement sur leur niveau de gris étant déjà connues [171], nous sommes attirés à montrer l'intérêt de ce type de méthode vis à vis de notre problématique.

Il est alors nécessaire pour effectuer notre processus de fusion décrit par l'équation 2.3 de transformer les déformations estimées avec l'équation 4.5. Le difféomorphisme des transformations étant assuré par notre modèle, on peut considérer comme dans la méthode précédente que l'évaluation des résultats lors de la fusion des deux flux permet de valider la modélisation proposée. Pour cela nous avons repris les séquences précédentes acquises avec le dispositif *in actio* et comparer les résultats obtenus avec les deux approches sur les points suivants :

- l'évaluation du recalage *groupwise* de notre population d'images multi-canaux,
- la dispersion du signal à l'intérieur d'une fenêtre temporelle avant et après correction du mouvement,
- les caractéristiques des régions d'intérêts détectées.

De façon identique à la première méthode, les données de bioluminescence sont intégrées avec différents temps d'exposition mais la taille des populations d'images multi-canaux est fixée à 15 pour garder l'ensemble des images compatible avec une recherche de petites déformations liées à la taille de la grille. De plus cela permettra de limiter la taille de la mémoire occupée par le stockage des différents potentiels décrits plus haut. Pour assurer la continuité d'une pile à l'autre des transformations estimées, les piles successives d'images se chevauchent l'une sur l'autre. En ce qui concerne les facteurs de pondération α , β et γ , leurs valeurs sont fixées à l'aide de la première séquence de test et conservées par la suite respectivement à 2, 1 et 18.

4.3.1 Évaluation du recalage *groupwise* d'une pile d'images multi-canaux

La première évaluation que nous avons menée dans la phase d'expérimentation de cette approche fut de considérer les images en sortie de notre algorithme. C'est pourquoi nous avons extrait plusieurs piles d'images de notre processus de détermination de l'ensemble des transformations d'une séquence. La figure 4.9 permet d'observer l'impact de notre méthode sur les deux piles d'images issues des deux différents flux via la moyenne des images vidéos et la somme des données de bioluminescence. On constate sur la partie gauche de cette figure que la moyenne des images issues du flux vidéo semble beaucoup plus nette et contrastée après recalage. De même les données accumulées tout le long de la pile semble être localisées de façon plus compacte et sans ajout de bruit externe. Il est donc possible de considérer que visuellement cette approche

offre des résultats bien plus performants qu'une méthode *groupwise* qui estime à partir des seules données vidéos le déplacement de l'animal (hormis sa tête) [75].

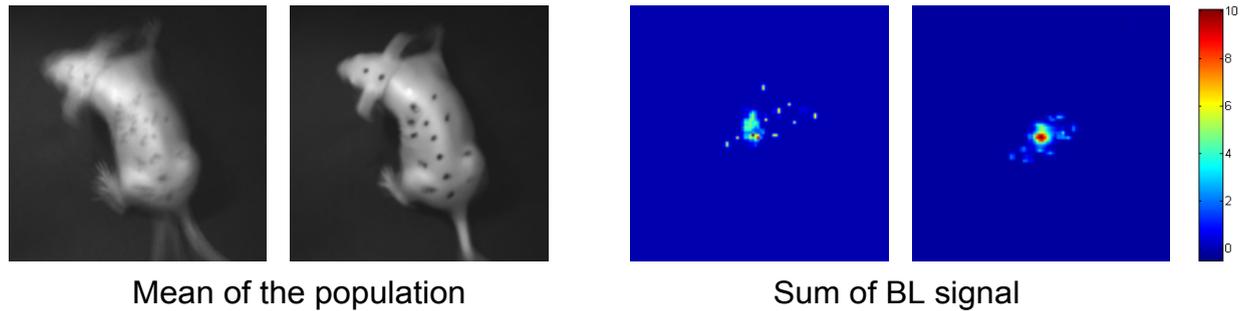


FIGURE 4.9 – Exemple de résultats du recalage *groupwise* d'une pile d'images multi-canaux. Le couple d'images à gauche représente la moyenne des images vidéos avant et après recalage respectivement à gauche et à droite. De même le couple de droite montre l'impact du recalage sur la somme des images d'une pile issue du flux optique.

À partir des transformations ainsi estimées nous pouvons effectuer une intégration correcte du signal de bioluminescence dans une certaine fenêtre temporelle. La figure 4.10 expose le résultat d'une trame d'un film de fusion (fenêtre temporelle de 1 s) avec et sans correction du mouvement. On constate alors que cette méthode permet visuellement de rétablir le lien entre le signal de bioluminescence et sa zone d'émission dans le cas d'acquisitions cinématiques.

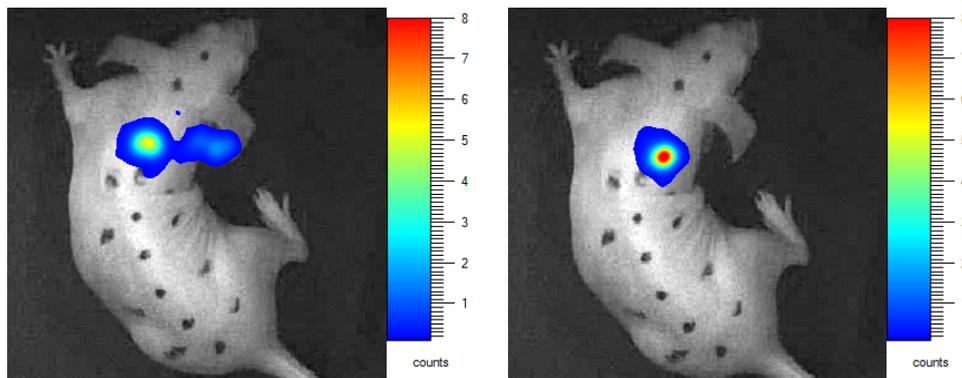


FIGURE 4.10 – Fusion de données optiques et vidéos avec une fenêtre temporelle 1 s : de gauche à droite, sans et avec correction du mouvement de l'animal via notre approche *groupwise*

4.3.2 Étude de la dispersion du signal optique sur une séquence test

Dans le but de corroborer les résultats visuels précédents, nous avons effectué diverses mesures sur les acquisitions déjà utilisées dans le chapitre précédent. Le premier outil décrit par l'équation 3.35 nous permet d'évaluer la dispersion du signal sur une acquisition de 100 trames dans laquelle les informations optiques sont synthétiques. Cette mesure est effectuée sur

chaque trame du film de fusion et pour différentes fenêtres temporelles avant et après correction du mouvement.

La comparaison pour deux temps d'exposition différents (500 ms et 1 s) des valeurs de dispersion du signal avant et après sa correction montre un impact significatif de notre méthode (notée GW dans la suite) tout le long de la séquence (Fig.4.11). Les résultats obtenus avec les autres temps d'exposition (tableau 4.2) permettent d'accréditer le fait que la modélisation *groupwise* de notre problème semble plus performante que celle s'appuyant uniquement sur le flux vidéo (notée PW). La robustesse de la correction est conservée avec cette nouvelle approche voire même améliorée si l'on compare les gains obtenus. La figure 4.16 illustre cette comparaison qui donne un avantage à notre seconde approche.

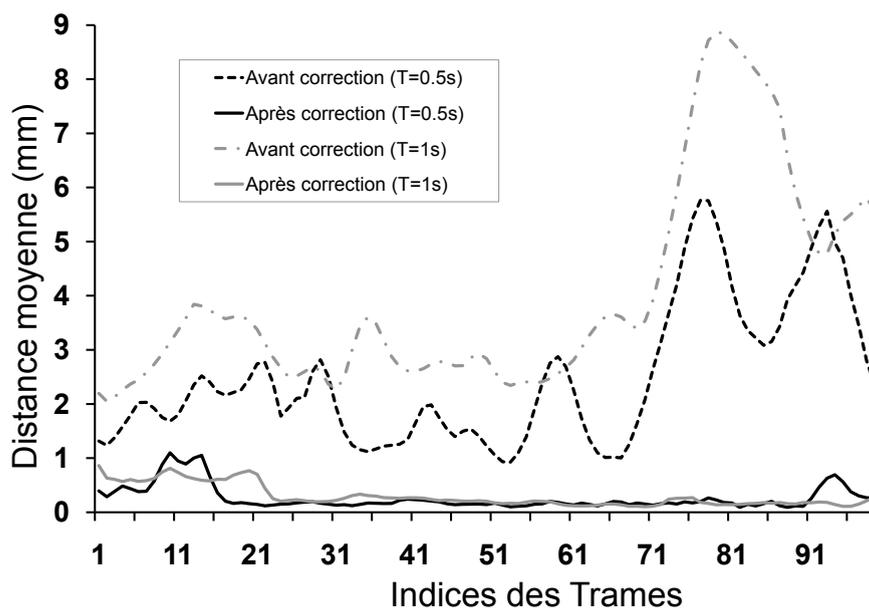


FIGURE 4.11 – Mesure de la dispersion du signal (équation 3.35) pour deux temps d'exposition avant et après correction du mouvement avec l'approche GW.

Fenêtre temporelle :	0.25 s	0.35 s	0.5 s	0.75 s	1 s
Avant correction (mm) :	1.51	1.98	2.47	3.37	3.99
Après correction PW(mm) :	0.3	0.32	0.37	0.44	0.48
Après correction GW(mm) :	0.24	0.24	0.26	0.28	0.29

TABLE 4.2 – Comparaison de la dispersion moyenne du signal de bioluminescence avant et après correction pour différentes fenêtres temporelles avec les deux méthodes proposées.

En affinant les résultats obtenus en manipulant les paramètres de l'algorithme (pondérations de différentes énergies, échantillonnage du déplacement des nœuds), nous avons sélectionné la meilleure configuration qui sera conservée par la suite. En suivant le raisonnement du chapitre précédent basé sur l'analyse du gain offert à l'utilisateur, nous avons comparé l'impact des deux approches avec les outils classiques d'analyse.

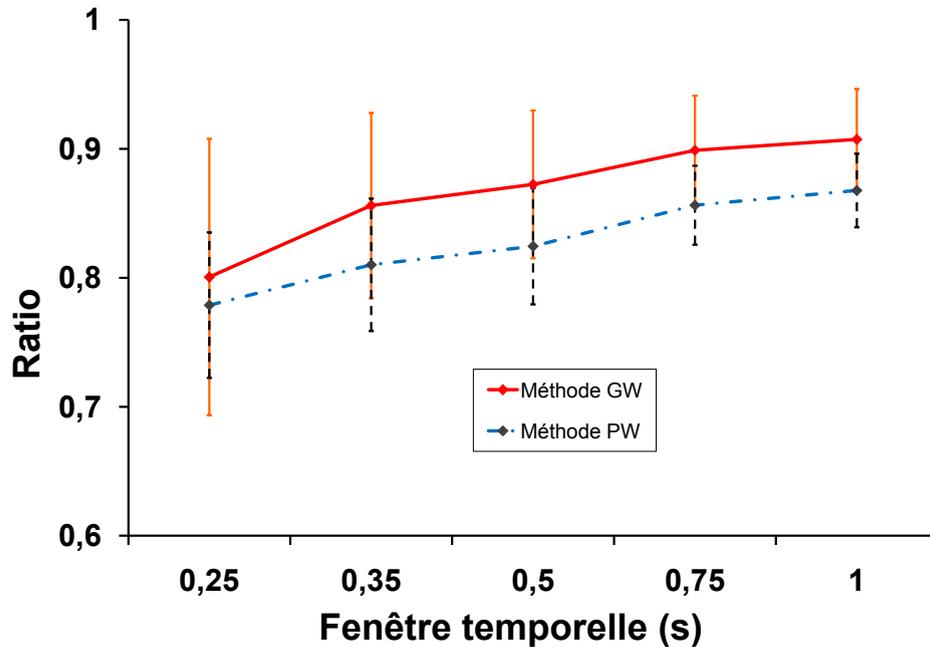


FIGURE 4.12 – Comparaison du gain moyen observé avec l'utilisation des deux méthodes proposées pour différentes largeurs de fenêtre d'exposition. Les barres d'incertitude représentent l'écart-type des valeurs au cours d'une séquence.

4.3.3 Mesure du gain en terme d'analyse des flux cinématiques

Nous utilisons pour cela les méthodes de détection automatique déjà validées dans notre étude précédente des trois mêmes acquisitions enregistrées avec une source implantée en sous cutanée. Elles sont par contre réduites à 1500 trames chacune pour réduire le temps de calcul de notre méthode GW. La comparaison entre le nombre attendu de zones d'émission et le nombre de ROI détectées nous permet d'évaluer de façon quantitative le bénéfice apporté à l'analyse par cette approche. En effet un taux d'échec important à ce test indique une mauvaise qualité de la fusion entre les deux signaux empêchant par la même une interprétation correcte du signal. On constate alors sur la figure 4.13 qu'une seule ROI est détectée dans la très grande majorité des trames (supérieur à 95%) avec utilisation de notre méthode GW alors que dans son état initial les séquences utilisées peuvent contenir jusqu'à 40% de trames incorrectes.

On observe de façon similaire aux résultats obtenus avec l'approche séquentielle que si l'on suit l'évolution du nombre de ROI détectées avant et après correction du mouvement (tableau 4.3.3), le transport des données de bioluminescence est largement bénéfique à l'analyse des flux cinématiques. De plus un faible nombre de trames est détérioré par cette nouvelle approche.

À partir des mesures effectuées en parallèle de la détection des ROI, nous avons pu extraire les informations géométriques de la zone d'émission pour évaluer la qualité de la correction. Au vu des résultats présentés sur la figure 4.14, la circularité (définie à partir de l'équation 3.36) des zones d'émission semble être conservé quelque soit la largeur de la fenêtre d'intégration. De plus elle montre des résultats légèrement supérieur à ceux de la première méthode laissant à

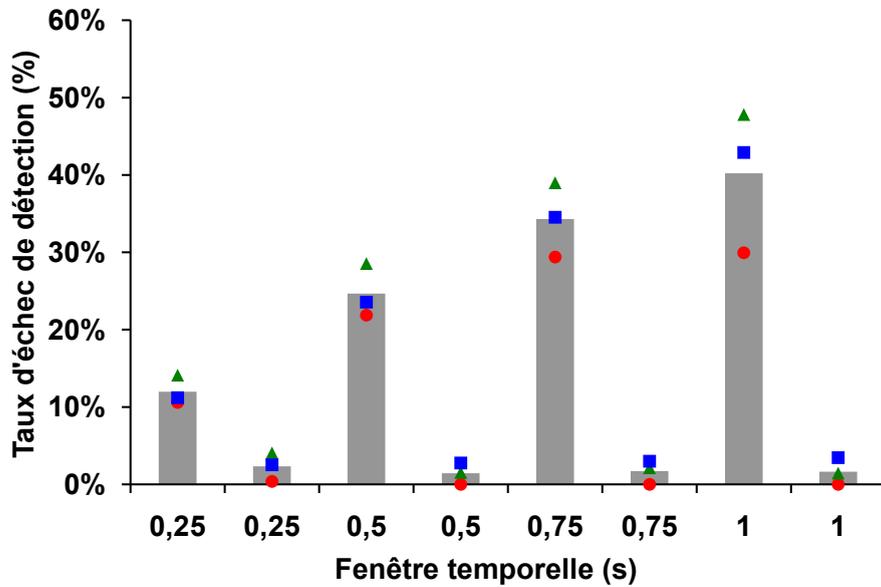


FIGURE 4.13 – Comparaison du nombre attendu de ROI avec celui détecté par notre segmentation automatique du signal en fonction de l'utilisation ou non de notre méthode GW (respectivement la colonne de droite et celle de gauche). Ce taux d'échec est moyenné pour chacun des temps d'exposition à partir des résultats pour chaque séquence.

	0.25 s	0.5 s	0.75 s	1 s	
Séquence 1 :	1 → 1	89,4%	78,1%	70,6%	70,1%
	1 → ≠ 1	0%	0%	0%	0%
	≠ 1 → 1	10,2%	21,9%	29,4%	29,9%
	≠ 1 → ≠ 1	0,4%	0%	0%	0%
Séquence 2 :	1 → 1	85,3%	70,4%	59,5%	51%
	1 → ≠ 1	0,5%	1,1%	1,5%	1,2%
	≠ 1 → 1	10,6%	28,1%	38,4%	47,6%
	≠ 1 → ≠ 1	3,5%	0,5%	0,6%	0,2%
Séquence 3 :	1 → 1	87,1%	73,7%	62,5%	53,6%
	1 → ≠ 1	1,7%	2,7%	3%	3,5%
	≠ 1 → 1	10,4%	23,5%	34,5%	42,9%
	≠ 1 → ≠ 1	0,8%	0,1%	0%	0%

TABLE 4.3 – Évolution pour chaque trame de signal intégré, du nombre de ROI détectées, suite à la correction du mouvement. Les résultats des trois séquences sont regroupés au sein des quatre cas possibles d'évolution en fonction du temps d'exposition. Le cas qui correspond à une influence positive de notre méthode est celui qui transforme des images contenant plusieurs ROI en une image de fusion avec une seule ROI : $\neq 1 \rightarrow 1$.

penser que le transport de données optiques est plus précis dans cette nouvelle modélisation.

Nous avons montré que les résultats obtenus jusqu'à présent avec les paramètres optimisés sur la toute première séquence sont satisfaisants cependant quand on s'intéresse aux séquences dans lesquelles deux sources sont implantées, les choses se compliquent. La figure 4.15 illustre les résultats positifs obtenus avec notre nouvelle modélisation et les paramètres actuels. Toutefois

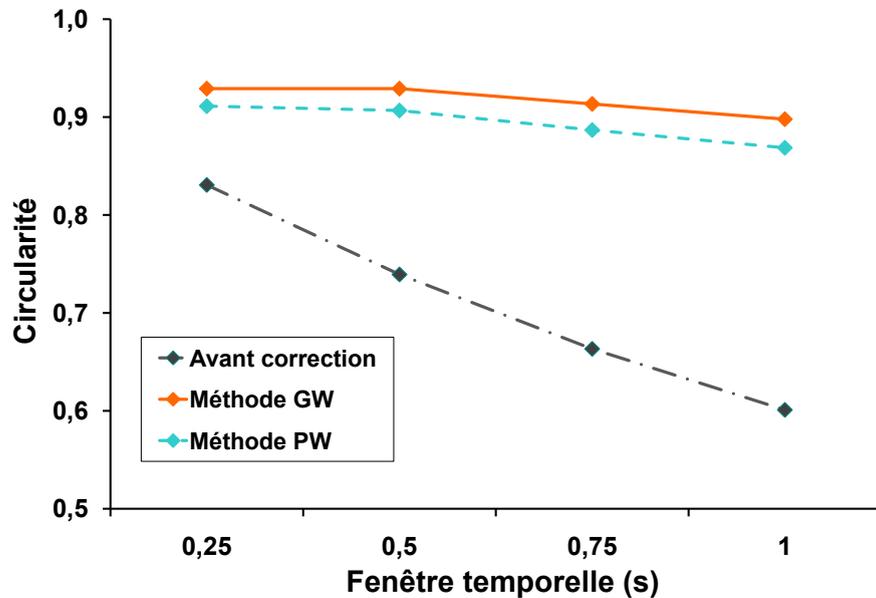


FIGURE 4.14 – Évolution du caractère circulaire des trois séquences réunies selon le temps d'exposition. La courbe grise correspond à l'état initial des ROI détectées dans les séquences tandis que les deux autres courbes illustrent le gain obtenu avec nos deux méthodes, respectivement en bleu pour l'approche séquentielle et en rouge pour l'alignement simultané des données.

si l'on considère les mesures effectuées sur les ROI extraites de cette séquence après correction du mouvement, alors l'approche semble moins performante que notre méthode séquentielle n'utilisant que le flux vidéo. Cette légère dégradation des résultats peut il nous semble être estompée en jouant de manière plus fine sur les différents paramètres principalement en limitant les transformations autorisant le mélange des deux sources.

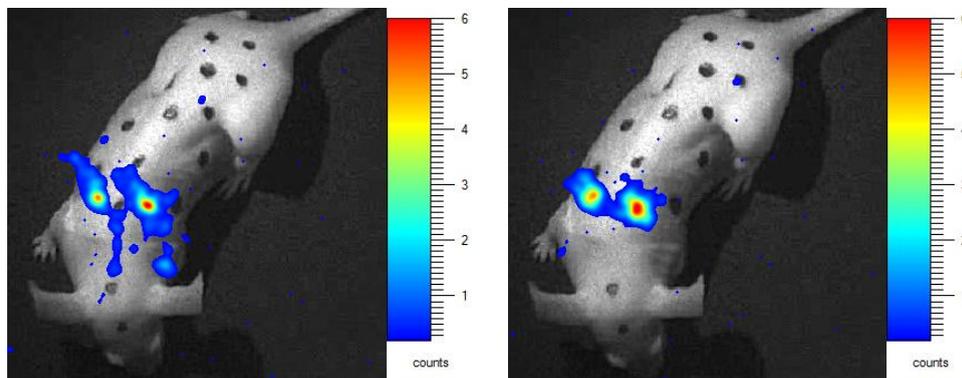


FIGURE 4.15 – Fusion de données optiques et vidéos provenant de deux sources espacées de 1 cm avec une fenêtre temporelle 1 s. De gauche à droite, sans et avec correction du mouvement de l'animal via notre approche *groupwise*.

4.4 Discussion

Dans le but d'augmenter la qualité de notre correction du mouvement de l'animal, nous avons reformulé notre problème d'estimation du mouvement comme un problème d'alignement de population d'images multi-canaux. Pour ce faire nous avons intégré nos deux flux de données dans un modèle MRF performant, maximisant ainsi l'information disponible pour l'obtention des champs de déformation optimaux. À notre connaissance c'est la première fois que l'on considère simultanément des modalités différentes pour effectuer ce type de tâche.

Cette approche nous a permis d'affiner la localisation du signal de bioluminescence grâce aux champs de déformation produits par cette méthode. Ces performances sont liées à la combinaison de notre fonction de similarité précédemment décrite et d'un critère de compacité lié à la distribution du signal biologique. On obtient alors des résultats globalement plus précis qu'avec notre précédente modélisation du problème sous la forme d'une succession de recalage de couples d'images vidéos. Notre idée semble donc validée par l'étude comparative que nous avons entreprise et l'impact visuel de l'augmentation de la précision du signal d'intérêt dans le cas où on ne tient pas compte de la bioluminescence. En effet même si les résultats précédents semblaient acceptables, notre seconde approche produit des résultats comblant certains défauts observés (Fig. 4.16). Malheureusement les paramètres actuels ne permettent pas à ce jour de valider toute cette approche sur une acquisition dans laquelle deux sources seraient présentes. De plus, l'intérêt de cette méthode diminue si le signal de bioluminescence disparaît au cours de l'acquisition ce qui peut être le cas si l'on observe des signaux extrêmement transitoire par rapport à la taille de la pile d'images. Des études complémentaires mériteraient d'être effectuées pour estimer le niveau de RSB compatible avec le fait de considérer la compacité du signal. Dans le pire cas, les caractéristiques des résultats de signaux seraient équivalent à ceux de la méthode *pairwise* du fait de la diminution de l'influence du terme de compacité.

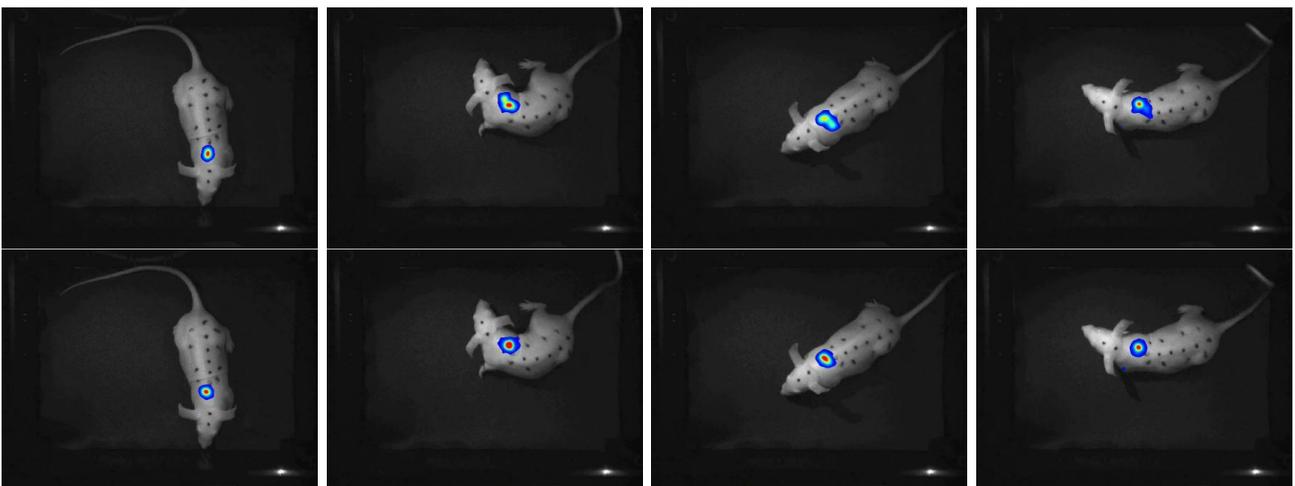


FIGURE 4.16 – Comparaison de différentes trames de fusion reconstruites avec nos deux méthodes de correction du mouvement, respectivement en haut pour l'approche séquentielle et en bas pour l'approche d'alignement simultanée des données. Le temps d'exposition est fixé à 1 s et les paramètres d'affichage sont identiques.

Les résultats restant tout de même très encourageants nous avons envisagé à partir de

cette idée de manipuler simultanément les deux flux de données pour construire une approche permettant de suivre en 3D les mouvements de l'animal tout en assurant la localisation du signal optique. On peut alors envisager s'affranchir des limitations liées à l'acquisition d'un mouvement 3D de l'animal uniquement à partir d'une seule projection et de tous les défauts inhérents. Il sera alors possible de visualiser des acquisitions tridimensionnelles d'un animal vigile sans modifications majeures du système d'acquisition existant. Cette approche permet alors d'obtenir les variations de pose de l'animal au cours du temps à partir d'observations multi-vues et multi-canaux. L'objectif final étant de permettre un suivi des zones 3D d'émission de la bioluminescence au cours de l'acquisition.

Chapitre 5

Reconstruction des flux cinématiques 3D : système multi-vues et estimation de pose

Étendre nos travaux sur l'animal vigile, pour accéder à une localisation en profondeur des sources du signal biologique nécessite de rechercher tant une nouvelle approche d'acquisition des flux de données que de nouvelles méthodes pour fournir une analyse cinématique tridimensionnelle. Examiner les structures profondes de façon non invasive ne peut s'envisager qu'en tenant compte des phénomènes de diffusion et d'atténuation qui entraînent une perte d'information quant à la localisation et la quantification. Les méthodes actuellement disponibles pour résoudre ce problème nécessitent généralement une comparaison d'un modèle 3D (type éléments finis), déterminé à partir de l'enveloppe de l'animal, et des propriétés optiques associées, avec une série de projections du signal. En bioluminescence, contrairement à la fluorescence peu d'informations sont disponibles pour aider les algorithmes de reconstruction ce qui en fait un problème très dépendant de la qualité des données acquises et du modèle choisi.

Dans la littérature, peu de technologies sont compatibles avec notre objectif d'assurer cette reconstruction cinématique 3D. Il est donc nécessaire d'associer dans une même approche l'instrumentation optique et la vision par ordinateur. Nous proposons donc de combiner un système multi-vues compatible avec notre système d'acquisition temps-réel et un algorithme d'estimation de la pose de l'animal qui tiendra compte des deux flux de données. La conjonction de ces deux points nous permettra de fournir des mesures pertinentes de la bioluminescence sur la surface reconstruite de l'animal, première étape des processus de reconstruction tomographique.

Le challenge de notre problématique réside dans la difficulté à déterminer une information de profondeur à partir d'un nombre réduit de projections. En effet, chacune des vues ne fournit que des données partielles à cause des phénomènes d'occlusions. Le positionnement des différentes vues entre elles rend hasardeux la recherche automatique de correspondances aptes à fournir une triangulation robuste aux occlusions. Les caractéristiques de la surface de la souris nous permettront cependant de définir un critère lié à la réflexion de l'illumination sur celle-ci.

Nous présentons donc nos choix vis à vis du large choix d'approches proposées dans la communauté de vision par ordinateur en effectuant une analogie de notre problème avec l'estimation de la pose d'animaux, d'humains ou de membres comme la main. Nous avons alors élaboré notre approche dans ce contexte original en tenant compte de nos flux de données multi-canaux et multi-vues dans notre fonction de comparaison. En effet, on cherche à minimiser la différence entre les flux observés et les données synthétisées à partir de la pose de l'animal et de l'illumination dans un cadre méthodologique robuste. Celui-ci nous permet de présenter des résultats préliminaires démontrant le potentiel de notre approche.

Sommaire

5.1	Estimation de la pose de l'animal : une problématique transverse	111
5.2	Estimation de la profondeur à partir de flux vidéos : contexte et littérature	112
5.2.1	Estimation de la pose 3D d'un animal : un challenge scientifique	112
5.2.2	Différentes propositions issues de la littérature	114
5.3	Système multi-vues adapté au dispositif existant	116
5.3.1	Technologies existantes de tomographie optique	116
5.3.2	Un dispositif adapté à l'imagerie sur animal vigile	118
5.4	Recalage cinématique des flux vidéos et de bioluminescence sur un modèle articulé de souris	120
5.4.1	Construction d'un modèle articulé d'une souris	120
5.4.2	Modélisation du système d'acquisition	121
5.4.3	Gestion de nos observations multi-canaux dans l'estimation de la pose de la souris	122
5.5	Résultats préliminaires et Discussion	124
5.5.1	Évaluation de l'estimation de la pose via une méthode basée sur un modèle	124
5.5.2	Analyse cinématique 3D : premiers pas	125
5.5.3	Discussion	127

5.1 Estimation de la pose de l'animal : une problématique transverse

Le chapitre 1 nous a permis de constater que l'imagerie optique *in vivo* était limitée par les difficultés à localiser en profondeur les sources lumineuses. Ceci est principalement dû aux phénomènes de diffusion et d'absorption inhérents aux tissus vivants. Le cas de la bioluminescence, contrairement à celui de la fluorescence, est plus complexe car pauvre en informations a priori et basées uniquement sur la mesure de la luminance¹ au niveau de la surface de l'animal. Or aux vues des technologies de détection existantes, cette mesure est extrêmement dépendante de l'orientation de l'animal par rapport à la caméra (un facteur 2 pour une orientation de 45°). Estimer la surface de l'animal est donc un élément important de tous projets de reconstruction tomographique. On trouvera dans les travaux de *Arridge* [5], *Hielscher* [78] et *Gibson et al.* [66] les descriptions des modélisations et des algorithmes utilisées en tomographie optique.

On comprend aisément que le problème d'orientation de la surface vis à vis de la caméra se complique de façon significative dans le cas de l'imagerie sur animal vigile. Il nous faut en effet capturer l'enveloppe de l'animal tout le long de la séquence et capter simultanément l'ensemble du signal biologique généré par les sources présentes. Même si pour ce dernier point, il existe une palette de montage optique possible, l'estimation de la pose de l'animal à partir de flux de données multi-canaux présente un vrai challenge. Il est donc nécessaire de faire appel aux techniques disponibles dans le domaine de la vision par ordinateur. En ce qui concerne le montage instrumental choisi, nous détaillerons le choix que nous avons fait vis à vis de ceux présents dans la littérature.

Dans la continuité des travaux effectués précédemment, nous avons utilisé notre approche séquentielle sur les acquisitions multi-vues que nous avons obtenu avec la conjonction du dispositif *In Actio* et d'un montage optique que nous détaillerons plus tard. Les trois vues sont toutefois traitées séparément avec différents modèles de déformations (locales pour la vue centrale et rigides pour les vues de cotés). Ces choix se justifient par la grande difficulté à établir une relation fonctionnelle entre les différentes vues au niveau des déplacements de l'animal et le plus grand nombre d'occlusions présentes dans les vues de cotés. La figure 5.1 présente l'impact de la correction du signal à partir des mouvements estimés sur chacune des vues. On constate qu'après correction du signal, l'utilisateur est plus à même d'interpréter la fusion des deux flux d'informations.

On peut cependant constater que se restreindre à une analyse planaire du mouvement n'est pas suffisante dans ce cas où l'on dispose de plusieurs vues. L'estimation de la pose de l'animal au cours d'une séquence permettra de lier les informations collectées par les différentes vues associées aux deux capteurs. Ce travail n'est toutefois possible que dans un cadre bien précis construit autour des contraintes suivantes :

- le montage élaboré doit être compatible avec le dispositif *In Actio*,
- l'espace réservé aux déplacements de l'animal doit être raisonnable,
- la précision de la reconstruction doit être accrue au niveau des zones d'émission du signal.

1. la luminance est l'intensité d'une source dans une direction donnée, divisée par l'aire apparente de cette source dans cette même direction. Elle s'exprime en cd m^{-2} .

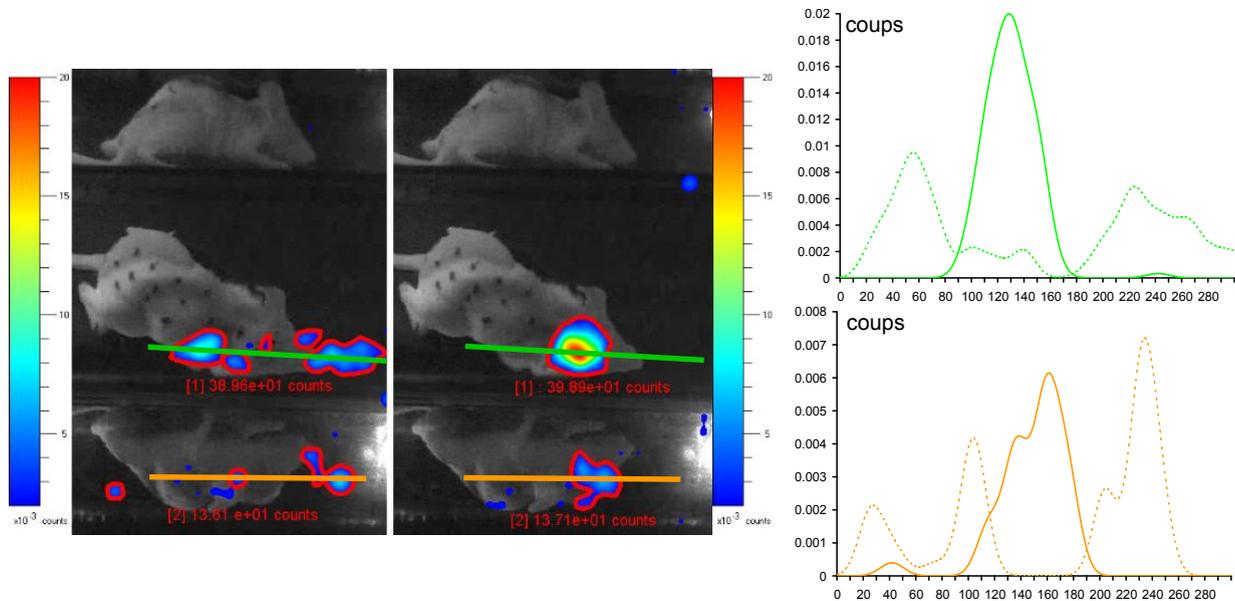


FIGURE 5.1 – Corrections du mouvement dans le cadre d’une acquisition multi-vues. À gauche, trame extraite d’une séquence reconstruite avec détection automatique du signal. Sur la droite, illustration de l’impact de la correction sur la localisation du signal via les profils spatiaux issus de l’image précédente (traits pointillés avant correction et pleins après).

5.2 Estimation de la profondeur à partir de flux vidéos : contexte et littérature

La recherche d’une solution pour approcher les capacités du cerveau humain à reconstruire la profondeur est l’un des objectifs fondateurs de la vision par ordinateur. Différentes solutions ont été proposées dont les caractéristiques varient en fonction des domaines d’application : robotique, interactions homme-machine, etc. De façon identique, dans le domaine préclinique, différentes approches ont été proposées pour estimer la pose d’un animal, parfois suivant une méthode de recalage articulé (proche de notre solution) :

- soit dans le cadre du suivi d’une série d’acquisition microCT de la partie basse de la souris [138],
- soit dans le cadre d’une comparaison corps entier avec un atlas de souris articulé [10].

Cependant ces solutions sont restreintes à des données qui sont intrinsèquement tridimensionnelles contrairement à nos flux cinématiques planaires.

5.2.1 Estimation de la pose 3D d’un animal : un challenge scientifique

Construire une approche d’estimation des mouvements 3D d’un animal vigile comme la souris peut-être considérée comme une vraie problématique d’intérêt en tant que telle et non seulement vis à vis de la tomographie optique (Projet ANR - KAMELEON). Cette opération d’estimation à partir d’observations planaires s’expose à différentes difficultés. Celles-ci peuvent être classifiées en deux catégories : la complexité du modèle mathématique sous-jacent et les contraintes issues des observations. Dans le détail, on peut les lister de la façon suivante :

Dimensionnalité du problème

À partir des catégories faites lors de la construction des atlas de souris, on peut considérer que le squelette de souris génère une soixantaine de degrés de libertés (DDL). En conséquence, l'espace des configurations possibles est particulièrement étendu rendant la recherche de la pose optimale complexe et sujette à un coût calculatoire important. Cependant on peut réduire l'espace de recherche en ajoutant des contraintes anatomiques sur les degrés de libertés du squelette. De plus, au vu de la « souplesse » de la souris comparées au sujet classique de cette méthode (corps humain ou un membre), on peut se restreindre à des mouvements simples mais pertinents biologiquement comme lors de la course de l'animal.

Variations du modèle sur une séquence

Le contexte d'imagerie sur animal vigile nous impose une dépendance vis à vis des variations dans les déplacements volontaires de la souris. Celle-ci peut très bien rester immobile sur de longue période ou effectuer des accélérations l'amenant à une vitesse proche de 7 cm s^{-1} . Cependant au vue de la fréquence d'acquisition des trame de 45 Hz, on peut initialiser le problème d'estimation de la pose suivante à partir des résultats obtenus sur la trame courante. On réduit ainsi l'espace de recherche des DDL autour de la configuration précédente.

La présence d'occlusions

L'anatomie de la souris et la position de la caméra dans notre dispositif (Fig. 2.2-B) font que les extrémités des pattes de la souris sont rarement visibles. De même les oreilles de la souris peuvent générer des occlusions non négligeables au niveau de la tête de l'animal. Ces problèmes sont inhérents à tous les systèmes d'acquisition monoculaire. Cependant la multiplication des vues ne résout pas automatiquement tous les problèmes d'occlusion.

Manque de texture

La texture de la peau de la souris est constante sur tout le corps de l'animal ce qui rend difficile la discrimination de partie du corps selon la couleur. Cette contrainte est renforcée par le fait que l'illumination dans notre système est réduite au minimum via le filtrage temporel des signaux (cf. 2.2.1) ce qui génère une faible dynamique de niveau de gris.

L'ambiguïté sur la profondeur

Les systèmes optiques monoculaires créent intrinsèquement une ambiguïté plus forte sur la profondeur que les systèmes multi-vues. Le problème d'estimation de la pose de l'animal se trouve donc être un problème mal posé si l'on garde le montage optique actuel du système *In Actio*. L'ajout de vues ne peut que fournir une information supplémentaire pour permettre de différencier certains des multiples minimums locaux présents dans le cas d'une approche monoculaire couplée à la minimisation d'une fonctionnelle. Cette fonction peut être construite sur différentes informations provenant des observations. Entre autre les informations de réflexion de l'illumination (*shading* en anglais) peuvent fournir des contraintes tout à fait pertinentes sur l'orientation d'une surface ayant une réflectance uniforme. En effet si l'illumination est connue, on peut alors accéder aux variations locales de la profondeur sur la surface, ce sont les techniques de *shape from shading* [148].

Les différents points soulevés, qui sont liés à notre contexte, nous ont amené à chercher une méthode adaptée tant sur le point matériel que technique à notre objectif. Dans la littérature plusieurs familles d'approches peuvent correspondre à nos besoins, nous en détaillerons

rapidement les caractéristiques pour arriver à la formulation de notre problème.

5.2.2 Différentes propositions issues de la littérature

On peut séparer les différentes techniques en deux familles : les techniques associées à un dispositif particulier et les autres qui fournissent une approche généraliste indépendante du système. Dans notre cas, nous nous concentrerons sur les approches généralistes constituées des techniques de classification ou basées sur l'utilisation d'un modèle prédéfini. Cependant, dans un premier temps, nous décrirons brièvement les configurations matérielles potentielles.

Approches matérielles : Le dispositif classique d'acquisition simultanée de différentes vues copie le principe de la vision humaine. En effet, la stéréovision permet à partir de deux caméras fournissant des points de vues légèrement décalés d'estimer la profondeur. Les méthodes de reconstruction s'appuient pour cela sur un processus de recherche du plus grand nombre possible de correspondances entre les images. La triangulation associée permet d'estimer la profondeur de la scène observée. Ces méthodes, dont *Dhond et Aggarwal* [50] fournissent une revue détaillée, sont donc très dépendantes de la qualité des correspondances. Or, les images de la souris que nous avons pu observer lors des expériences planaires ne permettent pas d'obtenir de bonnes correspondances à cause du manque de texture. De plus, cette configuration n'est pas possible sans changements importants du dispositif. De même les systèmes à plusieurs caméras dont les points de vue sont plus éloignés nécessitent des modifications non compatibles avec notre application. Cependant l'idée de multiplier les données pour améliorer l'estimation de la pose est à conserver mais sous une autre forme car dans le cas des méthodes de stéréovision, les correspondances peuvent alors subir les effets des occlusions entre points de vue trop éloignés.

De nouveaux types de caméras permettent de mesurer la profondeur avec des approches intéressantes comme le temps de vol de la lumière réfléchie sous illumination pulsée, ou bien en modifiant localement la focale de la camera via un dispositif de micro-lentilles positionné au niveau de l'objectif [133]. Même si ces dispositifs offrent des possibilités intéressantes, ils sont complexes et coûteux à mettre en œuvre dans notre cas. Seules les solutions de lumière structurée pourraient s'adapter plus ou moins facilement (avec l'ajout d'un motif devant les sources d'illumination et une modification du filtrage temporel) mais la technique est protégée par des brevets dans le cas de l'imagerie optique.

Une approche discriminative : L'utilisation des méthodes de classification pour ce type de problème est assez courante dans le *tracking* 3D de la main [218] ou de tout le reste du corps et même d'animaux [56]. Elles s'appuient sur la comparaison des caractéristiques extraites de l'observation avec un ensemble de données associées à des paramètres connus. En associant les données extraites à un élément de la base de données, on peut fournir la pose la plus proche de celle observée. On peut donc en déduire qu'à moins d'avoir accès à une énorme base de configuration, l'estimation ne pourra jamais être totalement précise (en tout cas au niveau des zones d'émission de signal). De plus, la gestion des occlusions est extrêmement difficile dans ce genre d'approches car une image et/ou ses caractéristiques peuvent alors être associée à différentes poses.

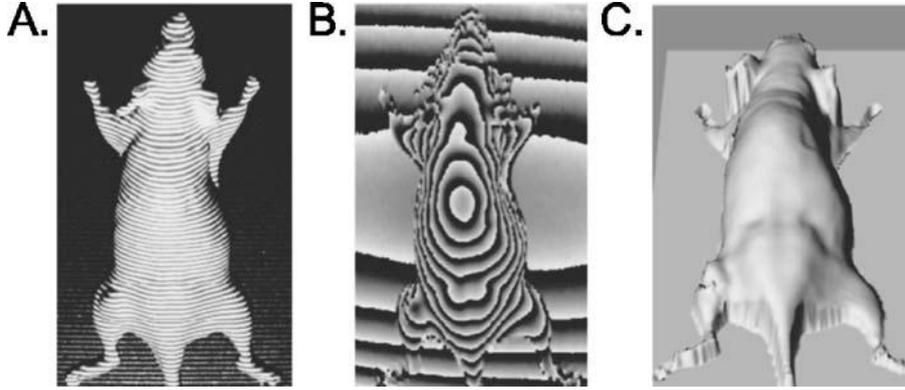


FIGURE 5.2 – Reconstruction de l’enveloppe d’une souris avec une illumination structurée [104] : (A) projection de la lumière structurée sur le corps de l’animal ; (B) décalage de phase dans l’espace de Fourier, et (C) Surface 3D reconstruite.

Modélisation explicite de l’estimation de pose : Les approches qui s’appuient sur un modèle prédéfini et explicite exhibent quant à elles des caractéristiques vraiment pertinentes vis à vis de notre application sur animal vigile [63]. Le principe général de ces méthodes consiste à générer, à partir du modèle et de n’importe quelle jeu de paramètres, des données synthétiques (images ou propriétés caractéristiques) dans le but de les comparer aux observations. On pourra alors chercher la configuration liée à une observation particulière parmi tout l’ensemble des paramètres possibles. Cette recherche est généralement reformulée sous la forme d’un problème d’optimisation. L’écart ou l’erreur entre les données synthétisées et celles observées va être utilisée sous la forme d’une fonction de similarité que l’on cherchera à minimiser.

Au vu des dimensions importantes de l’espace de recherche, il n’est pas envisageable d’effectuer une recherche exhaustive de la configuration optimale. Celle-ci est estimée généralement dans l’espace local autour d’une configuration initiale de façon itérative via les méthodes variationnelles classiques. Dans ce cas, on peut modéliser cette approche sous la forme d’un problème inverse dans lequel une fonction $f(\Theta)$ permet de synthétiser les données suivant les paramètres Θ décrivant la pose de l’animal. f est construite à partir des modèles de l’objet étudié et de la scène (définie comme l’ensemble des caméras et des sources d’illumination). À cause du bruit contenu dans les observations D_{obs} et aux erreurs de modélisation, il est impossible de trouver directement les paramètres optimaux $\hat{\Theta}$ via la fonction inverse f^{-1} . Il est toutefois possible d’introduire une mesure de similarité ρ entre les données observées D_{obs} et les données synthétiques $f(\Theta)$. L’estimation de $\hat{\Theta}$ se fera alors par minimisation de cette fonction de coût :

$$\hat{\Theta} = \arg \min_{\Theta} \rho(f(\Theta), D_{\text{obs}}) \quad (5.1)$$

Il existe dans la littérature une surabondance de choix en ce qui concerne les différents éléments de cette définition générale [48, 170] : les caractéristiques utilisées (*convex hull*, *shading*, descripteurs localisés, etc.) ; la manière d’évaluer la similarité entre données ; la méthode d’optimisation. Certains de ces choix rejoignent les éléments de la littérature décrits dans les chapitres précédents. Ce type d’approche est tout à fait adaptable à l’estimation successive de la pose à partir de déplacements inter-frames relativement modérés. De plus, la gestion de données multi-vues est assez aisée dans cette formulation car il suffit de sommer les différentes fonctions de coût définies pour chaque vue.

Notre processus de reconstruction de la pose 3D d'un animal vigile dans le domaine de l'imagerie optique s'appuiera donc sur ce type d'approche. Pour cela nous avons construit un modèle articulé d'une souris qui permettra de générer des images synthétiques tant vidéos que optiques via les paramètres de notre système d'acquisition multi-vues. En minimisant l'erreur entre ces images et les observations via une formulation robuste des dérivées, nous arriverons à reconstruire l'enveloppe de la souris au cours des séquences en tenant compte du signal optique. Pour cela, il nous faut un dispositif compatible avec la tomographie en bioluminescence.

5.3 Système multi-vues adapté au dispositif existant

Les premiers dispositifs mis en place pour reconstruire en profondeur la position des sources de luminescence ont été construits à partir de détecteurs fibrées placés au contact de l'animal [200]. Les développements technologiques ont permis en imagerie préclinique *in vivo* de s'affranchir de ses systèmes inadaptés à notre problématique. De même les solutions basées sur des fluides de contact entourant l'animal ne sont que peu utilisables en routine même si elles simplifient le problème des conditions aux limites à la surface de l'animal lors de la reconstruction. Les systèmes sans contact associées à des modèles d'interactions photons-matière sont donc les plus explorées actuellement même s'ils nécessitent de connaître la surface de l'animal [66].

5.3.1 Technologies existantes de tomographie optique

Les dispositifs de tomographie optique sans contact sont spécifiques de la forme de luminescence utilisée. En fluorescence, les développements ont été plus précoces car il est possible de procéder par transillumination de l'animal. Les sources de lumières, généralement sous la forme de faisceaux spectralement homogènes, illumine une partie de l'animal tandis que le détecteur récupère les flux transmis et de fluorescence. Ce type d'approches a donné naissance à plusieurs systèmes d'acquisition détectant directement l'intensité ou le temps de vol de la fluorescence associé ou pas à un placement de l'animal sur une platine tournante [98, 174]. On peut donc facilement constater que ce type de systèmes ne convient pas à notre problématique.

Dans le cas de la bioluminescence seul la luminance captée par le détecteur intervient car la source d'énergie du phénomène est chimique et non lumineuse. Les premières approches ont conjugué une approche spectrale avec des modèles complexes de diffusion dans les tissus basés géométriquement sur une surface reconstruite via la projection d'une lumière structurée (Fig. 5.2). Au vu du temps d'acquisition de la surface et de la nécessité de prendre chaque observations avec un filtre différent (3 min pour chaque filtre), cette approche n'est pas envisageable pour effectuer de l'imagerie en temps réel. Une alternative proposée par la société Xenogen - Caliper Life Science est de réutiliser les concepts de la SPECT en jouant sur la rotation d'un miroir autour de l'animal (Fig. 5.3-A et B). L'enveloppe tridimensionnelle est estimée sur le même principe que précédemment et la reconstruction des sources lumineuses tire profit des 8 différentes vues. Malgré des résultats particulièrement intéressants de visualisation et de fusion avec une modalité microCT (Fig. 5.3-C) [99], l'acquisition de chaque vue angulaire de façon séquentielle augmente le temps d'acquisition global. Cette géométrie en plus de son coût et de son caractère spécifique ne peut accompagner la mise en œuvre d'une imagerie temps-réel.

Des dispositifs intéressants d'un point de vue temps-réel ont vu le jour sous la pression des

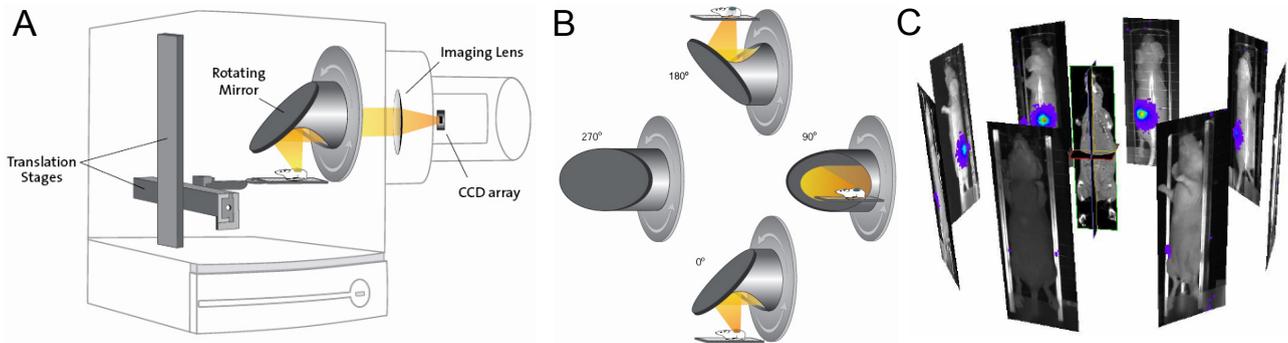


FIGURE 5.3 – Dispositif d'imagerie de bioluminescence tridimensionnelle (IVIS 3D, Xenogen Caliper Life Science) : (A) schéma du dispositif; (B) Illustration de 4 positions sur 8 possibles du miroir générant 8 vues séquentielles; (C) Visualisation de toute les vues dans le cadre d'une fusion avec une acquisition microCT [99].

demandes pour une résolution temporelle plus faible. En effet, nous avons vu que l'imagerie optique était une bonne candidate pour imager les phénomènes transitoires. *Wang et al.* [194] ont donc proposé un montage permettant une acquisition simultanée de 4 vues de l'animal. En associant ces vues à un système spectral, ils ouvrent la possibilité à de l'imagerie rapide. Dans le même esprit, *Roncali* [154] propose un montage basé sur un miroir conique qui permet après résolution de l'anamorphose associée de collecter la totalité du signal sur une seule trame. L'enveloppe tridimensionnelle est acquise en utilisant le miroir conique et un laser pour collecter ponctuellement la position de la surface. Après initialisation de la surface 3D de la souris il est alors possible de mesurer la cinétique d'une source. Malgré l'élégance des solutions proposées (reprises dans le cadre de la fluorescence [111]), les montages sont très restreints au niveau de la place disponible pour qu'un animal se déplace et peu intégrable dans des dispositifs existants.

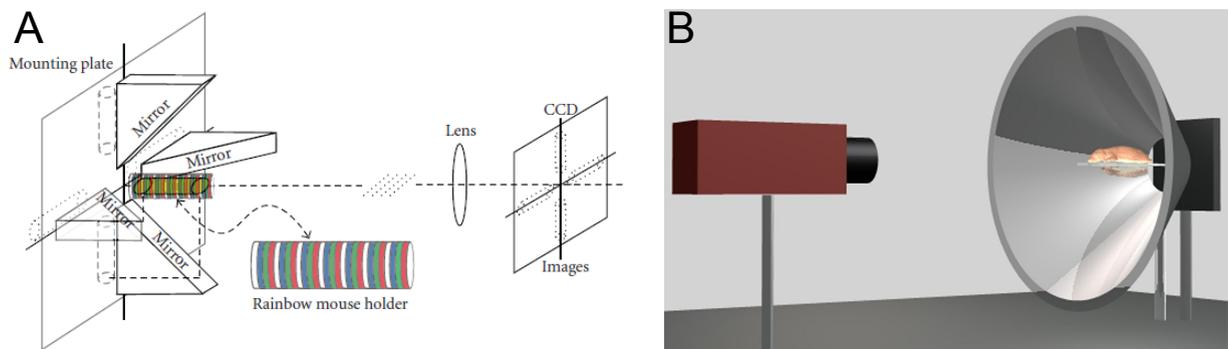


FIGURE 5.4 – Montages d'acquisition simultanée et multi-vues de *Wang et al* [194] et *Roncali* [154], respectivement à (A) et (B). Tous les deux permettent une acquisition multi-vues avec avec une surface de détection de 60% pour le montage conique et de seulement de 20% pour le montage avec 4 miroirs à 45°.

Des solutions adaptables aux instruments optiques existant ont vu alors le jour. Elles reposent toutes les deux sur un système de miroirs orientés à 45° vis à vis de l'axe optique. La figure 5.5-A expose un montage proposé par Xenogen - Calliper offrant la possibilité d'observer

simultanément les parties principales de la souris dans un cadre assez similaire à l'imagerie classique [36]. Une variante plus pratique et modulaire est présentée sur la figure 5.5-B et profite des caractéristiques du Photon Imager (Biospace Lab) pour exhiber des résultats performants en imagerie temps-réel en adéquation avec notre problématique. Cependant ce système et le précédent font appel à des techniques chronophages pour estimer la surface de l'animal les rendant incompatibles pour évaluer l'enveloppe d'un animal vigile au cours d'une séquence.

Au vu de ce tour d'horizon des montages existants, aucune technologie ne correspond parfaitement à nos contraintes. Cependant d'un point de vue purement matériel les deux derniers dispositifs semblent les plus adéquats.

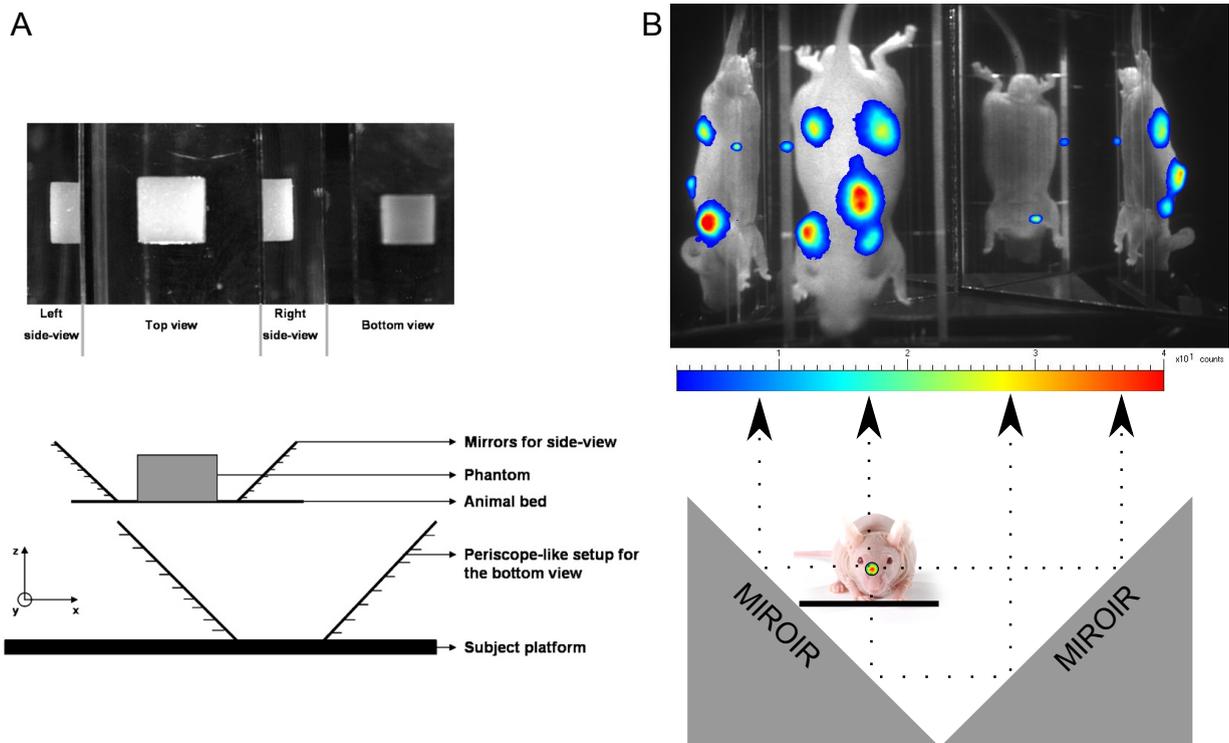


FIGURE 5.5 – Montages d’acquisition simultanée et multi-vues de *Chaudhari et al.* [36] et de Biospace Lab, respectivement (A) et (B). L’encombrement du premier est réduit avec le système de Biospace Lab dans lequel la double réflexion est gérée par le décalage de la position de la souris.

De plus, la simplicité du montage proposé s’accorde avec notre volonté de proposer une approche modifiant peu les systèmes de détections tout en offrant une grande modularité dans les méthodes logicielles de reconstruction. En effet, on l’a vu diverses solutions sont envisageables pour évaluer la pose d’un animal à partir d’un nombre restreint de projections de son mouvement. Ceci permet en outre de minimiser le coût de développement de cette nouvelle modalité cinématique.

5.3.2 Un dispositif adapté à l’imagerie sur animal vigile

Nous avons donc construit un module additionnel qui s’insère sous le montage *in actio* (Fig. 5.6-A et-C). Ce module a pour dimension 21 cm × 17 cm et est constitué de deux miroirs

montés sur des supports et orientés à 45° face à la caméra ICCD. Une boîte rectangulaire en plexiglas de $18\text{ cm} \times 5\text{ cm} \times 5\text{ cm}$ est posée au centre du dispositif (à une hauteur de 5 cm) via deux supports positionnés aux extrémités. L'animal possède donc une zone de déplacement de 18 cm de long et 5 cm de large. Ces dimensions permettent de placer le dispositif au centre du module *in actio* définie par le champ de vue de la caméra vidéo.

La vue centrale et les 2 vues latérales, créées par les réflexions, sont enregistrées simultanément par les deux caméras (Fig. 5.6-C). Cependant, on peut aisément considérer que ce montage est équivalent à un montage où l'on aurait deux ensembles de trois caméras liées entre elles. En effet chaque ensemble correspond à un type de caméra de caractéristiques optiques identiques mais placée à trois positions différentes :

- la position originelle,
- deux positions définies par les symétries par rapport au plan de chacun des miroirs.

Cette configuration nous ramène donc à un système multi-vues où chacune des observations est constituée d'une vue enregistrée par l'une des deux caméras. On travaille ici sur les flux de données alignées spatialement pour s'affranchir des variations d'axe optique présente dans le montage *In Actio*.

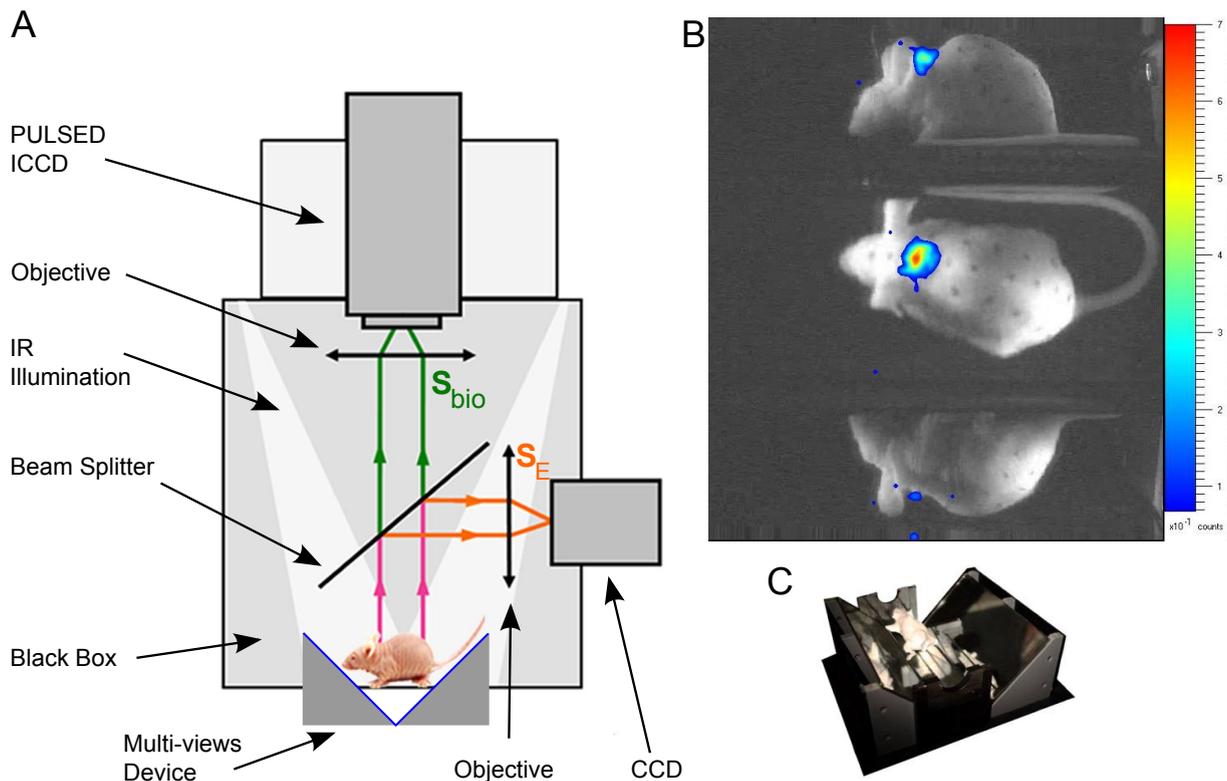


FIGURE 5.6 – Système d'acquisition multi-vues pour imagerie optique sur animal vigile : (A) montage optique du Photon Imager et des deux modules ; (B) Une image de fusion extraite d'une séquence ; (C) photographie du module multi-vues.

5.4 Recalage cinématique des flux vidéos et de bioluminescence sur un modèle articulé de souris

L'approche proposée est inspirée du travail de *de La Gorce et al.* [49] que nous avons étendu à un contexte d'acquisition multi-vues et multi-canaux. Nos observations $I_i = \{V_{i,j}, O_{i,j}\}$, sont constituées des images $V_{i,j}$ collectées à chaque trame i à partir des images issues du flux vidéo de la vue j ainsi que du flux de données optiques $O_{i,j}$ simultanément enregistré par la caméra ICCD associée à la même vue. Plus précisément $V_{i,j}$ fournit des informations sur l'orientation de la surface à travers les réflexions sur celle-ci de l'illumination. Il est donc nécessaire de modéliser de façon précise l'enveloppe de la souris ainsi que l'illumination de la scène.

5.4.1 Construction d'un modèle articulé d'une souris

Notre modèle est composé de vingt os avec 64 degrés de liberté qui vont influencer l'orientation de la surface (Fig. 5.7). Ces degrés de libertés correspondent chacun aux angles paramétrant les articulations et sont limités à un domaine restreint de variations pour éviter les poses irréalistes d'un point de vue anatomique [7, 44]. D'un point de vue mathématique, ces paramètres sont représentés sous la forme d'un vecteur $\Theta = [\mathbf{w}, \mathbf{t}, \mathbf{q}]$ auquel est associé une pose de l'animal. Il se compose des paramètres suivants : 57 angles α_k liées aux articulations, une translation globale t et un quaternion q qui permettent de décrire le déplacement de l'animal dans le système de coordonnées associé au système d'acquisition. Il est possible d'ajouter à chaque os 3 paramètres d'échelle permettant d'adapter le modèle à la morphologie de différentes souris. Cependant dans le but de ne pas trop complexifier le problème d'optimisation ces paramètres ne sont minimisés que lors de l'initialisation du modèle sur la première trame. Ils seront gardé constant sur le reste des trames d'une même acquisition.

L'enveloppe est quant à elle modélisée par un ensemble de 1252 triangles formant une surface fermée (Fig. 5.7). Même s'il existe différentes façons de représenter une surface dans ce genre de problème, générer une image à partir d'un ensemble de triangle est assez simple et rapide au regard de la précision recherchée. Elle est de fait cruciale car l'orientation des surfaces va déterminer la réflexion de l'illumination vers la caméra.

Ce modèle a été construit à partir d'acquisition microCT de souris pour le squelette tandis que pour la surface nous nous sommes servis d'un maillage issu d'un projet d'animation graphique (Projet Apricot) réalisé sous le logiciel Blender. C'est ce même logiciel qui nous a permis de fusionner ces deux parties sous la forme d'un modèle articulé dans lequel les déplacements des os modifient la position et l'orientation des surfaces associées. Cependant les extrémités des pattes de l'animal ont été retirées car leur présence dans le modèle augmentait la complexité du problème par rapport à notre application actuelle et car la qualité des observations au niveau des pattes est assez faible.

Le squelette va influencer la surface via une méthode de déformation dite *skeleton subspace deformation* [110, 118] qui permet de modéliser l'influence de l'os numéroté p sur le sommet d'indice r . Cette influence est déterminée par $w_{p,r}$ que nous avons manuellement édité sous Blender à partir d'une approche basée sur la distance entre l'os et le sommet (Fig. 5.7). Ces poids sont finalement normalisés pour chaque sommet. Pour chaque pose Θ différente de la pose initiale Θ_0 , la nouvelle position du sommet $S(r)$ (exprimée en coordonnées homogènes

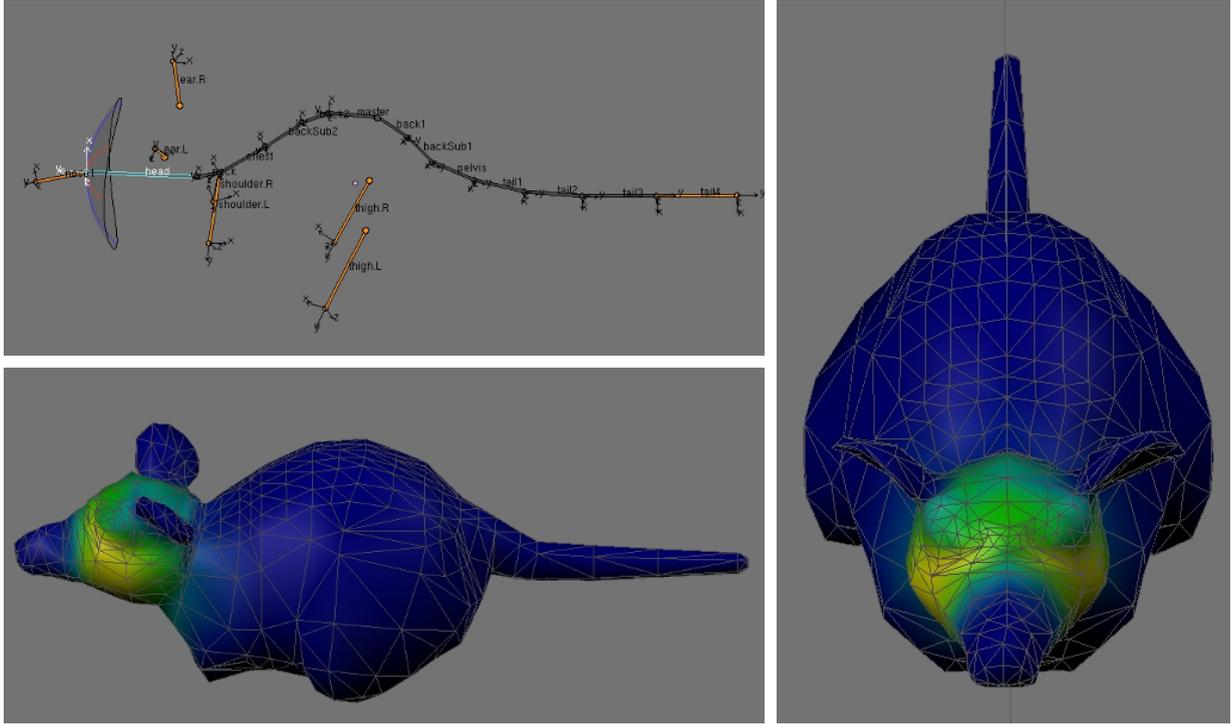


FIGURE 5.7 – Modélisation d'une souris sous la forme d'un modèle d'articulation déformant une surface triangulée.

dans le système global de coordonnées) sera calculée de la façon suivante :

$$S(r, \Theta) = \sum_p w_{p,r} K_p(\Theta) K_p^{-1}(\Theta_0) S(r, \Theta_0) \quad (5.2)$$

dans lequel $K_p(\cdot)$ représente la matrice de transformation qui permet de passer du système de coordonnées de l'articulation p dans une certaine configuration vers le système global. Même si cette méthode de déformation connaît certaines limitations, elle reste tout à fait acceptable dans notre cas où nous avons pris garde à bien imposer des transitions progressives entre zones d'influence.

Le traitement complet de la paramétrisation de notre modèle nécessite une formulation précise de tous les aspects de ce modèle, chose que l'on peut retrouver dans le manuscrit de thèse [48]. Nous détaillerons ici que les points principaux et spécifiques à notre objectif.

5.4.2 Modélisation du système d'acquisition

Le montage optique choisi se compose de deux caméras réelles et quatre virtuelles dont les caractéristiques sont identiques à leur caméra d'origine. Ces caractéristiques sont obtenues séparément par calibration des deux détecteurs via une boîte à outils de Matlab [76, 217]. Les caméras sont alors modélisées sous la forme d'une matrice de projection Π qui permet de créer les images synthétiques des différentes vues à partir de la pose du modèle et de l'illumination actuelle de la scène.

L'éclairage de la scène est effectué par l'intermédiaire de 4 fibres optiques sur lesquels on a placé en sortie un matériau diffusant. On peut alors considérer en première approximation qu'on peut modéliser ce type d'éclairage avec un terme de lumière ambiante et 3 paramètres indiquant la direction d'éclairage de chacune des fibres. On a donc douze paramètres regroupés dans le vecteur \mathbf{L} . Cependant cette approximation ne reproduit pas totalement le comportement observé rendant nécessaire une adaptation sur chaque trame de l'éclairage. Le caractère lambertien de la peau blanche de la souris et le fait que l'albedo est relativement constant sur la surface de la souris nous permet de considérer que nous n'avons pas besoin de modéliser la texture de la souris. L'apparence en chaque sommet découle alors de la somme des produits scalaires entre la normale du sommet et le vecteur de direction de chaque source de lumière. L'irradiance sur chaque face est alors calculée par interpolation bilinéaire (*Gouraud Shading*) [71].

5.4.3 Gestion de nos observations multi-canaux dans l'estimation de la pose de la souris

Nous pouvons donc maintenant, pour une configuration Θ et une illumination \mathbf{L} données, estimer une image synthétique $V_{\text{syn},j}(\mathbf{x}; \Theta, \mathbf{L})$ dont l'intensité peut être mesurée en tout pixel \mathbf{x} et sur chaque vue j . Cette estimation est effectuée en tenant compte des occlusions et des problèmes de crénelage selon les solutions présentées dans l'approche sur laquelle nous nous appuyons [49]. À partir des observations de chaque vue $V_{\text{obs},j}$ nous pouvons construire un critère de similarité entre les deux ensembles d'images sous la forme d'une fonction qui somme les résidus $R_j(\mathbf{x}; \Theta, \mathbf{L})$ associés à chaque vue :

$$E_V(\Theta, \mathbf{L}) = \sum_{j=1}^3 \int_{\Omega} \underbrace{\rho(V_{\text{syn},j}(\mathbf{x}; \Theta, \mathbf{L}) - V_{\text{obs},j}(\mathbf{x}))}_{R_j(\mathbf{x}; \Theta, \mathbf{L})} d\mathbf{x}, \quad (5.3)$$

Cette formulation ne prend cependant pas en compte les informations fournies par les données de bioluminescence $O_{\text{obs},i,j}$. Nous avons donc extrait de chaque image la position de la tache de plus forte intensité sur chaque vue. En utilisant une méthode de triangulation nous avons pu approximer la position X_{obs}^O de la source à l'intérieur du modèle correctement initialisé sur la première trame. Une autre solution aurait été d'estimer la position de la source via un algorithme de tomographie optique mais au vu des expériences préliminaires présentées plus tard où la source est peu profonde, le surcoût calculatoire aurait été trop important. Cette solution reste cependant compatible avec le cadre proposé. Nous formulons une seconde hypothèse relative à nos expériences : la source est considérée comme fixe à l'intérieur du corps de l'animal et son mouvement dans l'espace peut être assimilé à un sommet lié de façon unique et rigide à un os.

Il est alors possible pour chaque configuration Θ de projeter, sur chacune des trames et des vues, ce point pour le comparer avec les positions réellement observées $P_{\text{obs},i,j}^O$. La minimisation de l'erreur entre ces deux ensembles de points permet d'imposer une contrainte locale sur l'estimation de la pose. Elle est formulée pour chaque trame i sous la forme d'une somme, sur toutes les vues j , d'une distance entre les points :

$$E_O(\Theta) = \sum_{j=1}^3 \|\Pi_j(X_{\text{obs}}^O(\Theta)) - P_{\text{obs},i,j}^O\|^2 \quad (5.4)$$

Π_j correspond alors à l'opération de projection de la position de la source vers l'une des vues en utilisant les caractéristiques de la caméra associée. Ce terme nous permet donc de tenir compte des informations de bioluminescence au cours du suivi tridimensionnel de la souris et de les intégrer facilement comme une contrainte dans le processus de minimisation.

Ces deux énergies définies dans les équations 5.3 et 5.4 sont combinées via une pondération de la seconde en fonction de la distance entre les deux ensembles de points. Plus ces ensembles sont éloignés plus le poids β est important dans notre approche itérative de minimisation. Nous avons effectivement optimisé cette énergie selon une méthode itérative de descente de gradient de type quasi-Newton dans laquelle les dérivées premières de E_V interviennent. De plus, il est nécessaire d'approximer la hessienne de cette énergie selon une méthode BFGS (Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno). Les dérivées de E_V selon les paramètres d'illumination \mathbf{L} sont calculées via le théorème de dérivation des fonctions composées appliquées sur le résidu R_j . Par contre à cause des discontinuités présentes aux niveaux du contour de la silhouette observée, la dérivation selon Θ de l'énergie est plus complexe à calculer de façon précise. Pour assurer la bonne convergence du processus à travers les minimums locaux créés par ces discontinuités, nous avons repris les forces d'occlusion proposées par *De La Gorce et al.* [49].

Notre approche d'estimation de la pose de l'animal est résumé de façon globale dans la figure 5.8. Nous avons pu au cours de la description de notre méthode détailler les différentes étapes.

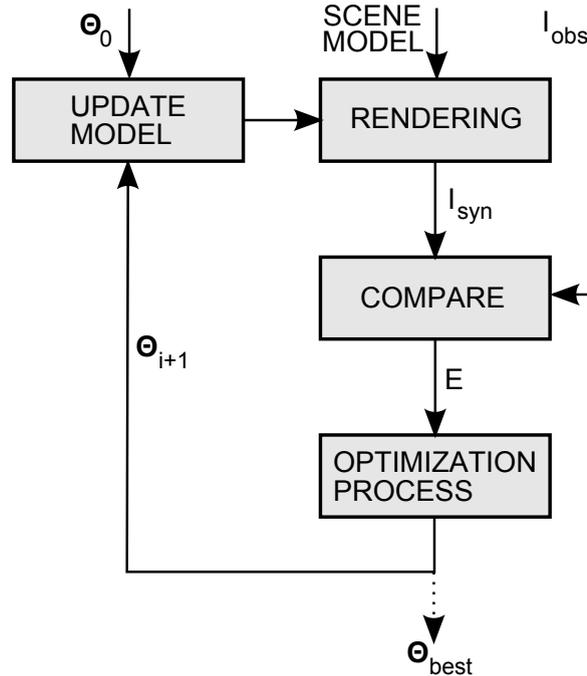


FIGURE 5.8 – Schéma d'une approche d'estimation de la pose d'un objet présent dans des observations à partir d'un modèle explicite de celui-ci.

5.5 Résultats préliminaires et Discussion

Dans le temps limité d'une thèse, seule une dizaine d'acquisition ont été possible avec ce dispositif et dans des conditions compatibles avec la reconstruction 3D. Elles ont été réalisées au SHFJ avec des souris NMRI dans lesquelles avaient été implantés dix jours plus tôt des cellules cancéreuses au niveau de la base du cou (10000 cellules dans 0.5 μ L). Nous avons alors sélectionné quatre séquences, d'un total de 580 trames, dans lesquelles la souris effectue des déplacements d'une extrémité à l'autre du dispositif. On a exclu les mouvements trop complexes du fait de sa souplesse importante. Ces séquences permettront de montrer l'intérêt de ce type d'approche en imagerie optique sur animal vigile. Pour cela nous exposerons l'impact visuel de cette approche et une première analyse cinématique 3D.

5.5.1 Évaluation de l'estimation de la pose via une méthode basée sur un modèle

La figure 5.9 présente les différentes itérations du processus d'optimisation de la pose sur la première. Le résidu entre les données synthétiques et observées se trouve alors être maximum permettant de mettre en exergue le potentiel de ce type d'approche. En effet à la fin du processus, non seulement la pose mais aussi l'illumination estimées engendrent un résidu minimum (couleur sombre).

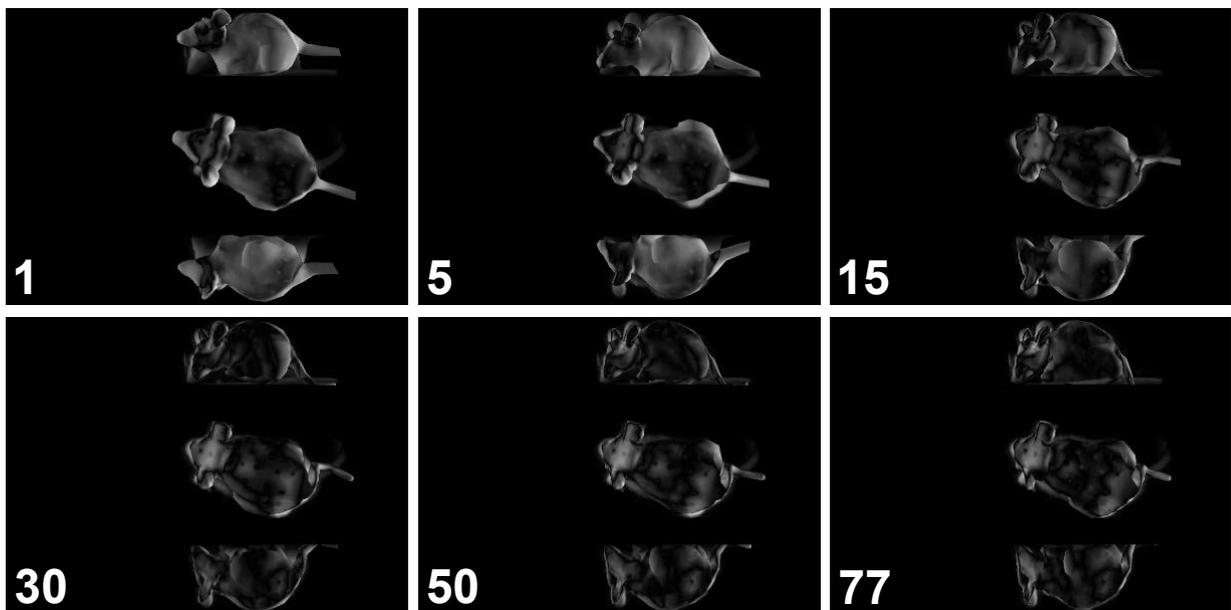


FIGURE 5.9 – Évolution du résidu entre les images vidéos observées et synthétisées par notre modélisation conjointe de la souris et de la scène.

Pour obtenir des résultats plus quantitatifs, nous avons comparé la surface estimée de la souris au cours d'une séquence avec des positions triangulées. Pour ce faire nous avons manuellement annoté 800 couples de points dans deux différentes vues le long de la séquence soit en moyenne 5 par trames. Dans la première trame reconstruite nous avons de plus associé un sommet à chaque couple. En calculant la distance entre ce sommet et la position 3D triangulée

du couple associée, nous avons une idée de la représentativité de la surface estimée. Dans cette séquence cette distance est en moyenne de 5 mm.

5.5.2 Analyse cinématique 3D : premiers pas

Les séquences 3D reconstruites sont regroupées sur cette [page web](#) et la figure 5.10 illustre les performances de cette méthode sur des flux de données vidéos et optiques. En effet on constate que pour différentes poses observées, nous sommes capables d'obtenir des poses synthétiques quasiment similaires (ligne 1 à 3). Les différences notables sont principalement dues à l'approximation faite sur la modélisation de l'illumination. La lumière émise par chacune des fibres optiques a tendance à créer des spots non modélisés actuellement. Les séquences reconstruites sont élaborées à partir de la surface estimée et d'une texture liée au signal optique retro-projeté au niveau des zones d'émission. Les images de bioluminescence sont utilisées pour la rétro-projection sont lissées spatialement avec un filtre de 3mm et comportent 5 trames de signal. Cette étape est un préliminaire indispensable si l'on souhaite suivre une source en profondeur tout le long d'une séquence par tomographie optique.

Dans le but d'évaluer la possibilité de faire des séries de mesures avec cette nouvelle méthode, nous nous sommes appuyés sur l'outil classique que sont les ROI. Sur la première trame nous avons défini une ROI composée des faces portant la majorité du signal et par la suite nous avons mesuré sur ces faces la quantité de signal présent pour chaque trame de la séquence. En comparant sur chaque trame la quantité de signal mesurée avec celle initialement présente nous avons pu constater qu'elles sont fortement similaires. En moyenne (tableau 5.1) plus de 75% du signal est conservé sur la même zone d'émission au cours des différentes séquences, ce qui est une valeur compatible avec des mesures pertinentes sur animal vigile.

	SEQ 1	SEQ 2	SEQ 3	SEQ 4
Nombre de faces :	61	41	42	49
Taille de la ROI (cm) :	1.83	1.27	1.60	1.65
Valeur moyenne de similarité entre ROI :	88%	81%	83%	75%

TABLE 5.1 – Suivi de mesures avec des ROI 3D : les deux premières lignes décrivent la ROI choisie tandis que la dernière ligne évalue la quantité initiale de signal associée en moyenne à cette ROI au cours d'une séquence.

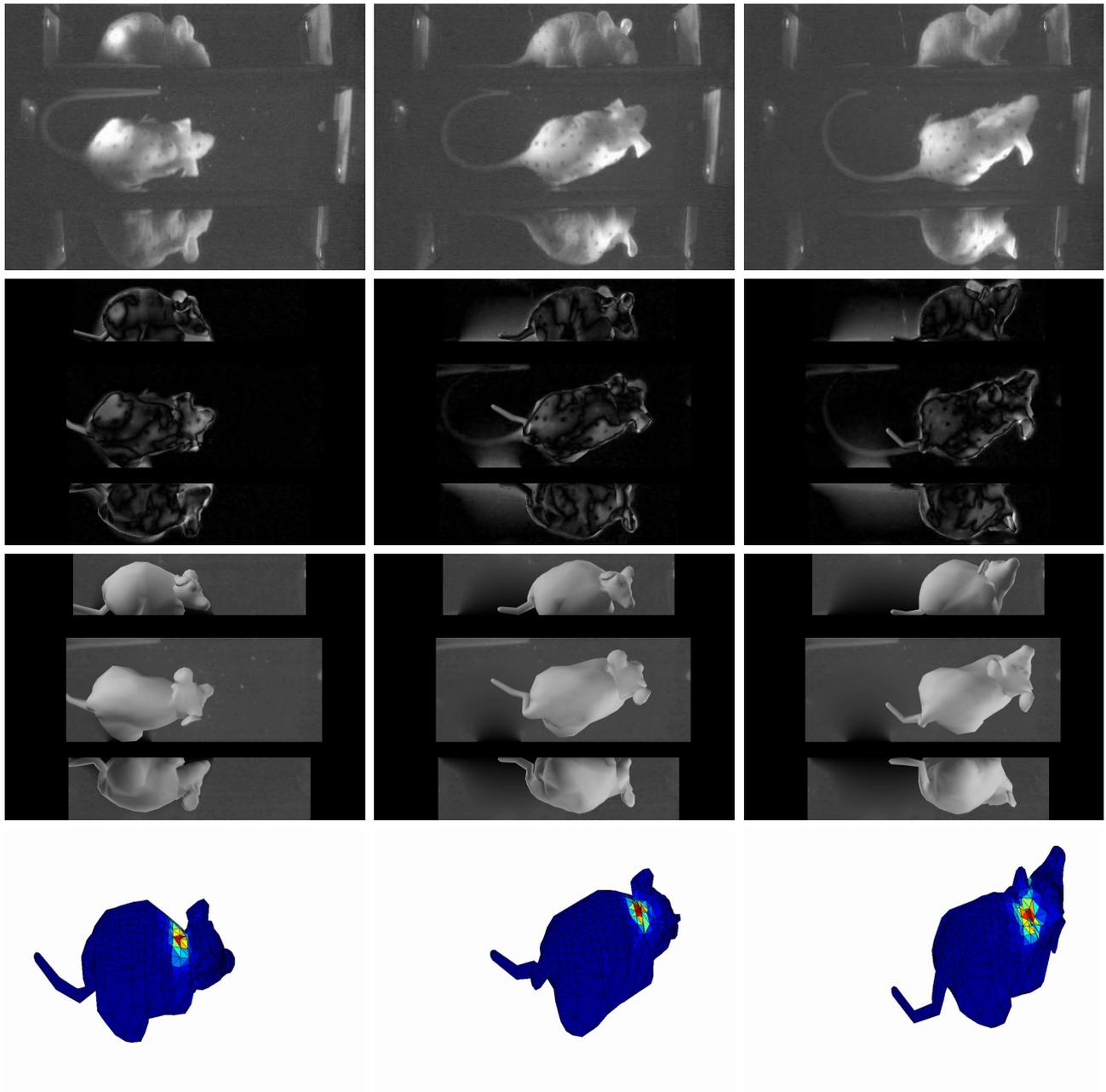


FIGURE 5.10 – Exemples de trames extraites d’une séquence traitée avec notre méthode. Chaque ligne correspond respectivement à l’image observée, l’image du résidu final, l’image synthétique associée et le modèle avec la pose estimée et le signal de bioluminescence retro-projeté.

5.5.3 Discussion

Même si les résultats présentés ci-dessus restent préliminaires, nous avons proposé une approche originale de l'imagerie optique où les techniques de vision par ordinateur se combinent à celles de l'instrumentation. Grâce à la modélisation du problème mise en œuvre, nous sommes capable de tenir compte simultanément de flux d'informations de modalités différentes. La richesse de ce modèle, construit à partir d'un ensemble d'articulations, sur une base anatomique, permet de retranscrire les propriétés de surface et d'apparence en tenant compte des éléments de la scène comme de l'illumination et des caméras (virtuelles ou pas). À partir de certaines hypothèses sur les données de bioluminescence nous avons pu insérer une contrainte de continuité sur le suivi 3D de l'animal et plus particulièrement de la zone d'émission. On obtient alors des résultats très encourageants (Fig. 5.11) qui permettent de donner une autre dimension à la fusion de données cinématiques.

L'introduction dans le modèle articulé de propriétés optiques issues par exemple de la fusion avec un atlas est une voie d'amélioration très prometteuse. Elle permettrait d'intégrer plus précisément et de façon continue les données optiques dans le processus d'optimisation. La validation de cette approche serait alors envisageable avec des signaux intermittents comme dans le cas de l'imagerie calcique dont le signal peut être lié entre autre à des phénomènes musculaires ou neuronaux (cf. 2.2.2).

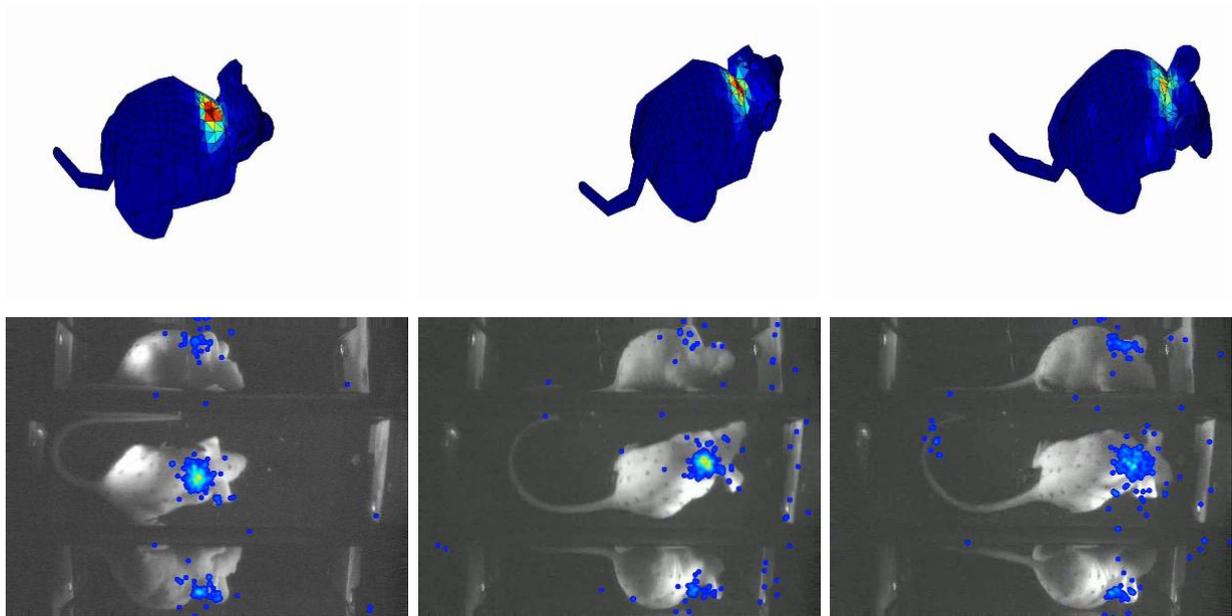


FIGURE 5.11 – Comparaison entre des trames de fusion planaire et les mêmes trames de fusion 3D via notre méthode.

Conclusion et Perspectives

Dans le but de fournir les outils d'analyse aux traitements de flux cinématiques, nous avons développé une série d'approches offrant une amélioration substantielle à l'imagerie optique. Avec les méthodes proposées, il est en effet maintenant envisageable de s'affranchir des principales limitations de l'imagerie optique dans le cadre d'études sur animal vigile. La combinaison de nouveaux instruments permettant l'imagerie optique temps réel et de modélisations adaptées du domaine de la vision par ordinateur, permet d'envisager de nouvelles applications inédites. De plus les conditions d'acquisition combinées au mouvements non linéaires de l'animal créent un vrai challenge pour déterminer des champs de déformation pertinents.

Guidé par la volonté d'offrir une imagerie optique *in vivo* compatible avec une grande variété de résolutions temporelles tout en s'affranchissant de l'anesthésie, nous avons développé une palette de méthodes et de modélisations à la pointe de l'innovation. Les travaux préliminaires ont porté sur la définition de notre problématique sous la forme d'un problème de recalage et la réalisation des outils de validations associées aux données *in actio*. Dans un second temps nous avons construit une approche séquentielle de notre problème d'estimation de mouvement de la souris. Notre cadre méthodologique s'appuie sur une formulation classique et robuste d'un critère de comparaison adapté à nos données vidéos. Les champs de déformation estimés par une technique de minimisation variationnelle nous ont permis de rétablir le lien entre la bioluminescence et sa surface d'émission sur le corps de l'animal. Les validations effectuées nous ont permis de montrer que cette approche était pertinente au point de déclencher l'intégration de celle-ci dans le logiciel commercial d'analyse de Biospace Lab. Phase que j'ai piloté au cours de cette thèse.

Des travaux de recherche complémentaires nous ont amené à élaborer une nouvelle approche prenant en compte de façon simultanée les différentes sources d'informations fournies par notre dispositif. Elle s'appuie sur une modélisation de notre problème sous la forme d'un recalage d'une population d'images multi-canaux. Ces méthodes de recalage, dites *groupwise*, s'adaptent de façon efficace à notre objectif de contraindre le champ de déformation à retranscrire fidèlement les mouvements de l'animal dans le but d'assurer la localisation précise du signal de bioluminescence. En proposant un cadre de modélisation discrète, à base de MRF, nous avons pu intégrer de façon simple dans le modèle nos différentes sources d'informations et avoir accès à des méthodes performantes d'optimisation. En s'appuyant sur la validation effectuée dans des conditions similaires à la première approche, nous avons pu montrer que les performances étaient extrêmement encourageantes pour une modélisation inédite du point de vue de la fusion de données de différentes modalités. D'un point de vue temps de calcul, ces deux solutions ne sont malheureusement pas réalisable en temps-réel mais s'approche de d'un ration de 1s à 10s par transformation (respectivement pour la méthode séquentielle et la méthode *groupwise*).

En dehors de l'imagerie optique sur animal vigile, ces travaux de modélisation de données multi-canaux offrent la possibilité d'étendre notre approche au suivi de données longitudinales fournies par des appareils bi-modalités. Les expériences de suivi longitudinal avec le Photon Imager seraient facilitées avec ce type d'algorithme qui assure l'alignement de toutes les données collectées. Des tâches plus spécifiques comme l'alignement de séries de coupes histologiques et radiographiques peuvent offrir un débouché intéressant pour ce type de méthode.

Au vu des résultats obtenus et des limitations connues de l'imagerie optique planaire, nous avons proposé d'étendre l'imagerie optique sur animal vigile à la 3D. L'étape de détermination de l'enveloppe de la souris étant primordiale pour tous les algorithmes de reconstruction en tomographie optique *in vivo*. Dans le cas d'animal anesthésié ou contraint, cette surface est aisément identifiable et peut être déterminée par de multiples méthodes dont la grande majorité est incompatible avec une imagerie temps réel et donc sur animal vigile. Les contraintes de rapidité et de fiabilité de la reconstruction de la surface de l'animal deviennent primordiales dans notre cas. Pour poser la première pierre vers notre objectif, nous avons combiné un système multi-vues élégant et compatible avec l'imagerie sur animal vigile (encombrement, récupération d'un maximum de signal, zone libre pour l'animal) avec des méthodes performantes d'estimation de la pose. Nous avons cependant intégré dans la modélisation mise en place, les informations fournies par le signal de bioluminescence recueilli sur toutes les vues. Les résultats préliminaires que nous avons obtenu permettent de valider une preuve de concept extrêmement intéressante et ouvrent la voie à un tout nouveau domaine de recherche.

La méthode proposée reste totalement compatible avec des expériences statiques acquises avec le dispositif *For View* de Biospace Lab ou bien tout autre système dont on peut modéliser le système d'acquisition. Il est en outre facilement envisageable d'associer à notre modèle de souris des données anatomiques issues d'atlas pour obtenir un suivi cinématique 3D de l'animal sous des conditions biomécaniques complètes et pour renforcer la précision de la localisation des sources du flux de données optiques.

Communications sur les travaux réalisés

Article :

E. Roncali , **M. Savinaud**, O. Levrey , K.L. Rogers, S. Maitrejean and B. Tavitian : *New device for real-time bioluminescence imaging in moving rodents*, Journal of Biomedical Optics, Vol. 13, 2008.

Brevet :

M. Savinaud, N. Paragios and S. Maitrejean : *Method and installation for obtaining an image of a sample emitting a light signal from within its inside*, Patent WO/2009/112893, 2009.

Conférences internationales :

M. Savinaud, M. de La Gorce, S. Maitrejean and N. Paragios : *Model-based Multi-view Fusion of Cinematic Flow and Optical Imaging*, International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention (MICCAI'10), Beijing, Chine, 2010.

M. Savinaud, A. Sotiras, S. Maitrejean and N. Paragios : *Bioluminescence Enhancement Through Fusion of Optical Imaging and Cinematic Video Flow*, IEEE International Symposium on Biomedical Imaging : from Nano to Macro (ISBI'10), Rotterdam, Netherlands, 2010. **Oral Presentation.**

M. Savinaud, S. Maitrejean and N. Paragios : *Motion-Based Enhancement of Optical Imaging*, IEEE International Symposium on Biomedical Imaging : from Nano to Macro (ISBI'09), Boston, USA, 2009. **Oral Presentation.**

M. Savinaud, R. Boisgard, S. Maitrejean and N. Paragios : *Co-Registration on Multi-View Imaging System for Motion Issues in Optical Imaging*, World Molecular Imaging Congress, Montreal, Canada, 2009. Abstract.

M. Savinaud, E. Roncali, S. Maitrejean and N. Paragios : *From Black Box to Real Time Images : Motion Issues in Optical Imaging*, World Molecular Imaging Congress, Nice, France, 2008. Abstract.

Séminaires :

M. Savinaud : *Méthodes de recalage et d'analyse pour l'imagerie optique in vivo sur l'animal vigile*, Séminaire I²BM, Orsay, France, 2010. Oral Presentation.

M. Savinaud : *Fusion des flux vidéos et de bioluminescence pour l'imagerie sur animal vigile*, Bionuméo 6, Gif sur Yvette, France, 2010. Oral Presentation.

M. Savinaud, S. Maitrejean and N. Paragios : *Méthode de recalage pour l'imagerie optique in vivo sur l'animal vigile*, OPTDIAG : Diagnostic et imagerie optiques en médecine, Paris, France, 2009. Abstract

Bibliographie

- [1] S. Altmann. *Rotations, quaternions, and double groups*. Dover Publications, 1986.
- [2] V. Ambrosini, C. Quarta, C. Nanni, C. Pettinato, R. Franchi, G. Grassetto, A. Al-Nahhas, S. Fanti, and D. Rubello. Small animal pet in oncology : The road from bench to bedside. *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals*, 24(2) :277–285, 2009.
- [3] N. Arad, N. Dyn, D. Reifeld, and Y. Yeshurun. Image warping by radial basis functions : Application to facial expressions. *CVGIP : Graphical Models and Image Processing*, 56(2) :161–172, 1994.
- [4] O. Aristizabal, D. Christopher, F. Foster, and D. Turnbull. 40-mhz echocardiography scanner for cardiovascular assessment of mouse embryos. *Ultrasound in medicine and biology*, 24(9) :1407–1417, Nov 1998.
- [5] S. Arridge. Optical tomography in medical imaging. *inverse problems*, 15 :52, 1999.
- [6] H. Asada and M. Brady. The curvature primal sketch. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, 8 :2–14, January 1986.
- [7] I. Bab, C. Hajbi-Yonissi, Y. Gabet, and R. MÅ¼ller. *Micro-Tomographic Atlas of the Mouse Skeleton*. Springer, 2007.
- [8] M. Bader. Transgenic animal models for neuropharmacology. *Reviews in the neurosciences*, 11 :27–36, 2000.
- [9] M. Baiker, J. Milles, J. Dijkstra, T. D. Henning, A. W. Weber, I. Que, E. L. Kaijzel, C. W. Löwik, J. H. Reiber, and B. P. Lelieveldt. Atlas-based whole-body segmentation of mice from low-contrast micro-ct data. *Medical Image Analysis*, In Press, Accepted Manuscript :–, 2010.
- [10] M. Baiker, J. Milles, A. Vossepel, I. Que, E. Kaijzel, C. Lowik, J. Reiber, J. Dijkstra, and B. Lelieveldt. Fully automated whole-body registration in mice using articulated skeleton atlas. In *Biomedical Imaging : From Nano to Macro, 2007. ISBI 2007. 4th IEEE International Symposium on*, pages 728–731, April 2007.
- [11] M. Baiker, B. VastenHouw, W. Branderhorst, J. Reiber, F. Beekman, and B. Lelieveldt. Atlas-driven scan planning for high-resolution micro-spect data acquisition based on multi-view photographs : a pilot study. In *Proceeding of SPIE Medical Imaging*, volume 7261, Feb. 2009.
- [12] R. Bajcsy. Digital anatomy atlas and its registration to mri, fmri, pet : The past presents a future. In *WBIR*, pages 201–211, 2003.
- [13] R. Bajcsy and S. Kovacic. Multiresolution elastic matching. *Computer Vision, Graphics, and Image Processing*, 46(1) :1–21, 1989.
- [14] S. Balci, P. Golland, M. Shenton, and W. W. III. Free-form b-spline deformation model for groupwise registration. In *LNCS MICCAI'07 Statistical Registration Workshop*, 2007.
- [15] B. Ballou, L. Ernst, S. Andreko, J. Fitzpatrick, B. Lagerholm, A. Waggoner, and M. Bruchez. Imaging vasculature and lymphatic flow in mice using quantum dots. In *Bioluminescence*, pages 63–74, 2009.

- [16] B. Ballou, G. Fisher, J. Deng, T. Hakala, M. Srivastava, and D. Farkas. Cyanine fluorochrome-labeled antibodies in vivo : assessment of tumor imaging using cy3, cy5, cy5.5, and cy7. *Cancer Detect Prev*, 22(3) :251–257, 1998.
- [17] C. Baudalet and B. Gallez. Effect of anesthesia on the signal intensity in tumors using bold-mri : Comparison with flow measurements by laser doppler flowmetry and oxygen measurements by luminescence-based probes. *Magnetic Resonance Imaging*, 22(7) :905–912, September 2004.
- [18] A. Becker, C. Hassenius, K. Licha, B. Ebert, U. Sukowski, W. Semmler, B. Wiedenmann, and C. Grotzinger. Receptor-targeted optical imaging of tumors with near-infrared fluorescent ligands. *Nat Biotechnol*, 19(4) :327–331, 2001.
- [19] S. Belongie, J. Malik, and J. Puzicha. Shape matching and object recognition using shape contexts. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 24(24) :12, 2002.
- [20] K. K. Bhatia, J. V. Hajnal, B. K. Puri, A. D. Edwards, and D. Rueckert. Consistent groupwise non-rigid registration for atlas construction. In *IEEE ISBI'04*, pages 908–911, 2004.
- [21] S. Bhaumik and S. Gambhir. Optical imaging of renilla luciferase reporter gene expression in living mice. *PNAS*, 99(1) :377–382, 2002.
- [22] S. Bloch, F. Lesage, L. McIntosh, A. Gandjbakhche, K. Liang, and S. Achilefu. Whole-body fluorescence lifetime imaging of a tumor-targeted near-infrared molecular probe in mice. *Journal of Biomedical Optics*, 10(5) :054003, 2005.
- [23] F. Bookstein. Principal warps : Thin-plate splines and the decomposition of deformations. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 11(6) :19, 1989.
- [24] G. Borgefors. Distance transformations in digital images. *Comput. Vision Graph. Image Process.*, 34 :344–371, June 1986.
- [25] G. Borgefors. Hierarchical chamfer matching : A parametric edge matching algorithm. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 10(6) :16, 1988.
- [26] K. Branson and S. Belongie. Tracking multiple mouse contours (without too many samples). In *IEEE CVPR'05*. IEEE Computer Society, 2005.
- [27] M. E. Brevard, T. Q. Duong, J. A. King, and C. F. Ferris. Changes in mri signal intensity during hypercapnic challenge under conscious and anesthetized conditions. *Magnetic Resonance Imaging*, 21(9) :995 – 1001, 2003.
- [28] M. Bro-Nielsen and C. Gramkow. Fast fluid registration of medical images. In *VBC*, pages 267–276, 1996.
- [29] D. Brooks. Positron emission tomography and single-photon emission computed tomography in central nervous system drug development. *NeuroRx*, 2(2) :226–236, April 2005.
- [30] P. P. Bruyant. Analytic and iterative reconstruction algorithms in spect. *J Nucl Med*, 43(10) :1343–1358, 2002.
- [31] P. Cachier. *Recalage non rigide d'images médicales volumiques - contribution aux approches iconiques et géométriques*. PhD thesis, INRIA - École Centrale Paris, 2002.
- [32] O. Camara-Rey. *Recalage non linéaire d'images TDM et TEP dans les régions thoraciques et abdominales : étude méthodologique et application en routine clinique*. PhD thesis, ENST Telecom Paris, 2003.
- [33] C. Catana, D. Procissi, Y. Wu, M. Judenhofer, J. Qi, B. Pichler, R. Jacobs, and S. Cherry. Simultaneous in vivo positron emission tomography and magnetic resonance imaging. *PNAS*, 105(10) :3705–3710, 2008.

- [34] M. Cenci, I. Whishaw, and T. Schallert. Animal models of neurological deficits : how relevant is the rat ? *Nature Reviews Neuroscience*, 3 :574–579, July 2002.
- [35] M. Chalfie, Y. Tu, G. Euskirchen, W. Ward, and D. Prasher. Green fluorescent protein as a marker for gene expression. *Science*, 263(5148) :802–805, 1994.
- [36] A. J. Chaudhari, F. Darvas, J. R. Bading, R. A. Moats, P. S. Conti, D. J. Smith, S. R. Cherry, and R. M. Leahy. Hyperspectral and multispectral bioluminescence optical tomography for small animal imaging. *Physics in Medicine and Biology*, 50(23) :5421, 2005.
- [37] W.-T. Chen, U. Mahmood, R. Weissleder, and C.-H. Tung. Arthritis imaging using a near-infrared fluorescence folate-targeted probe. *Arthritis Res Ther*, 7(2) :310–317, 2005.
- [38] E. Cherin, R. Williams, A. Needles, G. Liu, C. White, A. Brown, Y.-Q. Zhou, and F. Foster. Ultrahigh frame rate retrospective ultrasound microimaging and blood flow visualization in mice in vivo. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 32(5) :683–691, May 2006.
- [39] Y. Choi and S. Lee. Injectivity conditions of 2D and 3D uniform cubic B-Spline functions. *Graphical Models*, 62(6) :411–427, 2000.
- [40] G. Christensen, S. Joshi, and M. Miller. Volumetric transformation of brain anatomy. *Medical Imaging, IEEE Transactions on*, 16(6) :864–877, Dec. 1997.
- [41] H. Chui. *Non-Rigid Point Matching : Algorithms, Extensions and Applications*. PhD thesis, Yale University, 2001.
- [42] H. Chui and A. Rangarajan. A new point matching algorithm for non-rigid registration. *Comput. Vis. Image Underst.*, 89(2-3) :114–141, 2003.
- [43] L. A. Colby and B. J. Morenko. Clinical considerations in rodent bioimaging. *Comparative medicine*, 54 :623–630, 2004.
- [44] M. J. Cook. *The Anatomy of the Laboratory Mouse*. Elsevier, 1965.
- [45] E. D’Agostino, F. Maes, D. Vandermeulen, and P. Suetens. Atlas-to-image non-rigid registration by minimization of conditional local entropy. In *IPMI*, pages 320–332, 2007.
- [46] C. Davatzikos, M. Vaillant, S. Resnick, J. L. Prince, S. Letovsky, and R. N. Bryan. Morphological analysis of brain structures using spatial normalization. In *VBC ’96 : Proceedings of the 4th International Conference on Visualization in Biomedical Computing*, pages 355–360, London, UK, 1996. Springer-Verlag.
- [47] N. de Clerck, K. Meurrens, H. Weiler, D. V. Dyck, G. Vanhoutte, P. Terpstra, and A. Postnov. High-resolution x-ray microtomography for the detection of lung tumors in living mice. *Neoplasia*, 6 :374–379, 2004.
- [48] M. de La Gorce. *Model-based 3D Hand Pose Estimation from Monocular Video*. Phd thesis, Ecole Centrale Paris, December 2009. il me semble que c’est pas la version finale.
- [49] M. de La Gorce, N. Paragios, and D. Fleet. Model-based hand tracking with texture, shading and self-occlusions. In *Computer Vision and Pattern Recognition, 2008. CVPR 2008. IEEE Conference on*, pages 1–8, June 2008.
- [50] U. Dhond and J. Aggarwal. Structure from stereo-a review. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*, 19(6) :1489–1510, 1989.
- [51] B. Dogdas, D. Stout, A. Chatziioannou, and R. Leahy. Digimouse : a 3d whole body mouse atlas from ct and cryosection data. *Physics in Medicine and Biology*, 52(3) :577–587, 2007.
- [52] G. Donato and S. Belongie. Approximate thin plate spline mappings. In *ECCV*, pages 21–31, 2002.

- [53] A. Dubois, J. Dauguet, A.-S. Herard, L. Besret, E. Duchesnay, V. Frouin, P. Hantraye, G. Bonvento, and T. Delzescaux. Automated three-dimensional analysis of histological and autoradiographic rat brain sections : application to an activation study. *Journal of Cerebral blood flow*, 27 :1742–1755, 2007.
- [54] S. Espaa, J. Herraiz, E. Vicente, E. Herranz, J. Vaquero, M. Desco, and J. Udias. Improved image reconstruction in small animal pet using a priori estimates of single-pixel events. In *IEEE Nuclear Science Symposium, NSS '07. IEEE*, volume 5, pages 3876–3880, Nov 2007.
- [55] M. Falangola, B. Ardekani, S.-P. Lee, J. Babb, A. Bogart, V. Dyakin, R. Nixon, K. Duff, and J. Helpert. Application of a non-linear image registration algorithm to quantitative analysis of t2 relaxation time in transgenic mouse models of ad pathology. *Journal of Neuroscience Methods*, 144(1) :91 – 97, 2005.
- [56] L. Favreau, L. Reveret, C. Depraz, and M.-P. Cani. Animal gaits from video. In ACM, editor, *ACM SIGGRAPH Symposium on Computer Animation*, 2004.
- [57] P. Felzenszwalb and D. Huttenlocher. Distance transforms of sampled functions. Technical Report 1963, Cornell University, Computing and Information Science, 2004.
- [58] C. Ferris, M. Febo, F. Luo, K. Schmidt, M. Brevard, J. Harder, P. Kulkarni, T. Messenger, and J. King. Functional magnetic resonance imaging in conscious animals : A new tool in behavioural neuroscience research. *Journal of Neuroendocrinology*, 18 :307–318, 2006.
- [59] B. Fischer, M. B. Olsen, C. Ley, T. Klausen, J. Mortensen, L. Hojgaard, and P. Kristjansen. How few cancer cells can be detected by positron emission tomography? a frequent question addressed by an in vitro study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 33(6) :697–702, June 2006.
- [60] B. Franc, P. Acton, C. Mari, and B. Hasegawa. Small-animal spect and spect/ct : Important tools for preclinical investigation. *J Nucl Med*, 49(10) :1651–1663, 2008.
- [61] T. Funk, P. Despres, W. Barber, K. Shah, and B. Hasegawa. A multipinhole small animal spect system with submillimeter spatial resolution. *Medical Physics*, 33(5) :1259–1268, May 2006.
- [62] J. L. Gach, O. Hernandez, J. Boulesteix, P. Amram, O. Boissin, C. Carignan, O. Garrido, M. Marcelin, G. O. Stlin, H. Plana, and R. Rampazzo. Fabry perot observations using a new gas photon-counting system. In S. Netherlands, editor, *Scientific Detectors for Astronomy*, volume 300 of *Astrophysics and Space Science Library*, pages 335–340. Springer, 2004.
- [63] J. Gall, C. Stoll, E. de Aguiar, C. Theobalt, B. Rosenhahn, and H.-P. Seidel. Motion capture using joint skeleton tracking and surface estimation. In *Computer Vision and Pattern Recognition, 2009. CVPR 2009. IEEE Conference on*, pages 1746–1753, June 2009.
- [64] J. Gao, K. Chen, R. Xie, J. Xie, S. Lee, Z. Cheng, X. Peng, and X. Chen. Ultrasmall near-infrared non-cadmium quantum dots for in vivo tumor imaging. *Small*, 6(2) :256–261, 2010.
- [65] X. Gao, Y. Cui, R. Levenson, L. Chung, and S. Nie. In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat Biotech*, 22(8) :969–976, August 2004.
- [66] A. Gibson, J. Hebden, and S. Arridge. Recent advances in diffuse optical imaging. *Physics in Medicine and Biology*, 50(4) :R1–R43, 2005.
- [67] B. Glocker, N. Komodakis, G. Tziritas, N. Navab, and N. Paragios. Dense image registration through mrfs and efficient linear programming. *Medical Image Analysis*, 12 :731–741, 2008.
- [68] J. S. Goddard, J. S. Baba, S. J. Lee, A. G. Weisenberger, A. Stolin, J. McKisson, and M. F. Smith. Real-time awake animal motion tracking system for spect imaging. In *Nuclear Science Symposium Conference Record, 2008. NSS '08. IEEE*, pages 4707 – 4710, 2008.

- [69] D. Goertz, J. Yu, R. Kerbel, P. Burns, and F. Foster. High-frequency 3-d color-flow imaging of the microcirculation. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 29(1) :39–51, 2003.
- [70] R. Goiffon, W. Akers, M. Berezin, H.L., and S. Achilefu. Dynamic noninvasive monitoring of renal function in vivo by fluorescence lifetime imaging. *Journal of Biomedical Optics*, 14(2) :020501, 2009.
- [71] H. Gouraud. Continuous shading of curved surfaces. *Computers, IEEE Transactions on*, C-20(6) :623 – 629, jun. 1971.
- [72] C. Grondard, O. Biondi, A.-S. Armand, S. Lecolle, B. D. Gaspera, C. Pariset, H. Li, C.-L. Gallien, P.-P. Vidal, C. Chanoine, and F. Charbonnier. Regular exercise prolongs survival in a type 2 spinal muscular atrophy model mouse. *J. Neurosci.*, 25(33) :7615–7622, 2005.
- [73] P. Habas, K. Kim, F. Rousseau, O. Glenn, A. Barkovich, and C. Studholme. A spatio-temporal atlas of the human fetal brain with application to tissue segmentation. In *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention MICCAI 2009*, pages 289–296, 2009.
- [74] J. Haller, D. Hyde, N. Deliolanis, R. de Kleine, M. Niedre, and V. Ntziachristos. Visualization of pulmonary inflammation using noninvasive fluorescence molecular imaging. *J Appl Physiol*, 104(3) :795–802, 2008.
- [75] Y. Han, G. Langs, and N. Paragios. Group-wise mdl based registration of small animals in video sequences. In *IEEE ISBI*, 2008.
- [76] J. Heikkila and O. Silven. A four-step camera calibration procedure with implicit image correction. In *IEEE CVPR '97*, page 1106, 1997.
- [77] F. Helmchen, M. S. Fee, D. W. Tank, and W. Denk. A miniature head-mounted two-photon microscope : High-resolution brain imaging in freely moving animals. *Neuron*, 31 :9, 2001.
- [78] A. H. Hielscher. Optical tomographic imaging of small animals. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(1) :79 – 88, 2005. Analytical biotechnology.
- [79] I. J. Hildebrandt, H. Su, and W. A. Weber. Anesthesia and other considerations for in vivo imaging of small animals. *ILAR Journal*, 49(1) :17–26, 2008.
- [80] D. Hill, P. Batchelor, M. Holden, and D. Hawkes. Medical image registration. *Physics in medicine and biology*, 46(3) :R1–45, 2001.
- [81] E. Hillman and A. Moore. All-optical anatomical co-registration for molecular imaging of small animals using dynamic contrast. *Nature Photonics*, 1 :526–530, Sept. 2007.
- [82] M. Hoehn, E. Kustermann, J. Blunk, D. Wiedermann, T. Trapp, S. Wecker, M. Focking, H. Arnold, J. Hescheler, B. Fleischmann, W. Schwindt, and C. Buhle. Monitoring of implanted stem cell migration in vivo : A highly resolved in vivo magnetic resonance imaging investigation of experimental stroke in rat. *PNAS*, 99(25) :16267–16272, 2002.
- [83] C. Hoge, C. Davatzikos, and G. Biros. Brain-tumor interaction biophysical models for medical image registration. *SIAM J. Sci. Comput.*, 30(6) :3050–3072, 2008.
- [84] B. K. P. Horn and B. G. Schunck. Determining optical flow. *Artificial Intelligence*, 17 :185–203, 1981.
- [85] X. Huang, N. Paragios, and D. Metaxas. Shape registration in implicit spaces using information theory and free form deformations. *Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on*, 28(8) :1303 –1318, aug. 2006.
- [86] M. Ignat, M. Aprahamian, V. Lindner, A. Altmeyer, S. Perretta, B. Dallemagne, D. Mutter, and J. Marescaux. Feasibility and reliability of pancreatic cancer staging using fiberoptic confocal fluorescence microscopy in rats. *Gastroenterology*, 137(5) :1584–1592, 2009.

- [87] V. Israel-Jost, P. Choquet, S. Salmon, C. Blondet, E. Sonnendrucker, and A. Constantinesco. Pinhole spect imaging : compact projection/backprojection operator for efficient algebraic reconstruction. *Medical Imaging, IEEE Transactions on*, 25(2) :158–167, Feb. 2006.
- [88] M. Jackowski, X. Papademetris, L. Dobrucki, A. Sinusas, and L. Staib. Characterizing vascular connectivity from microct images. In *MICCAI'05*, 2005.
- [89] P. Jenneson, W. Gilboy, E. Morton, and P. Gregory. An x-ray micro-tomography system optimised for the low-dose study of living organisms. *Applied radiation and isotopes*, 58(2) :177–181, Feb. 2003.
- [90] H. Johnson and G. Christensen. Consistent landmark and intensity-based image registration. *Medical Imaging, IEEE Transactions on*, 21(5) :450–461, May 2002.
- [91] S. Joshi, B. Davis, M. Jomier, and G. Gerig. Unbiased diffeomorphic atlas construction for computational anatomy. *NeuroImage*, 23(Supplement 1) :S151 – S160, 2004. Mathematics in Brain Imaging.
- [92] V. Josserand, H. Pelerin, B. d. Bruin, B. Jago, B. Kuhnast, F. Hinnen, F. Duconge, R. Boisgard, F. Beuvon, F. Chassoux, C. Daumas-Duport, E. Ezan, F. Dolle, A. Mabondzo, and B. Tavitian. Evaluation of drug penetration into the brain : A double study by in vivo imaging with positron emission tomography and using an in vitro model of the human blood-brain barrier. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 316 :79–86, 2006.
- [93] E. Jouannot, J. D. V. Huyen, K. Bourahla, P. Laugier, M. Lelievre-Pegorier, and L. Bridal. High-frequency ultrasound detection and follow-up of wilms' tumor in the mouse. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 32(2) :183–190, 2006.
- [94] H. Jun, S. Park, H. Kim, and K.-H. Yoon. Long residence time of ultrasound microbubbles targeted to integrin in murine tumor model. *Academic Radiology*, 17(1) :54–60, 2010.
- [95] M. Kass, A. Witkin, and D. Terzopoulos. Snakes : Active contour models. *International Journal of Computer Vision*, 1(4) :321–331, 1988.
- [96] M. Keyaerts, I. Remory, V. Caveliers, L. Tchouate-Gainkam, J. Poelaert, A. Bossuyt, and T. Lahoutte. Isoflurane anesthesia inhibits firefly luciferase in a dose-dependent way : a pitfall for in vivo bioluminescence imaging. In *Proceedings of WMIC 2009*, 2009.
- [97] M. Keyaerts, J. Verschuere, T. Bos, L. Tchouate-Gainkam, C. Peleman, K. Breckpot, C. Vanhove, V. Caveliers, A. Bossuyt, and T. Lahoutte. Dynamic bioluminescence imaging for quantitative tumour burden assessment using iv or ip administration of d-luciferin : effect on intensity, time kinetics and repeatability of photon emission. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 35(9) :999–1007, 2008.
- [98] A. Koenig, L. Herve, V. Josserand, M. Berger, J. Boutet, A. D. Silva, J.-M. Dinten, P. Peltie, J.-L. Coll, and P. Rizo. In vivo mice lung tumor follow-up with fluorescence diffuse optical tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 13(1) :011008, 2008.
- [99] P. Kok, J. Dijkstra, C. P. Botha, F. H. Post, E. Kaijzel, I. Que, C. W. G. M. Lowik, J. H. C. Reiber, and B. P. F. Lelieveldt. Integrated visualization of multi-angle bioluminescence imaging and micro ct. In K. R. Cleary and M. I. Miga, editors, *Medical Imaging 2007 : Visualization and Image-Guided Procedures*, volume 6509. SPIE, 2007.
- [100] N. Komodakis. *Optimization Algorithms for Discrete Markov Random Fields, with Applications to Computer Vision*. PhD thesis, University of Crete, Computer Science Department, 2006.
- [101] N. Komodakis, G. Tziritas, and N. Paragios. Performance vs computational efficiency for optimizing single and dynamic mrfs : Setting the state of the art with primal-dual strategies. *Comput. Vis. Image Underst.*, 112 :14–29, Oct. 2008.

- [102] D. Kouame and M. Ploquin. Super-resolution in medical imaging : An illustrative approach through ultrasound. In *IEEE ISBI '09*, pages 249–252, July 2009.
- [103] N. Kovacevic, J. Henderson, E. Chan, N. Lifshitz, J. Bishop, A. Evans, R. Henkelman, and X. Chen. A three-dimensional mri atlas of the mouse brain with estimates of the average and variability. *Cereb. Cortex*, 15(5) :639–645, 2005.
- [104] C. Kuo, O. Coquoz, T. L. Troy, H. Xu, and B. W. Rice. Three-dimensional reconstruction of in vivo bioluminescent sources based on multispectral imaging. *Journal of Biomedical Optics*, 12(2) :024007, 2007.
- [105] T. Lahoutte. Monitoring left ventricular function in small animals. *Journal of Nuclear Cardiology*, 14(3) :371 – 379, 2007.
- [106] Q. le Masne de Chermont. *Nanoparticules à luminescence persistante pour l'imagerie optique in vivo*. PhD thesis, Université Paris VI, 2007.
- [107] Q. le Masne de Chermont, C. Chaneac, J. Seguin, F. Pelle, S. Maitrejean, J.-P. Jolivet, D. Gourier, M. Bessodes, and D. Scherman. Nanoprobes with near-infrared persistent luminescence for in vivo imaging. *PNAS*, 104(22) :7, 2007.
- [108] S. Lee, G. Wolberg, K.-Y. Chwa, and S. Y. Shin. Image metamorphosis with scattered feature constraints. *Visualization and Computer Graphics, IEEE Transactions on*, 2(4) :337 –354, dec 1996.
- [109] H. Leong-Poi. Molecular imaging using contrast-enhanced ultrasound : evaluation of angiogenesis and cell therapy. *Cardiovasc Res*, 84(2) :190–200, 2009.
- [110] J. P. Lewis, M. Cordner, and N. Fong. Pose space deformation : a unified approach to shape interpolation and skeleton-driven deformation. In *ACM SIGGRAPH*, pages 165–172, 2000.
- [111] C. Li, G. Mitchell, J. Dutta, S. Ahn, R. Leahy, and S. Cherry. A three-dimensional multispectral fluorescence optical tomography imaging system for small animals based on a conical mirror design. *Opt. Express*, 17(9) :7571–7585, 2009.
- [112] Y. Li, C. Garson, Y. Xu, R. Beyers, F. Epstein, B. French, and J. Hossack. Quantification and mri validation of regional contractile dysfunction in mice post myocardial infarction using high resolution ultrasound. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 33(6) :894–904, 2007.
- [113] H. Liang, Y. Yang, K. Yang, Y. Wu, J. Boone, and S. Cherry. A micropet/ct system for in vivo small animal imaging. *Physics in Medicine and Biology*, 52(13) :3881–3894, 2007.
- [114] S. Liao and A. C. Chung. Non-rigid image registration with uniform spherical structure patterns. In *IPMI*, 2009.
- [115] J. Little and D. Hawkes. The registration of multiple medical images acquired from a single subject : why, how, what next ? *Stat Methods Med Res*, 6(3) :239–65, September 1997.
- [116] B. Ma, R. Narayanan, H. Park, A. Hero, P. Bland, and C. Meyer. Comparing pairwise and simultaneous joint registrations of decorrelating interval exams using entropic graphs. In *Information Processing in Medical Imaging*, pages 270–282, 2007.
- [117] M. Madsen. Recent advances in spect imaging. *J Nucl Med*, 48(4) :661–673, 2007.
- [118] N. Magnenat-Thalmann, R. Laperrière, and D. Thalmann. Joint-dependent local deformations for hand animation and object grasping. In *Proceedings on Graphics interface '88*, pages 26–33. Canadian Information Processing Society, 1988.
- [119] J. Maintz and M. Viergever. A survey of medical image registration. *Med Image Anal*, 2(1) :1–36, March 1998.

- [120] G. Malandain. *Filtrage, topologie et mise en correspondance d'images médicales multidimensionnelles*. Thèse de sciences, École Centrale de Paris, Septembre 1992.
- [121] R. Malladi, J. Sethian, and B. Vemuri. Shape modeling with front propagation : A level set approach. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 17 :158–175, 1995.
- [122] K. Marias, J. Ripoll, H. Meyer, V. Ntziachristos, and S. Orphanoudakis. Image analysis for assessing molecular activity changes in time-dependent geometries. *Medical Imaging, IEEE Transactions on*, 24(7) :894–900, July 2005.
- [123] S. Marsland, C. J. Twining, and C. J. Taylor. Groupwise non-rigid registration using polyharmonic clamped-plate splines. In *LNCS MICCAI'03*, pages 771–779, 2003.
- [124] L. Martiniova, D. Schimel, E. Laia, A. Limpuangthip, R. Kvetnansky, and K. Pacak. In vivo microct imaging of liver lesions in small animal models. *Methods*, 50(1) :20–25, 2009.
- [125] T. Massoud and S. Gambhir. Molecular imaging in living subjects : seeing fundamental biological processes in a new light. *Genes & Development*, 17(5) :545–580, 2003.
- [126] D. Mattes, D. Haynor, H. Vesselle, T. Lewellen, and W. Eubank. Pet-ct image registration in the chest using free-form deformations. *Medical Imaging, IEEE Transactions on*, 22(1) :120–128, jan. 2003.
- [127] P. Maurel, R. Keriven, and O. Faugeras. Reconciling landmarks and level sets. *Pattern Recognition, International Conference on*, 4 :69–72, 2006.
- [128] E. Miller, N. Matsakis, and P. Viola. Learning from one example through shared densities on transforms. In *IEEE CVPR'00*, volume 1, pages 464–471, 2000.
- [129] J. Montagnat and H. Delingette. 4d deformable models with temporal constraints : application to 4d cardiac image segmentation. *Medical Image Analysis*, 9(1) :87–100, 2005.
- [130] R. Murray, Z. Li, and S. Sastry. *A Mathematical Introduction to Robotic Manipulation*. CRC Press, 1994.
- [131] M. Murugavel and J. S. Jr. Automatic cropping of mri rat brain volumes using pulse coupled neural networks. *NeuroImage*, 45(3) :845–854, 2009.
- [132] C. Nastar and N. Ayache. Frequency-based nonrigid motion analysis : Application to four dimensional medical images. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, 18 :1067–1079, Nov. 1996.
- [133] R. Ng, M. Levoy, M. Brédif, G. Duval, M. Horowitz, and P. Hanrahan. Light field photography with a hand-held plenoptic camera. Tech Report CSTR 2005-02, Stanford University Computer Science, April 2005.
- [134] V. Noblet. *Recalage non rigide d'images cérébrales 3D avec contrainte de conservation de la topologie*. PhD thesis, l'Université Louis Pasteur - Strasbourg I, 2006.
- [135] O. Olsen, M. Thuen, M. Berry, V. Kovalev, M. Petrou, P. Goa, A. Sandvig, O. Haraldseth, and C. Brekken. Axon tracing in the adult rat optic nerve and tract after intravitreal injection of mndpdp using a semiautomatic segmentation technique. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 27 :34–42, 2008.
- [136] S. Oscher and N. Paragios. *Geometric Level Set Methods in Imaging, Vision, and Graphics*. Springer Verlag, 2003.
- [137] S. Ourselin, A. Roche, G. Subsol, X. Pennec, and C. Satttonnet. Automatic alignment of histological sections for 3d reconstruction and analysis. Technical Report 3595, INRIA, Dec. 1998.
- [138] X. Papademetris, D. P. Dione, L. W. Dobrucki, L. H. Staib, and A. J. Sinusas. Articulated rigid registration for serial lower-limb mouse imaging. In *LNCS MICCAI'05*, pages 919–926, 2005.

- [139] C. H. Papadimitriou and K. Steiglitz. *Combinatorial Optimization : Algorithms and Complexity*. Prentice-Hall, 1982.
- [140] N. Paragios, M. Rousson, and V. Ramesh. Non-rigid registration using distance functions. *Computer Vision and Image Understanding*, 89(2-3) :142–165, March 2003.
- [141] N. Paragios, M. Taron, X. Huang, M. Rousson, and D. Metaxas. On the representation of shapes using implicit functions. In H. Krim and A. Yezzi, editors, *Statistics and Analysis of Shapes*, pages 167–199. Springer, 2006.
- [142] H. Park, P. H. Bland, A. O. Hero, and C. R. Meyer. Least biased target selection in probabilistic atlas construction. In *LNCS MICCAI'05*, pages 419–426, 2005.
- [143] M. Paulus, S. Gleason, M. Easterly, and C. Foltz. A review of high-resolution x-ray computed tomography and other imaging modalities for small animal research. *LabAnimal*, 30 :36–45, 2001.
- [144] M. Paulus, S. Gleason, S. Kennel, P. Hunsicker, and D. Johnson. High resolution x-ray computed tomography : An emerging tool for small animal cancer research. *Neoplasia*, 2 :62–70, 2000.
- [145] G. Penney, J. Weese, J. Little, P. Desmedt, D. Hill, and D. Hawkes. A comparison of similarity measures for use in 2-d-3-d medical image registration. *Medical Imaging, IEEE Transactions on*, 17(4) :586 –595, aug. 1998.
- [146] C. Petitjean. *Recalage non rigide d'images par approches variationnelles statistiques : application à l'analyse et à la modélisation de la fonction myocardiaque en IRM*. PhD thesis, Université René Descartes - Paris V, 2003.
- [147] J. Pluim, J. A. Maintz, and M. A. Viergever. Mutual information based registration of medical images : a survey. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, XX(Y) :21, 2003.
- [148] E. Prados and O. Faugeras. Shape from shading. In *Mathematical Models in Computer Vision : The Handbook*. Springer, 2005.
- [149] A. Rahmim, O. Rousset, and H. Zaidi. Strategies for motion tracking and correction in pet. *PET Clinics*, 2(2) :251 – 266, 2007. PET Instrumentation and Quantification.
- [150] E. Ritman. Molecular imaging in small animals - roles for micro-ct. *Journal of Cellular biochemistry Supplement*, 39 :116–124, 2002.
- [151] E. L. Ritman. Micro-computed tomography - current status and developments. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 6 :185–208, 2004.
- [152] K. Rogers, S. Picaud, E. Roncali, R. Boisgard, C. Colasante, J. Stinnakre, B. Tavitian, and P. Brulet. Non-invasive in vivo imaging of calcium signaling in mice. *PLoS ONE*, 2(10) :e974, Oct. 2007.
- [153] T. Rohlfing, J. Maurer, C.R., D. Bluemke, and M. Jacobs. Volume-preserving nonrigid registration of mr breast images using free-form deformation with an incompressibility constraint. *Medical Imaging, IEEE Transactions on*, 22(6) :730 –741, june 2003.
- [154] E. Roncali. *Développements en imagerie de luminescence in vivo chez le petit animal : Système d'acquisition sur animal vigile et tomographie en temps réel*. PhD thesis, École Centrale Paris, July 2008.
- [155] E. Roncali, M. Savinaud, O. Levrey, K. Rogers, S. Maitrejean, and B. Tavitian. A new device for real time bioluminescence imaging in moving rodents. *Journal of Biomedical Optics*, 13(5) :054035, 2008.
- [156] A. Rose. The sensitivity performance of the human eye on an absolute scale. *Journal of the Optical Society of America*, 38(2) :196–208, Feb. 1948.

- [157] D. J. Rowland and S. R. Cherry. Small-animal preclinical nuclear medicine instrumentation and methodology. *Seminars in Nuclear Medicine*, 38(3) :209 – 222, 2008. Developments in Instrumentation.
- [158] D. Rueckert, P. Aljabar, R. A. Heckemann, J. V. Hajnal, and A. Hammers. Diffeomorphic registration using b-splines. In *MICCAI*, 2006.
- [159] D. Rueckert, L. Sonoda, C. Hayes, D. Hill, M. Leach, and D. Hawkes. Nonrigid registration using free-form deformations : application to breast mr images. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 18(8) :9, 1999.
- [160] J. Sawinski, D. J. Wallace, D. S. Greenberg, S. Grossmann, W. Denk, and J. N. D. Kerr. Visually evoked activity in cortical cells imaged in freely moving animals. *PNAS*, 106(46) :19557–19562, 2009.
- [161] J. Schaerer, Y. Rouchdy, P. Clarysse, B. Hiba, P. Croisille, J. Pousin, and I. Magnin. Simultaneous segmentation of the left and right heart ventricles in 3d cine mr images of small animals. In *Computers in Cardiology, 2005*, pages 231–234, Sept. 2005.
- [162] J. Schnabel, D. Rueckert, M. Quist, J. Blackall, A. Castellano-Smith, T. Hartkens, G. Penney, W. Hall, H. Liu, C. Truwit, F. Gerritsen, D. Hill, and D. Hawkes. A generic framework for non-rigid registration based on non-uniform multi-level free-form deformations. In *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention MICCAI 2001*, pages 573–581, 2001.
- [163] U. Schnockel, S. Hermann, L. Stegger, M. Law, M. Kuhlmann, O. Schober, K. Schafers, and M. Schafers. Small-animal pet : A promising, non-invasive tool in pre-clinical research. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 74(1) :50–54, 2010.
- [164] T. W. Sederberg and S. R. Parry. Free-form deformation of solid geometric models. *SIGGRAPH Comput. Graph.*, 20(4) :151–160, 1986.
- [165] D. Seghers, E. D’Agostino, F. Maes, D. Vandermeulen, and P. Suetens. Construction of a brain template from mr images using state-of-the-art registration and segmentation techniques. In *MICCAI*, pages 696–703, 2004.
- [166] Y. Seo, D.-W. Gao, B. Hasegawa, M. Dae, and B. Franc. Rodent brain imaging with spect/ct. *Medical Physics*, 34(4) :1217–1220, 2007.
- [167] D. Shen and C. Davatzikos. Hammer : Hierarchical attribute matching mechanism for elastic registration. *IEEE Trans. Med. Imaging*, 21(11) :1421–1439, 2002.
- [168] C. Shi, Y. Zhu, Z. Xie, W. Qian, C.-L. Hsieh, S. Nie, Y. Su, H. Zhau, and L. Chung. Visualizing human prostate cancer cells in mouse skeleton using bioconjugated near-infrared fluorescent quantum dots. *Urology*, 74(2) :446–451, 2009.
- [169] M.-A. Shibata, E. Shibata, J. Morimoto, N. Eid, Y. Tanaka, M. Watanabe, and Y. Otsuki. An immunocompetent murine model of metastatic mammary cancer accessible to bioluminescence imaging. *Anticancer Research*, 29(11) :4389–4395, 2009.
- [170] L. Sigal. *Continuous-state Graphical Models for Object Localization, Pose Estimation and Tracking*. PhD thesis, Brown University, 2007.
- [171] A. Sotiras, N. Komodakis, B. Glocker, J.-F. Deux, and N. Paragios. Graphical models and deformable diffeomorphic population registration using global and local metrics. In *MICCAI*, 2009.
- [172] A. Sotiras, N. Komodakis, G. Langs, and N. Paragios. Atlas-based deformable mutual population segmentation. In *IEEE ISBI’09*, pages 5 –8, june 2009.

- [173] A. Sotiras, Y. Ou, B. Glocker, C. Davatzikos, and N. Paragios. Simultaneous geometric - iconic registration. In *LNCS MICCAI'10*, 2010.
- [174] A. Soubret and V. Ntziachristos. Optical imaging and tomography. In V. Ntziachristos, A. Leroy-Willig, and B. Tavitian, editors, *Textbook of in vivo imaging in vertebrates*, chapter 5. John Wiley & Sons, 2007.
- [175] R. Szeliski, R. Zabih, D. Scharstein, O. Veksler, V. Kolmogorov, A. Agarwala, M. Tappen, and C. Rother. A comparative study of energy minimization methods for markov random fields with smoothness-based priors. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, 30(6) :1068–1080, 2008.
- [176] M. Taron. *Registration & Modeling of Shapes with Uncertainties : Contributions and Applications to Knowledge Based Segmentation*. PhD thesis, École Nationale des Ponts et Chaussées, 2007.
- [177] M. Taron, N. Paragios, and M.-P. Jolly. Registration with uncertainties and statistical modeling of shapes with variable metric kernels. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 31 :99–113, 2009.
- [178] P. M. Thompson and A. W. Toga. A framework for computational anatomy. *Computing and Visualization in Science*, 5(1) :13–34, July 2002.
- [179] M. Thuen, T. Singstad, T. Pedersen, O. Haraldseth, M. Berry, A. Sandvig, and C. Brekken. Manganese-enhanced mri of the optic visual pathway and optic nerve injury in adult rats. *J Magn Reson Imaging*, 22 :492–500, 2005.
- [180] H. Toyama, M. Ichise, J. S. Liow, D. C. Vines, N. M. Seneca, K. J. Modell, J. Seidelb, M. V. Green, and R. B. Innis. Evaluation of anesthesia effects on [18f]fdg uptake in mouse brain and heart using small animal pet. *Nuclear Medicine and Biology*, 31 :251–256, 2004.
- [181] C. J. Twining, T. Cootes, S. Marsland, V. Petrovic, R. Schestowitz, and C. J. Taylor. A unified information-theoretic approach to groupwise non-rigid registration and model building. In *LNCS Information Processing in Medical Imaging*, pages 1–14, 2005.
- [182] C. J. Twining, C. J. Taylor, and P. Courtney. Robust tracking and posture description for laboratory rodents using active shape models. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, 33 :381–391, 2001.
- [183] M. Urschler, J. Bauer, and H. Ditt. Sift and shape context for feature-based nonlinear registration of thoracic ct images. In *Computer Vision Approaches to Medical Image Analysis*, pages 73–84, 2006.
- [184] F. van der Have, B. Vastenhouw, M. Rentmeester, and F. Beekman. System calibration and statistical image reconstruction for ultra-high resolution stationary pinhole spect. *Medical Imaging, IEEE Transactions on*, 27(7) :960–971, July 2008.
- [185] A. Van der Linden, N. Van Camp, P. Ramos-Cabrer, and M. Hoehn. Current status of functional mri on small animals : application to physiology, pathophysiology, and cognition. *NMR in biomedicine*, 20(5) :522–545, Aug. 2007.
- [186] O. Veksler. *Efficient Graph-Based Energy Minimization Methods in Computer Vision*. PhD thesis, Cornell University, 1999.
- [187] T. Vercauteren. *Image Registration and Mosaicing for Dynamic In Vivo Fibered Confocal Microscopy*. PhD thesis, École des Mines de Paris, 2008.
- [188] T. Vercauteren, A. Perchant, G. Malandain, X. Pennec, and N. Ayache. Robust mosaicing with correction of motion distortions and tissue deformation for in vivo fibered microscopy. *Medical Image Analysis*, 10(5) :673–692, October 2006.

- [189] T. Vercauteren, A. Perchant, X. Pennec, and N. Ayache. Mosaicing of confocal microscopic in vivo soft tissue video sequences. In *MICCAI'05*, LNCS, pages 753–760, 2005.
- [190] M. Viergever, J. Maintz, W. Niessen, H. Noordmans, J. Pluim, R. Stokking, and K. Vincken. Registration, segmentation, and visualization of multimodal brain images. *Comput Med Imaging Graph*, 25(2) :147–51, Mar-Apr 2001.
- [191] P. A. Viola. *Alignment by Maximization of Mutual Information*. PhD thesis, Massachusetts Institute of Technology, 1995.
- [192] J. von Burstin, S. Eser, B. Seidler, A. Meining, M. Bajbouj, J. Mages, R. Lang, A. Kind, A. Schnieke, R. Schmid, G. Schneider, and D. Saur. Highly sensitive detection of early-stage pancreatic cancer by multimodal near-infrared molecular imaging in living mice. *International Journal of Cancer*, 123(9) :2138–2147, 2008.
- [193] F. Wang, B. Vemuri, A. Rangarajan, and S. Eisenschenk. Simultaneous nonrigid registration of multiple point sets and atlas construction. *Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on*, 30(11) :2011–2022, Nov. 2008.
- [194] G. Wang, H. Shen, K. Durairaj, X. Qian, and W. Cong. The first bioluminescence tomography system for simultaneous acquisition of multiview and multispectral data. *Int J Biomed Imaging*, 2006 :1–8, 2006.
- [195] L. Wang, J. Banu, C. McMahan, and D. Kalu. Male rodent model of age-related bone loss in men. *Bone*, 29 :141–148, 2001.
- [196] Q. Wang, P.-T. Yap, G. Wu, and D. Shen. Attribute vector guided groupwise registration. In *LNCS MICCAI 2009*, pages 656–663, 2009.
- [197] H. Wei, B. Kang, W. Wei, G. Liang, Q. Meng, Y. Li, and R. Eckenhoff. Isoflurane and sevoflurane affect cell survival and bcl-2/bax ratio differently. *Brain research*, 1037 :139–147, March 2005.
- [198] R. Weissleder. Scaling down imaging : molecular mapping of cancer in mice. *Nature Reviews Cancer*, 2 :11–18, Jan. 2002.
- [199] R. Weissleder. Molecular imaging in cancer. *Science*, 312 :1168–1171, May 2006.
- [200] R. Weissleder and V. Ntziachristos. Shedding light onto live molecular targets. *Nature Medecine*, 9(1) :123–128, January 2003.
- [201] L. Wirtzfeld, G. Wu, M. Bygrave, Y. Yamasaki, H. Sakai, M. Moussa, J. Izawa, D. Downey, N. Greenberg, A. Fenster, J. Xuan, and J. Lacefield. A new three-dimensional ultrasound microimaging technology for preclinical studies using a transgenic prostate cancer mouse model. *Cancer Research*, 65(14) :6337–6345, July 2005.
- [202] J. Woo, C.-H. Hong, B.-W. and Hu, K. Shung, C.-C. Kuo, and P. Slomka. Non-rigid ultrasound image registration based on intensity and local phase information. *Journal of Signal Processing Systems*, 54(1) :33–43, Jan. 2009.
- [203] C. Wu, K. Mino, H. Akimoto, M. Kawabata, K. Nakamura, M. Ozaki, and Y. Ohmiya. In vivo far-red luminescence imaging of a biomarker based on bret from cypridina bioluminescence to an organic dye. *PNAS*, 106(37) :15599–15603, 2009.
- [204] G. Wu, P.-T. Yap, Q. Wang, and D. Shen. Groupwise registration from exemplar to group mean : Extending hammer to groupwise registration. In *IEEE ISBI'10*, 2010.
- [205] D. Xiao, D. Zahra, P. Bourgeat, P. Berghofer, O. Tamayo, C. Wimberley, M. Gregoire, and O. Salvado. An improved 3d shape context based non-rigid registration method and its application to small animal skeletons registration. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 34(4) :321 – 332, 2010.

- [206] Q. Xiaoning, H. Tagare, and T. Zhong. Segmentation of rat cardiac ultrasound images with large dropout regions. In *IEEE CVPR Workshop*, pages 93–93, June 2006.
- [207] F. Xu, N. Liu, I. Kida, D. Rothman, F. Hyder, and G. Shepherd. Odor maps of aldehydes and esters revealed by functional mri in the glomerular layer of the mouse olfactory bulb. *PNAS*, 100(19) :11029–11034, 2003.
- [208] K. Yamauchi, M. Yang, P. Jiang, M. Xu, N. Yamamoto, H. Tsuchiya, K. Tomita, A. Moossa, M. Bouvet, and R. Hoffman. Development of real-time subcellular dynamic multicolor imaging of cancer-cell trafficking in live mice with a variable-magnification whole-mouse imaging system. *Cancer Research*, 66(8) :4208–4214, April 2006.
- [209] F. Yang, Z. and Cohen. Cross-weighted moments and affine invariants for image registration and matching. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, 21 :804–814, Aug. 1999.
- [210] M. Yang, E. Baranov, P. Jiang, F.-X. Sun, X.-M. Li, L. Li, S. Hasegawa, M. Bouvet, M. Al-Tuwaijri, T. Chishima, H. Shimada, A. Moossa, S. Penman, and R. Hoffman. Whole-body optical imaging of green fluorescent protein-expressing tumors and metastases. *PNAS*, 97(3) :1206–1211, 2000.
- [211] Y. Yong and H. Tagare. Segmenting rodent cardiac ultrasound images using direct posterior models. In *IEEE ISBI '09*, pages 775–778, July 2009.
- [212] X. Yu, S. Wang, D.-Y. Chen, S. Dodd, A. Goloshevsky, and A. Koretsky. 3d mapping of somatotopic reorganization with small animal functional mri. *NeuroImage*, 49(2) :1667–1676, 2010.
- [213] D. Zhang and G. Lu. Review of shape representation and description techniques. *Pattern Recognition*, 37(1) :1–19, 2004.
- [214] J. Zhang, Q. Peng, Q. Li, N. Jahanshad, Z. Hou, M. Jiang, N. Masuda, D. Langbehn, M. Miller, S. Mori, C. Ross, and W. Duan. Longitudinal characterization of brain atrophy of a huntington’s disease mouse model by automated morphological analyses of magnetic resonance images. *NeuroImage*, 49 :2340–2351, Feb 2010.
- [215] X. Zhang, C. T. Badea, and G. A. Johnson. Three-dimensional reconstruction in free-space whole-body fluorescence tomography of mice using optically reconstructed surface and atlas anatomy. *Journal of Biomedical Optics*, 14(6) :064010, 2009.
- [216] Z. Zhang. Iterative point matching for registration of freeform curves and surfaces. *International Journal of Computer Vision*, 13(2) :119–152, Oct. 1994.
- [217] Z. Zhang. Flexible camera calibration by viewing a plane from unknown orientations. In *in ICCV*, pages 666–673, 1999.
- [218] H. Zhou, D. J. Lin, and T. S. Huang. Static hand gesture recognition based on local orientation histogram feature distribution model. *IEEE CVPR Workshop*, 10 :161, 2004.
- [219] V. W. Zhou, A. Z. Kyme, S. R. Meikle, and R. Fulton. An event-driven motion correction method for neurological pet studies of awake laboratory animals. *Molecular Imaging and Biology*, 10 :315–324, 2008.
- [220] W. Zhu and T. Chan. Stability for shape comparison model. Technical report, UCLA-CAM, Aug. 2003.
- [221] B. Zitova and J. Flusser. Image registration methods : a survey. *Image and Vision Computing*, 21(11) :977–1000, 2003.
- [222] L. Zöllei, E. Learned-miller, E. Grimson, and W. Wells. Efficient population registration of 3d data. In *LNCS ICCV*, pages 291–301, 2005.

- [223] P. Zou, S. Xu, S. Povoski, A. Wang, M. Johnson, E. Martin, V. Subramaniam, R. Xu, and D. Sun. Near-infrared fluorescence labeled anti-tag-72 monoclonal antibodies for tumor imaging in colorectal cancer xenograft mice. *Molecular Pharmaceutics*, 6(2) :428–440, April 2009.
- [224] T. Zouagui, E. Chereul, M. Janier, and C. Odet. 3d mri heart segmentation of mouse embryos. *Computers in Biology and Medicine*, 40(1) :64–74, January 2010.