

Recalage d'image de la tomographie optique diffuse de fluorescence (fDOT) à la tomographie par émission de positons (TEP) et le développement de fDOT en multi-angle

TONG Xiao

Le développement rapide des techniques d'imagerie moléculaire change progressivement la façon dont nous pratiquons l'imagerie médicale. Bien que l'imagerie classique explore la plupart des changements structurels, techniques d'imagerie moléculaire peut fournir des informations de la forme moléculaire, des processus qui sont à la base des modifications structurelles ou physiques dans les tissus. Les modalités les plus couramment utilisés en imagerie in vivo sont: X-ray tomodensitométrie (CT), l'imagerie par résonance magnétique (IRM), échographie, médecine nucléaire, y compris tomographie d'émission monophotonique (SPECT) et la tomographie par émission de positons (TEP), et l'imagerie optique (IO).

Parmi les différentes approches optiques, tomographie optique diffuse (TOD) est une technique relativement nouvelle, qui fournit des images volumétriques et quantitatives de l'objet visé par la reconstruction de cartes de résolution spatiale d'une propriété optique biologiquement pertinente dans le tissu. En particulier, le développement de traceurs optiques fluorescents a considérablement amélioré le contraste de l'image des images optiques. La combinaison de tomographie optique diffuse à l'utilisation de sondes fluorescentes a conduit au développement récent de tomographie optique diffuse de fluorescence (fDOT), qui reconstitue la distribution tridimensionnelle de sondes fluorescentes dans le tissu. fDOT fournit images fonctionnelles et quantitatives des fluorescentes avec une technique de radiation non-ionisante et un équipement relativement peu coûteux. Ces caractéristiques font fDOT bien adapté pour les études de TEPits animaux, tels que l'imagerie des tumeurs, la découverte de médicaments et la thérapie génique.

Cependant, fDOT est une nouvelle technique d'imagerie qui est encore en développement. Dans le contexte de l'imagerie multimodale, différentes études ont démontré l'intérêt potentiel de combiner l'imagerie optique avec d'autres modalités. L'approche la plus commune est la combinaison avec image de CT, où celui-ci peut servir de référence anatomique. Dans cette thèse, fDOT est co-enregistré avec le TEP, ce qui représente une technique d'imagerie fonctionnelle. L'objectif de cette approche est d'explorer le potentiel de l'imagerie fonctionnelle multimodale. Développer une méthode automatique et réalisable de recalage TEP/fDOT basée sur les marqueurs fiduciaires multimodaux a été le premier des deux objectifs de cette thèse. Un algorithme de recalage a été développé en prenant en compte les particularités de fDOT par rapport à d'autres modalités (CT, IRM, TEP, etc.)

Le deuxième objectif de la thèse était orienté vers l'amélioration des

reconstructions fDOT. La majorité des systèmes fDOT sont limités à une configuration d'une seule caméra (angle unique), limitant ainsi les informations obtenues à partir des vues de différents angles. Par conséquent, la qualité de reconstruction de l'fDOT est limitée en termes de résolution en profondeur. Ceci peut être résolu avec l'incorporation de portiques d'une manière similaire aux techniques d'imagerie tomographiques telles bien établies tel que le TEP ou le CT. Un système de portique permet l'enregistrement de projections multiples angles pour les reconstructions d'image. Cependant, ces approches conduisent à l'augmentation de coût des appareils et ingénierie difficile. Dans l'étude présente, une approche multi-angles était réalisée pour imagerie fDOT avec l'utilisation de miroirs. L'objectif était d'améliorer la reconstruction fDOT tout en conservant la simplicité d'instrumentation du système fDOT de base.

Le contexte théorique de base, la mise en œuvre et des résultats accomplis de ce travail a été présenté dans cette thèse (version complète en anglais) en cinq chapitres. Dans ce résumé, les deux parties principales de la thèse sont présentées:

Dans la première partie, le travail sur le recalage automatique de la fDOT avec le TEP est présenté. La méthode est basée sur la détection automatique des marqueurs fiduciaux visibles dans les deux modalités. L'originalité de notre méthode repose sur l'introduction de techniques d'extraction de surface dans l'acquisition et l'analyse d'imagerie fDOT. L'évaluation quantitative après avoir testé cette méthode sur une série d'expériences a confirmé la faisabilité de cette méthode recalage. La méthode a été appliquée à l'étude des tumeurs, avec le recalage des images FDG-TEP de la glycolyse et des images de la vascularisation tumorale à l'aide d'une sonde fluorescente Sentidye® pour fDOT.

Dans la deuxième partie, le travail lié à l'amélioration de la résolution en profondeur dans la reconstruction fDOT seront présentés. Après avoir analysé l'inconvénient du système fDOT conventionnelle, l'amélioration proposée consiste à développer un nouveau système fDOT multi-angle avec deux miroirs redirigé le signal provenant de la face latérale de l'objet à la caméra. La nouvelle méthode de reconstruction fDOT a été testée sur deux types d'expériences: fantômes, rein de souris. La reconstruction de la géométrie miroir a été comparée avec la géométrie classique pour déterminer l'amélioration de la résolution en profondeur. Cette partie se termine sur la perspective de la future étude.

Partie 1: Recalage automatique des image fDOT et TEP

Des études récentes ont démontré l'intérêt potentiel de combiner fDOT et TEP. fDOT / TEP imagerie bimodale comporte deux modalités fonctionnelles, où chacun fournit des informations sur un processus différent. Cette combinaison peut servir à améliorer l'information moléculaire provenant d'un seul sujet à un moment donné. Les premières tentatives pour combiner fDOT avec le TEP a montré que des informations complémentaires étaient réalisables et ont démontré la performance d'imagerie fDOT par rapport au TEP. Cependant, seulement quelques études sont consacrées à la combinaison de la TEP avec fDOT principalement en raison des difficultés techniques ou des malentendus sur les avantages de ces images combinées. Une autre raison est que fDOT est une technique relativement nouvelle et en cours d'évolution par rapport à la technologie TEP établie.

Compte tenu de la résolution des scanners TEP et fDOT (1-2 mm) pour les petits animaux, méthode précis et fiables de recalage entre les deux modalités est essentiel. Parmi les différentes méthodes qui ont été développées, l'utilisation de marqueurs fiduciaires (FM) en position près du corps de l'animal est aujourd'hui la méthode la plus simple et universelle. Méthodes pour l'identification automatique des coordonnées de la FM ont été développées pour le recalage des modalités de tomodensitométrie (CT), TEP et IRM. Cependant, jusqu'à présent, ces méthodes ne sont pas adaptées au recalage de fDOT, c'est parce que la reconstruction fDOT est spatialement restreint et ne couvre pas les positions de FMs. Dans cette thèse, l'utilisation d'images de surface optique obtenue lors de la session d'acquisition fDOT a été introduite pour l'identification automatique des positions de FM dans l'espace de la reconstruction. La technique d'extraction de surface est directement implémentée dans l'imagerie de fDOT.

Matériel et Méthodes

Instrumentation et l'animal:

Le système d'imagerie utilisé dans cette étude pour l'acquisition TEP et fDOT sont respectivement la Focus 220 microTEP scanner (Siemens, Knoxville, Etats-Unis), et l'appareil d'imagerie optique 3D TomoFluo3D (Cyberstar, Grenoble, France) avec un support de la souris sur laquelle quatre FMs sont fixés. Les FMs utilisées dans ce travail étaient quatre cubes plexiglas de 1cm * 1cm * 1cm contenant une source de germanium-68 (74 kBq, 1 mm de diamètre et de longueur 0,5 mm; Isotop Product Laboratories, Valencia, USA) conçu à l'origine pour le recalage TEP/CT. En ce qui concerne le FM pour l'image optique, un spot de 2 mm de diamètre ont été dessiné avec correcteur blanc liquide (Tipp-Ex ®, Bic, Clichy, France) sur la surface supérieure de chaque cube plexiglas, exactement au-dessus des sources ⁶⁸Ge. Les Tipp-Ex ® spots offrent un contraste haut à l'image de photographique optique, sans être interféré avec le signal provenant du ⁶⁸Ge.

Six souris nue femelles (poids corporel de ~ 25 grammes) ont été obtenus à partir Elevage Janvier (Le Genest Saint Isle, France) et a reçu une injection sous-cutanée dans le flanc de 106 PC12-MEN2A cellules. Les souris ont été anesthésiées par une anesthésie gazeuse continue (1-2% d'isoflurane dans O₂) et imagé de manière séquentielle en fDOT et TEP.

Le sonde proche infrarouge (NIR) fluorescent Sentidye ® (20 nmol; Fluoptics, Grenoble, France) a été injecté trois heures avant l'acquisition de fDOT. [18F]-2-désoxy-2-fluoro-D-glucose (FDG) (7400 kBq; Flucis, IBA) a été administrée une heure avant le TEP scan. Chaque souris a subi une acquisition fDOT de 20 minutes suivie d'une acquisition TEP de 30 minutes. Pendant le transfert des animaux du fDOT au TET, l'animal a été gardé sous anesthésie en prenant soins d'éviter tout mouvement de l'animal sur la plaque de support.

Acquisition des images

L'image fluorescent 3D de fDOT avec une région d'intérêt défini (15×13 mm²) a été obtenu, en utilisant un laser d'excitation à 680 nm sur la face antérieure de l'animal et de l'enregistrement avec une caméra CCD en regard de sa face dorsale. A 2×2 binning a été appliquée et le volume de maille correspondant à la zone de détection a été mathématiquement discrétisé en voxels de $0,67 \times 0,67 \times 1$ mm³ taille pour construire le volume de maille reconstruction. Enfin, le problème inverse de la reconstruction tomographique a été résolu avec la technique de reconstruction algébrique (Koenig et al., 2010). La correction de l'atténuation des images TEP était basée sur la segmentation de l'émission. Les dimensions des volumes de reconstruction sont $256 \times 256 \times 95$ avec une taille de voxel de $0,475 \times 0,475 \times 0,796$ mm³.

Tel que présenté précédemment, la reconstruction fDOT est une image locale sur la région d'intérêt et ne comprend pas la zone des FMs. Afin de obtenir la position de la FM en image optique pour pouvoir recalibrer la reconstruction fDOT régional sur l'image TEP de corps entière, deux images optiques couvrant à la fois le sujet et le FM ont été acquises: (i) une image blanc photographique enregistrés à partir d'un appareil photo instantané donnant la coordonnées x et y, et (ii) une image de surface optique de l'animal, acquise par la caméra rapide tirs consécutifs pendant le balayage axial avec un laser vert planaire inclinée de la TomoFluo3D, ce qui donne les coordonnées en z de FM. Les trois images optiques (image blanc, image de surface et la reconstruction fDOT) ont été acquises dans le même référentiel spatial sous la même système d'imagerie fDOT dans la même séance d'imagerie. La région d'intérêt fait référence à la zone de balayage de la source laser, qui est définie par l'utilisateur en fonction du champ de vue de la caméra CCD. Le recalage est une combinaison de deux étapes: 1) de recalage de la reconstruction fDOT à l'image blanc photographique, et le recalage de l'image blanc avec l'image TEP.

Image de surface optique.

Le système fDOT est équipé en supplémentaire d'un laser vert planaire, en oblique, relié à l'étage de translation x, permet l'extraction de la surface de l'animal avec de la lumière verte. À une position x donnée, la courbe d'intersection entre le plan laser et l'objet étudié est acquise par la caméra dessus. L'information de la surface de l'objet est enregistrée sur l'image de surface optique, avec la valeur de l'intensité correspond à l'altitude de la surface du sujet.

Précaution a été pris pour obtenir une image de surface lisse. La souris et les quatre marqueurs sont tous présents dans l'image de surface optique, avec des différences de niveau de gris représentant les différences d'altitude de surface. À partir de cette image, il est possible de reconstituer l'enveloppe de surface en 3D ou le maillage de la souris en compte la résolution dans la direction z.

Détection de coordonnées planaire (x, y) de FM en image optique

Le Tipp-Ex ® spot dessiné sur le haut de chaque cube plexiglas a permis de visualiser la position planaire de la FM dans les images optiques. Quatre de régions de détection (ROD) carrée ont été attribués sur des positions prédéterminées dans l'image blanc. Chaque ROD a une taille trois fois plus grande que les dimensions des Tipp-Ex ® spots pour obéir le théorème d'échantillonnage de Nyquist-Shannon, tout en évitant les signaux parasites à partir du corps de la souris. La première étape a consisté en la détection automatique des coordonnées x et y de la FM sur la base de l'intensité maximale à l'intérieur des ROD correspondantes. Trois étapes de prétraitement d'images ont ensuite été réalisées successivement: (i) un filtre médiane 3x3 qui a éliminé la majorité du bruit présent dans les tiges, (ii) un filtre passe-haut d'intensité à une valeur de seuil de 90% de l'intensité maximum d'image, (iii) l'application des un filtre gaussien récursive de Deriche afin de centrer le gradient d'intensité des spots Tipp-Ex ®. Après ces trois étapes, les coordonnées de l'intensité maximum locale dans chaque ROD coïncident avec le centre du signal FM donnée par les Tipp-Ex® dans l'image blanc et assignées les positions (x_{opt} , y_{opt}) de la FM.

Détection de l'altitude (z) de coordonnées FM en image optique

Lorsque l'image de surface optique et l'image blanc sont concaténés dans la même orientation et la même taille de pixels, les coordonnées (x, y) dans les deux images se correspondent directement. Les valeurs d'intensité de l'image de surface optique représentant la distance entre la surface supérieure de la FM et la plaque de support ont été mesurées à position x_{opt} , y_{opt} pour donner la valeur z_{0opt} de la surface supérieure de FM. Au total, la combinaison de l'image de

surface optique et l'image blanc a permis l'attribution des coordonnées en 3D $(x_{opt}, y_{opt}, z_{opt})$ pour chaque FM dans l'image optique.

Détection de coordonnées FM en image TEP

Quatre ROD 3D de dimensions trois fois supérieure à la dimension de signal FM en image TEP ont été définis dans l'image volumique du TEP. Après la réalisation des mêmes étapes de prétraitement d'image que pour la détection des coordonnées optiques planaires, le maximum local dans chaque ROD est détecté pour avoir les coordonnées $(x_{TEP}, y_{TEP}, z_{TEP})$ de FM dans l'image de TEP. Étant donné que les signaux de FM en provenance du optiques et du TEP ne coïncident pas dans la même position en z (c'est à dire le signal optique est présent dans la surface supérieure du cube plexiglas, et le signal de TEP se trouve à l'intérieur du cube), une distance de dz a été ajouté pour tenir compte de la translation dans le la direction z, après le calcul de la matrice de transformation rigide entre l'image optique et le TEP.

Transformation de l'image blanc à l'image TEP

Une transformation rigide avec translation et rotation a été appliquée aux coordonnées de FM dans les images optiques et TEP. Avec $P_o = \{P_{o1}, P_{o2}, P_{o3}, P_{o4}\}$ et $\{P_p = P_{p1}, P_{p2}, P_{p3}, P_{p4}\}$ étant les quatre positions de FM à l'image optique et l'image TEP respectivement, la translation et la rotation T et R sont définis comme suit:

$$P_p = R * P_o + T$$

L'algorithme pour calculer la transformation [R, T] a utilisé la décomposition en valeurs singulières (SVD), pour trouver le critère de l'erreur quadratique à l'équation :

$$\sum_{i=1}^N E = \sum_{i=1}^N \|P_{pi} - (R P_{oi} + T)\|^2, \text{ (Où } N = 4 \text{ est le nombre de FM.)}$$

Les ensembles de points $\{P_{pi}\}$ et $\{P_{oi}\}$ ont été imposées sur les mêmes centroïdes pour le calcul de la rotation:

$$\begin{aligned} \overline{P_p} &= \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N P_{pi} & \hat{P}_{pi} &= P_{pi} - \overline{P_p} \\ \overline{P_o} &= \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N P_{oi} & \hat{P}_{oi} &= P_{oi} - \overline{P_o} \end{aligned}$$

Après correction pour la distance dz, la matrice transformation finale

$T_{\text{photo-TEP}}$:

$$T_{\text{photo-PET}} = \begin{bmatrix} \hat{R}S_{11} & \hat{R}S_{12} & \hat{R}S_{13} & \hat{T}_x \\ \hat{R}S_{21} & \hat{R}S_{22} & \hat{R}S_{23} & \hat{T}_y \\ \hat{R}S_{31} & \hat{R}S_{32} & \hat{R}S_{33} & \hat{T}_z \end{bmatrix}$$

où RS sont les éléments de rotation R multipliés par des facteurs de scaling S.

L'approche à base de la détection du barycentre

La méthode basée sur barycentre calcule la position moyenne pondérée de sa masse dans l'espace. Le barycentre est calculé comme le centre de masse B d'un système (c'est à dire tous les voxels dans les ROD) définie comme la moyenne de leur positions r_i , pondérés par leur masse m_i :

$$B = \frac{\sum m_i r_i}{\sum m_i}$$

Dans cette approche, Le barycentre calculé pour chaque ROD représenté la position de la FM.

Résultat

Recalage de l'image fDOT et l'image TEP

La position de la zone de reconstruction fDOT est définie a priori en fonction de l'image blanc. La matrice de transformation $T_{\text{fDOT-photo}}$ entre l'image fDOT et l'image blanc est calculé en utilisant les paramètres intrinsèques du système fDOT. La méthode de recalage base sur la détection de FM est utilisée pour fusionner l'image blanc avec l'image TEP (Figure 1). Enfin, à recalcr la reconstruction fDOT avec l'image TEP, les deux étapes précédentes sont réunies et la matrice de transformation pour recalcr fDOT et TEP est calculée comme le produit de:

$$T_{\text{fDOT-PET}} = T_{\text{fDOT-photo}} \times T_{\text{photo-PET}}$$

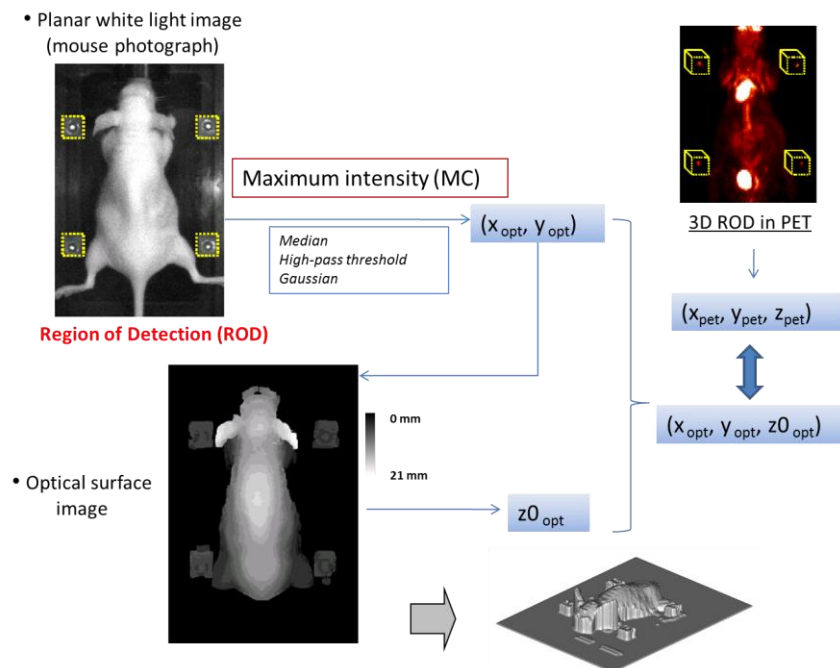


Figure 1: Présentation schématique de la détection des coordonnées FM dans les images optiques et d'images TEP. L'image blanc est utilisée pour calculer la coordonnées x et y de l'image optique, la coordonnée z détectée avec l'image de surface optique en utilisant les coordonnées x et y calculée précédemment. Les coordonnées 3D de la FM dans l'image TEP peuvent être extraites directement à partir de l'image TEP; les coordonnées des deux modalités sont utilisées pour calculer la transformation rigide.

L'évaluation quantitative du recalage

Pour évaluer quantitativement les performances de la méthode de recalage, l'erreur de recalage Fiducial (FRE) est calculée comme la distance de la racine carrée moyenne (rms) entre les positions de la FM dans les deux modalités d'image après le recalage, avec six expériences indépendantes chez les souris. Il s'agit d'un facteur d'évaluation couramment utilisée pour le recalage à la base de FM. Le FRE évalue la certitude de la superposition entre les points de FM, en prenant comme point de repère la distance relative de la position des marqueurs détectés par chaque modalité dans les images enregistrées

Nous avons comparé les valeurs de FRE de notre méthode d'intensité maximale (IM) avec celle du recalage manuel (MC) comme méthode de référence, et du méthode de barycentre (BC). Les erreurs ont été calculées dans les images co-enregistrées avec la distance en unité de pixel, multiplié par le nombre de pixels de chaque modalité.

$$FRE_{opt-PET} (mm) = \begin{cases} \Delta pixel_{opt} \times pixelsize_{opt} \\ \Delta pixel_{PET} \times pixelsize_{PET} \end{cases}$$

En raison des différences de la taille du pixel dans l'image fDOT (0.212mm²)

et l'image TEP (0.67mm²), les valeurs de FRE ont été calculées individuellement pour chaque modalité.

FRE (mm)		MC	MI	BC
Optical	Mean	0.279	0.259	0.545
	SD	0.05	0.06	0.11
TEP	Mean	0.217	0.256	0.448
	SD	0.09	0.12	0.08

Tableau 1: Erreurs de recalage Fiducial (FRE). MC: Recalage manuel; MI: Recalage de l'intensité maximale; BC: Recalage de barycentre; SD: écart-type de la moyenne (n = 6 pour tous les calculs). Toutes les valeurs sont exprimées en mm.

Comparaison des trois approches ont montré que l'approche MI produit en moyenne FRE plus petit que l'approche BC et dans le même ordre que celui de l'approche MC. Dans tous les cas, des différences statistiquement significatives ont été observées entre les valeurs FRE des approches MI et BC (test t de Student, $p = 0,0003$ et $p = 0,0007$ pour les images optiques et TEP, respectivement), mais aucune différence statistiquement significative n'a été trouvée entre la MI et l'approche MC ($p = 0,51$ et $p = 0,55$ pour des images optiques et TEP, respectivement). Pris ensemble, ces résultats indiquent que l'approche MI a la même performance de recalage que l'approche MC et que les deux sont plus précis que l'approche BC.

Recalage de la vascularisation et le métabolisme de la tumeur in vivo

Le méthode de recalage fDOT/TEP a été appliquée à 6 souris nude femelles porteuses de tumeurs de xénogreffes des cellules cancéreuses PC12-MEN2A qui imitent un carcinome médullaire thyroïdien humain. Le diamètre des tumeurs variait de 4,5 à 8 mm, correspondant à des masses tumorales de 50-270 mg. Chaque souris a reçu deux injections, l'une des sonde fluorescente Sentidye®, qui est une sonde qui s'accumule passivement dans les tumeurs en vertu d'effet EPR (the Enhanced Permeability and Retention), et l'autre de FDG, et a été imagé séquentiellement avec fDOT et le TEP.

Il y avait une forte corrélation entre le volume de la tumeur et l'absorption totale du FDG, mais aucune corrélation entre le volume de la tumeur et la concentration de FDG dans la tumeur exprimée en pour cent de la dose injectée par cc. En d'autres termes, la concentration de radioactivité est restée indépendante du volume de la tumeur. Le signal fDOT augmente aussi avec la taille des tumeurs, mais atteint un plateau pour les tumeurs de plus de 150 mg,

ce qui correspond à une tumeur d'un diamètre supérieur à 6 mm. De plus, aucune corrélation n'a été observée entre le volume de la tumeur et la concentration du signal fDOT dans la zone tumorale.

La fusion des images fDOT/TEP montre la localisation de la sonde optique par rapport à la consommation de glucose de la tumeur (Figure 2). Après les ROD ont été définies pour le support de souris comme indiqué ci-dessus, les images fDOT et TEP ont été recalées automatiquement et la localisation de FDG et l'uptake de Sentidye® ont été comparés directement. Les volumes des tumeurs mesurée à base de TEP-FDG a varié de 53 à 271 mm³ (moyenne = 143, écart-type = 105); volumes tumoraux mesurés à partir fDOT après l'uptake de Sentidye® varie de 83 à 265 mm³ (moyenne = 170, écart-type = 86). Il n'y avait pas de corrélation entre les volumes mesurés avec les deux modalités, à savoir le rapport entre des volumes tumoraux mesuré depuis de fDOT et TEP varié près d'un ordre de magnitude (plage: de 0,35 à 3,1; moyenne = 1,6; écart-type = 1,0). Plus intéressant, le recalage de fDOT avec le TEP a montré que le coefficient de recouvrement entre l'accumulation vasculaire de Sentidye® et l'uptake tumoral du FDG était de $42 \pm 14\%$, ce qui indique que seule une partie de la tumeur était hypervasculaire alors que la majorité du signal fDOT apparue située dans la vascularisation entourant la tumeur.

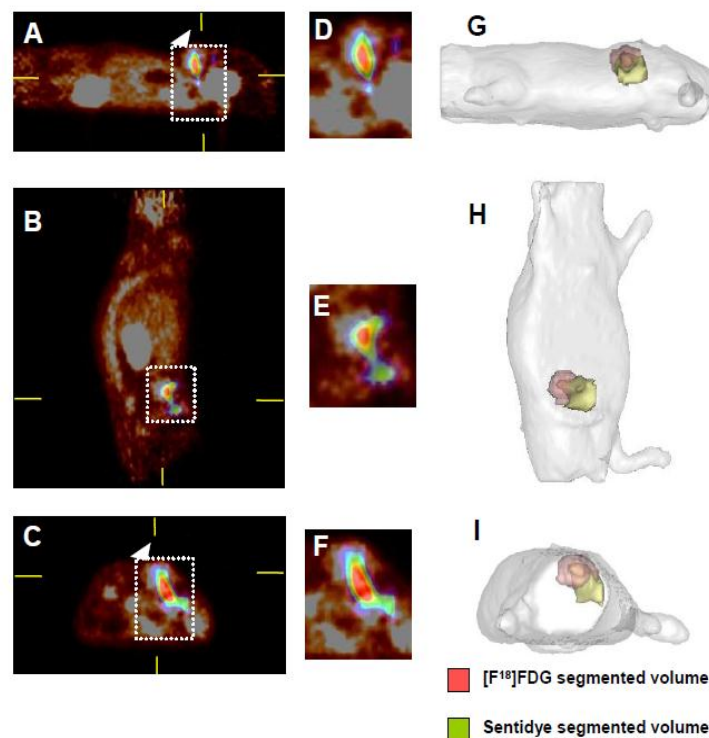


Figure 2: Recalage des images fDOT et micro-TEP dans une souris portant une xénogreffe de tumeur MEN2A. À gauche: Fusion d'image fDOT et TEP dans le plan sagittal (A), coronale (B) et axiale (C). Les images correspondantes de zoom se concentrent sur la région de la tumeur dans le plan sagittal (D), coronale (E) et axiales (F). Échelles de couleurs sont "temperature" (rouge foncé au jaune brillant) pour le TEP et "rainbow" (bleu au blanc) pour fDOT. Les rectangles blanc au pointillé indiquent les

regions de reconstruction fDOT tandis que les flèches blanches indiquent la position de la tumeur. Droite : PET et des signaux fDOT rendus à l'enveloppe de la souris correspondant à la sagittal (G), coronale (H) et axiale (I) sont affichés. Volume de rose: [18F] FDG du volume segmenté à l'intérieur de la tumeur, le volume Jaune: Sentidye® de volume segmenté à l'intérieur de la tumeur. Les deux volumes ont été extraits des volumes d'intérêt (VOI) utilisés pour la quantification de chaque type de signal.

Partie 2 : L'imagerie fDOT multi-angle avec l'utilisation de miroir

Lorsque l'on compare les caractéristiques du système des deux modalités TEP et fDOT, le TEP bénéficie d'un portique qui enregistre les signaux de tous les angles possibles. Dans fDOT, en revanche, le détecteur CCD est fixé à la partie supérieure tandis qu'un balayage planaire de laser est réalisé sur le côté opposé de l'objet. L'algorithme de reconstruction est prévu pour favoriser la résolution de reconstruction sur le plan xy, qui est perpendiculaire à l'axe caméra-source (l'axe z). Autrement dit, la résolution en profondeur le long de l'axe z est prévue d'être dégradée.

L'influence de la géométrie d'acquisition sur les reconstructions a déjà été démontrée dans plusieurs expériences. Ces expériences montrent que la reconstruction fDOT se dégrade en profondeur. Cette dégradation a été supposée comme la conséquence de la collection limitée de signal due à l'acquisition "single angle". Dans cette thèse, une approche pour améliorer problème de la dégradation en l'axe Z est proposée avec l'approche de la géométrie d'acquisition multi-angle.

Le système fDOT conventionnel

Dans un système fDOT non-contact de géométrie conventionnelle, l'objet est balayé avec la source laser. La caméra CCD fixée en haut enregistre la lumière d'émission, avec plusieurs filtres d'émission servant à sélectionner les signaux de longueurs d'onde différentes. Lorsque le laser scanne l'animal à différentes positions de source, l'image capturée à chaque combinaison source-détecteur correspond à une projection différente. Puisque l'orientation de la source et de le détecteur sont fixes aux sens opposés, l'ensemble des projections sont générés avec le signal provenant du même côté de l'objet. Actuellement, la majorité des appareils fDOT utilise la géométrie angle unique présentée au-dessus, ou une des variantes de cette géométrie. Plusieurs raisons justifient ce choix, notamment le coût faible, une instrumentation simple, le confort d'utilisation et aussi le confort fourni au sujet.

Multi-angle d'imagerie fDOT

Plusieurs angles multiples systèmes d'imagerie optique ont été également proposés. Toutefois, ce système est techniquement difficile et un autre inconvénient est les longues séquences d'acquisition lorsque plusieurs angles sont impliqués. Une façon simple de réaliser des projections multi-angle est l'utilisation de miroirs tandis que le sujet reste couché dans le support.

Matériel et méthodes

Instrumentation

Le système d'imagerie utilisé dans cette étude a consisté la imageur TomoFluo3D (Cyberstar, Grenoble, France) qui a été introduit dans la précédente section de recalage fDOT/TEP. Mesures tomodynamométrie ont été effectués en utilisant le scanner TEP / CT Inveon ® (Siemens, France), afin de tenir compte de la surface de l'objet ainsi la forme du milieu de propagation de la lumière.

L'incorporation de miroirs dans un imageur classique fDOT

L'idée de la méthode de miroirs présentée dans cette thèse est de capter le signal provenant des deux côtés du sujet, en modifiant l'appareil fDOT conventionnel existant. Pour cela, deux miroirs ont été placés symétriquement sur les deux côtés de l'animal avec un angle prédéfini à 45 degrés, qui reflètent le signal provenant des profils de sujet (Figure 3). La caméra CCD enregistre les vues centrales et deux vues latérales qui sont créés par les miroirs. Cet arrangement est considéré comme équivalent à un ensemble de trois caméras de caractéristiques optiques identiques qui sont situées à trois positions (haut, gauche et droite) pour enregistrer l'image en même temps. Les deux vues latérales sont symétriques par rapport à la vue centrale.

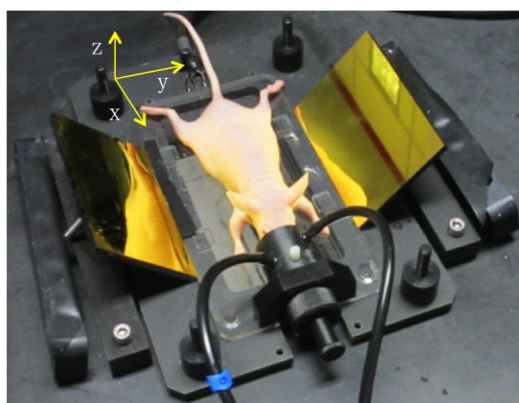


Figure 3: le dispositif expérimental du système fDOT avec la géométrie de miroir

La reconstruction d'image fDOT

En optique, la reconstruction 3D consiste à la détermination de la distribution spatiale d'une propriété optique basée sur un ensemble d'images de détection et les paramètres géométriques qui décrivent la géométrie expérience. Ce processus est l'inverse du processus de détermination de la propagation de la lumière à n'importe quel point à l'intérieur de l'objet (et donc à sa surface) en

prenant en compte la distribution des propriétés optiques et de la géométrie expérimentale. Le premier processus est appelé la résolution du problème inverse et la seconde est appelée la solution du problème direct. De ce qui précède, le problème de la reconstruction optique est un processus en deux étapes. Résoudre le problème inverse nécessite la résolution d'abord le problème direct.

fDOT compte pour la propagation des photons par diffusion dans les tissus afin de résoudre le problème direct et donc de reconstruire les signaux de fluorescence à l'intérieur de milieux opaques. Le problème peut être évalué grâce à des outils théoriques basés sur la théorie de la diffusion.

L'algorithme de reconstruction d'image appliquée dans cette étude a été basé sur le logiciel TOAST en libre accès développé par UCL de Londres. Le problème inverse pour la reconstruction des images fDOT a été résolu en utilisant une approche d'éléments finis.

Mise en œuvre de l'algorithme de reconstruction TOAST

Trois fichiers d'entrée sont nécessaires pour la reconstruction TOAST:

a) Un fichier de maillage contenu la coordonnée des nœuds et l'élément du maillage FEM du sujet, avec aussi la connectivité entre des nœuds. Le logiciel Iso2mesh a été choisi pour convertir l'image CT à mailles FEM. La maille est segmentée par rapport à la zone de balayage de source optique, qui est à son tour sélectionné par rapport à la position de l'organe ciblé.

b) Un fichier de source/détecteur désigné comme le fichier qm, qui présentent les coordonnées de chaque paire source/détecteur;. Lorsque la position de la caméra virtuelle est choisie dans le même niveau que l'objet, l'angle de l' miroir est calculé d'être égale à 49 degrés.

c) Lorsque Matlab a été utilisé pour le traitement des données, les images de fluorescence et les images d'excitation enregistré à la position d'excitation et de source différente sont représentés sous forme de matrices, M_{fluo} et M_{exc} .

Les données ci-dessus ont été intégrées comme données d'entrée dans les fonctions TOAST. Dans cette thèse, les fonctions en TOAST ont été modifiées afin de prendre en compte les acquisitions avec miroirs. Les paramètres de fonction TOAST liés au système d'imagerie ont été modifiés et un paramètre de régularisation liée à la fonction d'erreur pour la reconstruction est défini. Enfin, tous les facteurs ci-dessus ont été ajustés pour optimiser les performances de reconstruction.

Résultat

La reconstruction de TOAST avec la géométrie de miroir a été testé dans

deux cas différents: une expérience de fantôme et une expérience in vivo chez la souris pour la reconstruction de l'image du rein de souris (souris sain). La comparaison de la reconstruction de la géométrie de miroir avec la géométrie conventionnelle a été adressée, pour évaluer l'amélioration sur la résolution en profondeur donnée par la géométrie de miroir.

Semi-cylindrique expérience fantôme

Dans cette expérience, les mesures ont été effectuées sur fantôme qui a une forme semi-cylindrique. Cette géométrie a été choisie car elle simule la forme de la géométrie de la souris. Le fantôme contient deux cavités d'un diamètre de 2 mm et une longueur de 10 mm, où les fluorophores peuvent être insérés dedans. L'objectif de cette expérience est de reconstruire la forme des fluorophores à l'intérieur du fantôme.

Le résultat de la reconstruction de la géométrie de miroir a été comparé avec la reconstruction de la géométrie classique. La comparaison de la reconstruction sont évalués sous deux critères: 1) la position du capillaire reconstruit dans la direction Z comparés à la position réelle; 2) la distribution de signal du capillaire reconstruit.

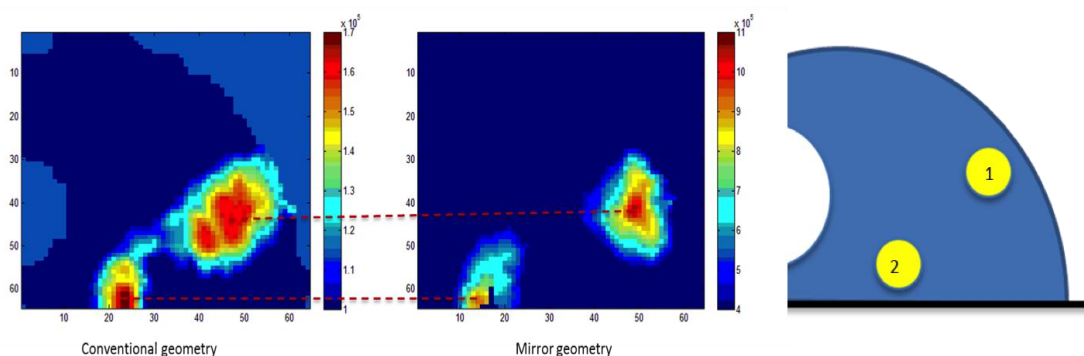


Figure 4: Comparaison du signal reconstruit de la géométrie classique (à gauche) et la géométrie miroir (au milieu), comparé avec le schéma du fantôme (à droite). Images sont affichées en vue axiale

Tous les deux géométries sont capables de reconstituer deux régions distinguées correspondant aux deux cavités (position 1 et la position 2 dans la figure 4). Dans le cas de la géométrie miroir les deux cavités ont des tailles similaires mais les différences sont signalées par rapport à l'intensité du signal reconstruit. Dans le cas de la géométrie classique de la reconstruction de la position 1 est dispersé dans un plus grand espace par rapport à la position 2. Les centres des signaux fluorescents ont été reconstruits à la même position en Z dans les deux géométries. La reconstruction de la géométrie miroir fournit une meilleure résolution pour distinguer deux régions par rapport à la géométrie classique.

In vivo expériences

Expériences ont également été réalisées à des modèles de souris. Les fantômes ont représenté les cas de contrôlés, mais ils n'ont pas simulé entièrement la propriété du tissu réel. Une expérience in vivo a été réalisée pour tester la performance de la géométrie de miroir par rapport à la géométrie classique.

L'expérience in vivo consistait en la reconstruction de signal du rein d'un souris de contrôle. Les images CT du sujet ont été utilisées comme référence pour évaluer la qualité des reconstructions. Le rein a été choisi comme un organe cible car il est situé profondément à l'intérieur du sujet et peut être visualisée en principe avec l'utilisation de CT. La sonde fluorescente utilisée est la sous-unité B de la toxine de Shiga (STxB) couplé à la AlexaFluor680 fluorophore. Une souris 25 gr féminine ont reçu une injection intraveineuse de 150 pi d'une sonde d'une concentration de 1,6 mg / ml. Le STxB accumule dans les reins en raison de sa petite taille et il donne un contraste d'image forte dans la région du rein

Une analyse a été effectuée au niveau du rein gauche. La zone de détection est de 16 x 16 mm². La souris a subi une acquisition fDOT de 10 minutes suivie d'une scan CT de 10 minutes. La reconstruction CT du rein a été considérée comme le gold standard pour l'évaluation des reconstructions fDOT.

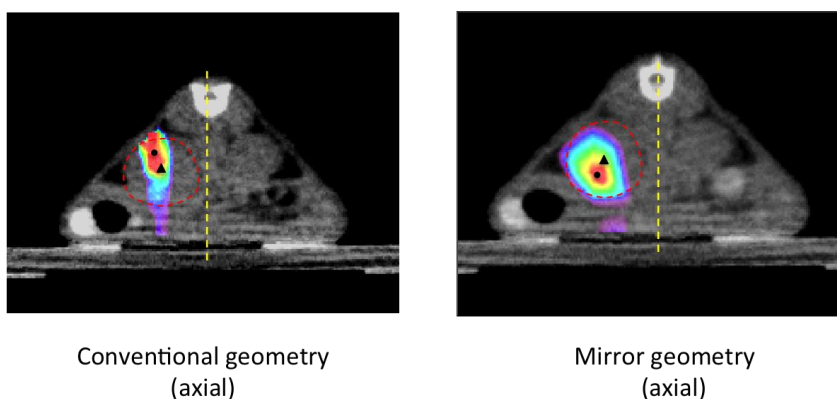


Figure 5: Comparaison de la reconstruction du rein en géométrie classique et la géométrie de miroir. Les images sont fusionnées avec l'image CT et a montré en coupe axiale la reconstruction fDOT en couleur "Rainbow" et avec l'image CT en gris à la position du rein.

Figure 5 montres les reconstructions fDOT des reins fusionnés à l'image CT. Et la reconstruction de la géométrie de miroir a été comparée à celle de la géométrie classique, par rapport à la région du rein donnée par image CT.

Comme il est indiqué dans la figure 5, pour les deux reconstructions, le fort signal est retrouvé à l'intérieur du volume du rein. Dans le cas de la géométrie classique, le signal forme un motif étroit qui se prolonge à partir de la base de la souris jusqu'à la partie supérieure du corps. De plus, le signal le plus fort était situé près de la surface de la souris. Pour la géométrie de miroir, une meilleure

visualisation de la forme du rein a été atteinte. Toutefois, le signal est distribué avec sa plus forte intensité dans le centre et le bruit de signal inférieur a été présenté à l'extérieur du contour du rein. De cette expérience, on observe que la géométrie de miroir a offert une meilleure reconstruction que celle de la géométrie classique en termes de forme de la reconstruction.

En dépit du fait que l'amélioration a été trouvée dans le fantôme et dans le cas in vivo, les performances de la reconstruction avec cette géométrie de miroir étaient très sensibles aux différents paramètres. L'un des principaux paramètres qui influent les performances de reconstruction est le masque d'excitation, qui est utilisé pour filtrer et sélectionner les données d'excitation qui, à son tour ont été utilisés pour la normalisation des données de fluorescence. Ce paramètre dépend de la qualité du signal de l'image brute: quand les images fluorescentes fournir une bonne qualité d'image (fort rapport signal sur bruit), plus de signal sera réservé ainsi un petit seuil de filtrage pour le masque d'excitation est défini; dans le cas contraire, lorsque l'image est beaucoup plus bruité, ce seuil en% est l'augmentation sorte que plus de signal du bruit est éliminé. Lors des essais de la qualité de reconstruction, plusieurs valeurs des masques ont été choisies avant de parvenir à une bonne reconstruction. Idéalement, fDOT reconstruction doit fournir des reconstructions caractérisées par la robustesse en minimisant ainsi l'intervention de l'utilisateur, qui peut s'exprimée par le réglage fin de plusieurs paramètres. Par conséquent futures améliorations comprennent l'automatisation du processus de reconstruction en définissant des règles régissant le choix des paramètres basés sur des valeurs liées à l'intensité du signal ou de la géométrie sujet.