



**HAL**  
open science

**Simulation de l'imagerie en lumière polarisée :  
Application à l'étude de l'architecture des "fibres" du  
myocarde humain**

Paul Audain Desrosiers

► **To cite this version:**

Paul Audain Desrosiers. Simulation de l'imagerie en lumière polarisée: Application à l'étude de l'architecture des "fibres" du myocarde humain. Imagerie médicale. INSA de Lyon, 2014. Français. NNT: 2014ISAL0046 . tel-01165036

**HAL Id: tel-01165036**

**<https://theses.hal.science/tel-01165036>**

Submitted on 18 Jun 2015

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

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

# THÈSE

---

*Présentée devant*

**L'Institut National des Sciences Appliquées de Lyon**

*Pour obtenir*

**LE GRADE DE DOCTEUR**

ECOLE DOCTORALE: ÉLECTRONIQUE, ÉLECTROTECHNIQUE, AUTOMATIQUE  
FORMATION DOCTORALE : SCIENCES DE L'INFORMATION, DES DISPOSITIFS ET  
DES SYSTEMES

*par*

**DESROSIERS Paul Audain**

**Simulation de l'imagerie en lumière polarisée : application à l'étude de l'architecture des  
« fibres » du myocarde humain**

*Soutenue le 21/05/2014*

*Jury :*

<b>Patricia SEGONDS</b>	<b>Professeur, Université de Grenoble</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Su RUAN</b>	<b>Professeur, Université de Rouen</b>	<b>Rapporteur</b>
<b>Pierre CROISILLE</b>	<b>Professeur, Praticien Hospitalier CHU St-Etienne</b>	<b>Examineur</b>
<b>Pierre-Simon JOUK</b>	<b>Professeur, Praticien Hospitalier CHU de Grenoble</b>	<b>Examineur</b>
<b>Yuemin ZHU</b>	<b>Directeur de Recherche CNRS</b>	<b>Directeur de thèse</b>
<b>Yves USSON</b>	<b>Directeur de Recherche CNRS</b>	<b>Co-directeur de thèse</b>



<b>SIGLE</b>	<b>ECOLE DOCTORALE</b>	<b>NOM ET COORDONNEES DU RESPONSABLE</b>
<b>CHIMIE</b>	<u>CHIMIE DE LYON</u> <a href="http://www.edchimie-lyon.fr">http://www.edchimie-lyon.fr</a>  Insa : R. GOURDON	<b>M. Jean Marc LANCELIN</b> Université de Lyon – Collège Doctoral Bât ESCPE 43 bd du 11 novembre 1918 69622 VILLEURBANNE Cedex Tél : 04.72.43 13 95 <a href="mailto:directeur@edchimie-lyon.fr">directeur@edchimie-lyon.fr</a>
<b>E.E.A.</b>	<u>ELECTRONIQUE, ELECTROTECHNIQUE, AUTOMATIQUE</u> <a href="http://edeea.ec-lyon.fr">http://edeea.ec-lyon.fr</a>  Secrétariat : M.C. HAVGOUDOUKIAN eea@ec-lyon.fr	<b>M. Gérard SCORLETTI</b> Ecole Centrale de Lyon 36 avenue Guy de Collongue 69134 ECULLY Tél : 04.72.18 65 55 Fax : 04 78 43 37 17 <a href="mailto:Gerard.scorletti@ec-lyon.fr">Gerard.scorletti@ec-lyon.fr</a>
<b>E2M2</b>	<u>EVOLUTION, ECOSYSTEME, MICROBIOLOGIE, MODELISATION</u> <a href="http://e2m2.universite-lyon.fr">http://e2m2.universite-lyon.fr</a>  Insa : H. CHARLES	<b>Mme Gudrun BORNETTE</b> CNRS UMR 5023 LEHNA Université Claude Bernard Lyon 1 Bât Forel 43 bd du 11 novembre 1918 69622 VILLEURBANNE Cédex Tél : 06.07.53.89.13 <a href="mailto:e2m2@univ-lyon1.fr">e2m2@univ-lyon1.fr</a>
<b>EDISS</b>	<u>INTERDISCIPLINAIRE SCIENCES-SANTE</u> <a href="http://www.ediss-lyon.fr">http://www.ediss-lyon.fr</a>  Sec : Samia VUILLERMOZ Insa : M. LAGARDE	<b>M. Didier REVEL</b> Hôpital Louis Pradel Bâtiment Central 28 Avenue Doyen Lépine 69677 BRON Tél : 04.72.68.49.09 Fax :04 72 68 49 16 <a href="mailto:Didier.revel@creatis.uni-lyon1.fr">Didier.revel@creatis.uni-lyon1.fr</a>
<b>INFOMATHS</b>	<u>INFORMATIQUE ET MATHÉMATIQUES</u> <a href="http://infomaths.univ-lyon1.fr">http://infomaths.univ-lyon1.fr</a>  Sec : Renée EL MELHEM	<b>Mme Sylvie CALABRETTO</b> Université Claude Bernard Lyon 1 INFOMATHS Bâtiment Braconnier 43 bd du 11 novembre 1918 69622 VILLEURBANNE Cedex Tél : 04.72. 44.82.94 Fax 04 72 43 16 87 <a href="mailto:infomaths@univ-lyon1.fr">infomaths@univ-lyon1.fr</a>
<b>Matériaux</b>	<u>MATERIAUX DE LYON</u> <a href="http://ed34.universite-lyon.fr">http://ed34.universite-lyon.fr</a> Secrétariat : M. LABOUNE PM : 71.70 –Fax : 87.12 Bat. Saint Exupéry <a href="mailto:Ed.materiaux@insa-lyon.fr">Ed.materiaux@insa-lyon.fr</a>	<b>M. Jean-Yves BUFFIERE</b> INSA de Lyon MATEIS Bâtiment Saint Exupéry 7 avenue Jean Capelle 69621 VILLEURBANNE Cedex Tél : 04.72.43 83 18 Fax 04 72 43 85 28 <a href="mailto:Jean-yves.buffiere@insa-lyon.fr">Jean-yves.buffiere@insa-lyon.fr</a>
<b>MEGA</b>	<u>MECANIQUE, ENERGETIQUE, GENIE CIVIL, ACOUSTIQUE</u> <a href="http://mega.ec-lyon.fr">http://mega.ec-lyon.fr</a>  Secrétariat : M. LABOUNE PM : 71.70 –Fax : 87.12 Bat. Saint Exupéry <a href="mailto:mega@insa-lyon.fr">mega@insa-lyon.fr</a>	<b>M. Philippe BOISSE</b> INSA de Lyon Laboratoire LAMCOS Bâtiment Jacquard 25 bis avenue Jean Capelle 69621 VILLEURBANNE Cedex Tél : 04.72 .43.71.70 Fax : 04 72 43 72 37 <a href="mailto:Philippe.boisse@insa-lyon.fr">Philippe.boisse@insa-lyon.fr</a>
<b>ScSo</b>	<b>ScSo*</b> <a href="http://recherche.univ-lyon2.fr/scso/">http://recherche.univ-lyon2.fr/scso/</a>  Sec : Viviane POLSINELLI Brigitte DUBOIS Insa : J.Y. TOUSSAINT	<b>M. OBADIA Lionel</b> Université Lyon 2 86 rue Pasteur 69365 LYON Cedex 07 Tél : 04.78.77.23.86 Fax : 04.37.28.04.48 <a href="mailto:Lionel.Obadia@univ-lyon2.fr">Lionel.Obadia@univ-lyon2.fr</a>

\*ScSo : Histoire, Géographie, Aménagement, Urbanisme, Archéologie, Science politique, Sociologie, Anthropologie

# Simulation de l'imagerie en lumière polarisée : application à l'étude de l'architecture des « fibres » du myocarde humain

## Abstract

Most cardiovascular diseases are closely linked to the 3D cardiomyocytes bundles of the human myocardium. Knowing in detail this architecture allows us to overcome a scientific bottleneck on the complex spatial organization of cardiomyocytes, and offers ways to find appropriate solutions to treat these diseases. The goal of present thesis is then to develop methods and techniques that allow gaining insights into the geometric arrangement of cardiomyocytes or cardiomyocytes bundles in the myocardium.

Due to the birefringent nature of myosin filaments that are found in myocardial cells, the Polarized Light Imaging (PLI) appears as the only existing method for studying in detail the architecture and cardiomyocytes bundle orientation in ventricular mass. Myosin filaments react as uniaxial birefringent crystal; thereby it has been modeled as the uniaxial birefringent crystal. The PLI uses the vibration properties of light; the photonic and atomic interaction between light and matter can reveal the structural organization and the 3D cardiomyocytes orientation of the myocardium. The present work is based on modeling the behavior of the light after passing through a cardiomyocytes bundle. Thus, a volume  $100 \times 100 \times 500 \mu\text{m}^3$  has been decomposed in a number of cubic elements which are equivalent to cardiac cells of diameter of 20 microns. The volume was studied under different conditions to emulate the organization of cardiomyocytes in different regions in human myocardium: isotropic region, heterogeneous region, region with cardiomyocytes bundle crossing. The results showed that the behavior of the volume changes according to the spatial arrangement of cardiomyocytes within the volume. Through an analytical model developed using simulation, it has been possible to know the 3D orientation of cardiomyocytes at any region throughout the volume. This model has been implemented in software as a plugin. Then, it has been validated with the pillars of atrio-ventricular valves by comparing the curves obtained by numerical simulation with those obtained in the experimental phases. Moreover, it has been possible to measure the 3D orientation of cardiomyocytes bundles within the pillars. After validation, the model was applied to an entire human healthy heart. Then, we extracted the mapping of the 3D orientations (azimuth angle, elevation angle) of cardiomyocytes bundles, as well as the mapping of the homogeneity levels of the entire myocardium. The developed mathematical tools have validated the measures and empirical methods of Jouk et al.

For a qualitative comparison of the 3D orientation measurements obtained with the PLI and Magnetic Resonance Imaging (MRI), the healthy human heart of a 14 month old child was extracted at autopsy, then fixed in formalin, and finally imaged by MRI and PLI. Despite the low spatial resolution of MRI images, the results showed that the 3D orientations of cardiomyocytes bundles measured from these two imaging methods appeared almost identical.

## Résumé

La plupart des maladies cardio-vasculaires sont étroitement liées à l'architecture 3D des faisceaux de cardiomyocytes du myocarde humain. Connaître en détail cette architecture permet de lever un verrou scientifique sur l'organisation spatiale complexe des faisceaux de cardiomyocytes, et offre des pistes pour trouver des solutions pertinentes permettant de guérir ces maladies. Ainsi, les méthodes et techniques qui sont développées dans cette thèse permettront d'avoir une idée détaillée sur l'organisation spatiale des cardiomyocytes.

A cause de la nature biréfringente des filaments de myosine qui se trouvent dans les cellules cardiomyocyte, l'Imagerie en Lumière Polarisée (ILP) se révèle comme la seule méthode existante permettant d'étudier en détail, l'architecture et l'orientation des faisceaux de cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire. Les filaments de myosine se comportent comme des cristaux uni-axiaux biréfringents, ce qui permet de les modéliser comme les cristaux uni-axiaux biréfringents. L'ILP exploite les propriétés vibratoires de la lumière car l'interaction photonique et atomique entre la lumière et la matière permet de révéler l'organisation structurelle et l'orientation 3D des cardiomyocytes. Le présent travail se base sur la modélisation des différents comportements de la lumière après avoir traversé des faisceaux de cardiomyocytes. Ainsi, un volume  $100 \times 100 \times 500 \mu\text{m}^3$  a été décomposé en plusieurs éléments cubiques qui représentent l'équivalent de l'intersection des cellules de diamètre de  $20 \mu\text{m}$  chacune. Le volume a été étudié dans différentes conditions imitant l'organisation 3D des cardiomyocytes dans différentes régions du myocarde : région isotrope (homogène), région isotrope hétérogène, région de croisement des faisceaux de cardiomyocytes. Les résultats montrent que le comportement du volume change suivant l'arrangement spatial des cardiomyocytes à l'intérieur du volume. Grâce à un modèle analytique développé à l'aide des simulations, il a été possible de connaître en tout point, l'orientation 3D des cardiomyocytes dans tout le volume. Ce modèle a été implémenté dans un greffon logiciel. Puis, il a été validé avec les piliers des valves auriculo-ventriculaire en comparant les courbes obtenues en simulation numérique à celles obtenues dans la phase expérimentale. De plus, il a été possible de mesurer l'orientation 3D des faisceaux de cardiomyocytes à l'intérieur du pilier. Après cette validation, le modèle a été utilisé sur un cœur humain (sain) en entier. Puis, nous avons extrait les cartographies des orientations 3D (angle azimut, angle d'élévation) des cardiomyocytes, ainsi que la cartographie des niveaux d'homogénéité du myocarde en entier. Le développement des outils mathématiques robustes a permis de valider les mesures et les méthodes empiriques de Jouk et al.

Pour une confrontation qualitative des mesures de l'orientation 3D obtenues en ILP avec celles en Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), un cœur humain sain d'un enfant de 14 mois a été prélevé lors de l'autopsie, fixé dans du formol, puis imagé en entier par IRM puis en ILP. Malgré la faible résolution des images en IRM, les résultats obtenus montrent que les mesures de l'orientation 3D des cardiomyocytes issues de ces deux méthodes d'imageries se révèlent quasiment identiques.

## Remerciements

Je tiens à remercier Monsieur Yuemin Zhu (directeur de thèse, directeur de recherche CNRS) pour la confiance qu'il a placée en moi en m'acceptant dans son laboratoire de recherche (CREATIS de INSA Lyon). Je lui suis également reconnaissant pour sa disponibilité, ses discussions instructives sur le sujet de la thèse. Car, ses qualités pédagogiques et scientifiques m'ont permis d'aboutir à ce travail.

Je tiens à remercier Monsieur Yves Usson (co-directeur de thèse, directeur de recherche CNRS) avec qui j'ai passé beaucoup plus de temps, il m'a accueilli pendant ces trois ans dans son laboratoire de recherche (TIMC-IMAG de Grenoble, équipe DyCTiM). Il m'a aussi encadré, guidé, conseillé, encouragé, et était toujours disponible pour des discussions scientifiques sur la thèse. Son expertise, ses qualités pédagogiques et scientifiques m'ont permis d'avancer à grand pas vers la réussite de cette thèse.

Un remerciement spécial à Madame Patricia Segonds (Professeur à l'université Joseph Fourier de Grenoble), et Madame Su Ruan (Professeur à l'université de Rouen) qui m'ont fait l'honneur d'être les rapporteurs de ma thèse.

Je tiens à remercier Monsieur Pierre-Simon Jouk (Professeur à l'université Joseph Fourier de Grenoble) pour son soutien, et ses rayons lumineux qu'il m'a apporté durant ses trois ans sur le sujet de la thèse.

Je tiens à remercier Monsieur Pierre Croisille (Professeur à l'université de St-Etienne) qui m'a apporté son soutien dans les données du myocarde humain en IRM.

Je remercie particulièrement Madame Gabrielle Michalowicz qui m'a apporté son soutien, son expertise dans le domaine de la biologie, dans les échantillons de travail et aussi dans la lecture de la thèse.

Je remercie cordialement Arnold Fertin, Arnaud Chauvière, Marie-Paule MontMasson, Hamel Malika, Paulette Souillard, Angélique Stéphanou, tous les autres collègues de l'équipe DyCTiM, tous ceux du laboratoire CREATIS, tout le personnel de l'INSA de Lyon, et le professeur Mohamed Daoudi de l'équipe FOX-MIIRE de Telecom Lille 1. Je remercie également mes compagnons de cantine, Olivier Pedano, Noureddine Laieb et Rhéda Héus.

Je remercie Laurent Debove IE, laboratoire 3SR, (Domaine Universitaire de Saint Martin d'Hères) et les techniciens de l'atelier de mécanique du laboratoire LiPHY, (Domaine Universitaire de Saint Martin d'Hères) pour l'aide qu'ils nous ont apporté à la conception et la construction du prototype d'analyse d'images en lumière polarisée.

Je voudrais également remercier Guillaume et les techniciens du laboratoire d'anatomie pathologique du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) qui ont préparé les échantillons biologiques.

Je tiens à remercier la Région Rhône Alpes, qui a placé leur confiance en moi, en finançant cette thèse sur les trois ans.

Un remerciement tout particulier à Darline Fréjuste, qui m'a beaucoup soutenue durant cette thèse, ses conseils, et ses encouragements m'ont donné la force d'avancer à grand pas vers la réussite.

Mes sincères remerciements s'adressent également à tous mes amis, Schamma Clerveau, Ronald Désilien, Cesar Roosevelt, Lefruit James Douglass, et toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont aidé à progresser dans mes travaux de thèse.

Un remerciement spécial également à ma mère chérie, mon grand frère, et à ma grande sœur qui m'ont soutenu tout au long de ma thèse. Puis, une énorme pensée pleine d'amour à CELLE qui malheureusement ne lira sans doute jamais cette thèse.

Arrivant au terme de ce travail de thèse, qu'il me soit permis de remercier et d'exprimer toute ma gratitude envers mon Dieu et Son Fils Jésus Christ.

En mémoire de ma grande sœur chérie

Marie Solange DESROSIERS COMPERE (27/07/66-13/01/10)

## Cadre du travail

La complexité de l'architecture du myocarde humain a soulevé beaucoup de questions en cardiologie car les maladies cardio-vasculaires sont étroitement liées à la distribution spatiale des cardiomyocytes au sein du myocarde. La plupart des techniques d'imagerie actuelles ne permet pas d'avoir des résultats satisfaisants à l'exception de l'ILP. Le laboratoire CREATIS à l'INSA de Lyon est spécialisé dans les acquisitions des images IRM, DTI, et Ultra-son. Leurs travaux sont basés sur le développement des algorithmes de suivi des faisceaux de cardiomyocyte au sein du myocarde humain en IRM ou DTI. La technique de l'IRM est basée sur la diffusion des molécules d'eau à l'intérieur de myocarde humain. Cependant, il n'y pas de preuve formelle pour faire la corrélation avec l'orientation des faisceaux de cardiomyocytes à l'intérieur du myocarde humain. Cette technique d'imagerie (IRM) n'a pas été confrontée à une autre technique d'imagerie qui maîtrise directement et parfaitement l'orientation des faisceaux de cardiomyocytes à l'intérieur du myocarde. Le laboratoire TIMC-IMAG de Grenoble (équipe DyCTiM) est spécialisé dans l'utilisation des propriétés vibratoires de la lumière pour extraire des informations de l'orientation 3D des cardiomyocytes au sein du myocarde humain. Cependant, les mesures et les méthodes optiques pour déterminer l'orientation 3D des faisceaux de cardiomyocytes étaient totalement empiriques. De ce fait, un besoin d'outils mathématiques robustes se fait sentir. Dans le but de connaître en détail l'architecture et l'orientation 3D des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire, les deux équipes se réunissaient autour d'un projet CIBLE financé par la région Rhône Alpes sous la forme d'une bourse pour soutenir la présente thèse.

Dans la première partie du projet CIBLE, il a été prévu de développer des outils mathématiques robustes pour extraire les informations tridimensionnelles de l'orientation des cardiomyocytes en chaque région du myocarde humain. Notre travail a été consacré à l'électronique du banc optique, la programmation en C/C++ du banc optique, la qualification des instruments optique, la modélisation numérique d'un volume de myocarde. Puis, nous avons développé un modèle analytique robuste pour exploiter les propriétés vibratoires de la lumière après avoir traversé un faisceau de cardiomyocytes. L'élaboration de ces outils mathématiques robustes pour le traitement des images nous a permis d'explorer chaque région du myocarde et l'orientation 3D des cardiomyocytes. Le modèle analytique développé a été validé sur les piliers des valves auriculo-ventriculaire.

Dans la second partie du projet, il a été aussi prévu de donner une validation qualitative des mesures faites en IRM par celle d'ILP. Cette validation passe par une confrontation qualitative de ces deux méthodes d'imagerie. Ainsi, un cœur humain sain a été imagé en IRM puis en ILP. Pour finir, nous avons réalisé une confrontation qualitative des mesures de l'orientation 3D des cardiomyocytes issues des deux techniques d'imagerie (IRM, ILP).

## Liste des symboles

$\alpha$  : Angle de rotation du couple polariseur et analyseur croisés

$\alpha_1$  : Angle de rotation du polariseur

$\alpha_2$  : Angle de rotation de l'analyseur

$\beta$  : Angle de rotation des lames quart d'onde, et polariseur circulaire

$\varphi$  : Retard de phase

$\varphi_x$  : Déphase de l'onde en  $x$

$\varphi_y$  : Déphasage de l'onde en  $y$

$\theta$  : Angle d'azimut

$\Phi$  : Angle d'élévation

$\varepsilon$ : Ellipticité

$\varepsilon_1$ : Epsilon, valeur très proche de zéro

$\epsilon$  : Excentricité

$a$  : Grand axe de l'ellipse

$b$  : Petit axe de l'ellipse

$e$  : Epaisseur

$n$ : Indice de réfraction de la lumière

$n_o$  : Indice de réfraction du rayon ordinaire

$n_e$  : Indice de réfraction du rayon extraordinaire

$J$  : Vecteur de stokes

$\gamma$  : Rapport gyromagnétique.

$j$  : Moment cinétique

$H$  : Horizontale

$V$  : Verticale

$CD$  : Circulaire droite

$CG$  : Circulaire gauche

$\langle \ \rangle$  : Moyenne temporelle

$I$  : intensité de la lumière

$I_o$  : Intensité initial de la lumière

$T_{max}$  : Transmission maximum

$T_{min}$  : Transmission minimum

$t$  : Temps de parcours de l'onde en seconde

$v$  : vitesse de la lumière

$G_{max}$  : Niveau de gris maximum

$G_{min}$  : Niveau de gris minimum

$\Delta_n$  : Biréfringence d'un matériau optique uni-axial

$T$  : Taux de transmission

$K$  : Vecteur d'onde

$\lambda$  : Longueur d'onde de la lumière

$\delta$  : Facteur correcteur

$\delta_n$  : Différence de marche du faisceau lumineux

$\omega$  : Pulsation

*LQD* : Lame quart d'onde

*P* : Polarisation

*LP* : Lumière polarisée

*PolCD\_CG* : Polarisation droite ou gauche

## Résumé des chapitres

### Chapitre 1 : Anatomie du cœur humain

Ce chapitre décrit de façon sommaire les notions de l'anatomie et la physiologie du cœur humain. Il décrit également la complexité du myocarde humain, ainsi que la problématique sur l'orientation 3D des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire.

### Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

Définition des différentes méthodes d'imagerie (IRM : Imagerie par Résonance Magnétique, ILP : Imagerie en Lumière Polarisée) utilisées pour l'exploitation du myocarde humain. Ce chapitre décrit le protocole de préparation des échantillons biologiques pour l'exploitation de la biréfringence du myocarde humain en ILP, et présente également les méthodes et logiciels qui seront utilisés pour mener à bien cette étude.

### Chapitre 3 : Méthodes Optiques

Dans ce chapitre, nous présenterons les méthodes optiques qui seront utilisées pour exploiter la nature vibratoire de la lumière, ainsi que ces différents états de polarisation. Nous décrirons les vecteurs de Stokes, les formalismes de Jones, de Mueller, et la sphère de Poincaré. Cependant, nous focaliserons sur la matrice de Mueller ainsi que le vecteur de Stokes pour la mesure de l'intensité de la lumière polarisée. La robustesse de la matrice de Mueller nous permettra de mesurer en chaque région du myocarde humain l'orientation 3D des cardiomyocytes ainsi que leur niveau d'homogénéité.

### Chapitre 4 : Banc Optique

Avant de commencer dans la simulation décrit dans le chapitre 5, il est nécessaire de faire une description détaillée du banc optique que nous allons utiliser pour exploiter la nature biréfringente du myocarde humain. Puis, nous réaliserons la qualification des éléments du banc optique. Ainsi, toutes nos mesures seront faites avec les équipements ainsi qualifiés.

### Chapitre 5 : Simulations numériques

Après la qualification des éléments optique décrit dans le chapitre 6. Nous allons utiliser la matrice de Mueller pour représenter chaque élément du banc optique. Grâce à la matrice de Mueller, la combinaison de ces éléments optique montée en cascade sera simulée sous GNU/Octave. Ce chapitre va nous permettre d'étudier, d'analyser, et modéliser le comportement d'un volume simulé de

myocarde de  $100 \times 100 \times 500 \mu\text{m}^3$  entre polariseur et analyseur croisés. Ce volume de  $100 \times 100 \times 500 \mu\text{m}^3$  sera décomposé en plusieurs éléments cubiques qui représentent l'équivalent de l'intersection des cellules de diamètre de  $20 \mu\text{m}$  chacune. Il sera étudié dans différentes conditions imitant l'organisation des faisceaux de cardiomyocytes dans différentes régions du myocarde : région isotrope, région isotrope hétérogène, région de croisement des faisceaux.

La mesure des angles d'azimut sera découplée de celle des angles d'élévation du volume. Avec la simulation, il sera aussi possible de connaître : l'orientation des angles azimut ( $\theta$ ) et des angles élévation ( $\Phi$ ), l'intensité ( $B$ ) de la lumière polarisée transmise à travers chaque voxel, et le niveau d'homogénéité ( $A$ ) du volume simulé. Puis, un modèle analytique sera ainsi présenté. Par un ajustement des moindres carrés non linéaire, il sera possible d'ajuster le modèle avec les courbes qui seront définies dans ce chapitre. Puis, nous présenterons les méthodes d'extraction des paramètres ( $A, B, \theta$ ) du modèle, ainsi que les techniques utilisées pour extraire l'angle d'élévation du volume. Les paramètres ( $A, B, \theta$ ) seront obtenus en ajustant le modèle défini avec les équations qui seront décrites plus tard. Puis, le modèle analytique sera implémenté dans un greffon logiciel pour extraction pixel par pixel les paramètres ( $A, B, \theta$ ) dans les acquisitions d'image en lumière polarisée.

## Chapitre 6 : Expérimentations

Ce chapitre présente la validation du modèle analytique proposée dans le chapitre 5. Pour valider le modèle, nous choisirons les piliers des valves auriculo-ventriculaire en raison de leur haut niveau d'homogénéité. Puis, une pile d'images sera capturée entre polariseur et analyseur croisé et traité sur ImageJ. Cette pile d'image nous permettra de tracer le profil d'intensité de la lumière polarisée transmise à travers le pilier, puis mesurer l'angle d'azimut du pilier. Les courbes obtenues seront comparées avec celles de la simulation numérique dans les mêmes conditions optiques. Ensuite, nous allons extraire les cartographies de l'orientation des angles d'azimut, des angles d'élévation, et le niveau d'homogénéité des cardiomyocytes dans les piliers. Ainsi, nous pouvons valider les simulations numériques, et les modèles qui seront développés.

## Chapitre 7 : Etude du cœur en entier

Dans ce chapitre, nous mettrons en œuvre les outils déjà développés dans le chapitre 6 pour l'exploitation de l'orientation 3D des cardiomyocytes dans toute la masse ventriculaire. Ainsi, un cœur fœtal sain de 33 semaines d'aménorrhée sera analysé entre polariseur et analyseur croisés. Dans ce chapitre nous décrirons:

- a) la distribution de l'angle d'élévation dans la masse ventriculaire par des cartographies
- b) la distribution de l'angle d'azimut dans la masse ventriculaire par des cartographies

c) le niveau d'homogénéité du myocarde pixel par pixel par des cartographies

Ces cartographies nous permettront de connaître en détail l'architecture et le comportement des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire.

### **Chapitre 8 : Confrontation IRM vs ILP**

Ce chapitre propose une confrontation qualitative des mesures de l'orientation 3D (angle azimut, angle d'élévation) des cardiomyocytes obtenues en IRM, avec celles en ILP. Pour la réalisation de cette confrontation, nous utiliserons un cœur sain autopsie d'un enfant de 14 mois décédé de façon inexplicée. Le cœur sera imagé en IRM puis en ILP selon le protocole décrit dans le chapitre 2. On tiendra compte de la définition des angles d'azimut et celle des angles d'élévation sur la demi-sphère. A cause de la limitation du banc optique pour la définition des angles d'élévation sur la demi-sphère, nous proposerons une méthode algébrique qui permettra de résoudre ce problème. On s'assurera que les deux cartographies (IRM, ILP) seront définies dans le même référentiel.

### **Chapitre 9 : Perspective et Conclusion.**

Dans ce chapitre, nous ferons une synthèse de tout ce qui a été présenté dans les chapitres précédent, puis nous présenterons les perspectives ainsi que la conclusion générale.

<b>Table des matières</b>	
<b>Folio Administrative</b> .....	I
<b>Abstract</b> .....	II
<b>Résumé</b> .....	III
<b>Remerciements</b> .....	IV
<b>Cadre du travail</b> .....	VI
<b>Liste des symboles</b> .....	VII
<b>Résumé des chapitres</b> .....	X
Chapitre 1 : Anatomie du cœur humain.....	X
Chapitre 2 : Matériels et Méthodes.....	X
Chapitre 3 : Méthodes Optiques.....	X
Chapitre 4 : Banc Optique.....	X
Chapitre 5 : Simulations numériques.....	X
Chapitre 6 : Expérimentations.....	XI
Chapitre 7 : Etude du cœur en entier.....	XI
Chapitre 8 : Confrontation IRM vs ILP.....	XII
Chapitre 9 : Perspective et Conclusion.....	XII
<b>Chapitre 1</b> .....	1
<b>1.1 Introduction</b> .....	2
<b>1.2 Généralités</b> .....	2
<b>1.3 Fonctionnement du cœur humain</b> .....	4
1.3.1 Activité électrique du cœur.....	5
1.3.2 Les artères cardiaques.....	7
1.3.3 Les oreillettes ou atria.....	7
1.3.4 Les valves cardiaques.....	8
1.3.5 Les ventricules.....	8
1.3.6 Le septum inter-ventriculaire.....	9
1.3.7 Apex.....	10
<b>1.4 Problématique du myocarde humain</b> .....	11
<b>Chapitre 2</b> .....	15
<b>2.1 Méthodes d'imageries du cœur</b> .....	16
2.1.1 Méthode invasive.....	16
2.1.2 Méthode non invasive.....	16
2.1.3 IRM (méthode non invasive).....	16
2.1.4 Lumière polarisée (méthode invasive).....	17

---

<b>2.2</b>	<b>Préparation inclusions Méthyl Méthacrylate (MMA) cœur et Piliers</b> .....	17
2.2.1	Préparation du cœur entier.....	18
2.2.2	Préparation des piliers .....	20
<b>2.3</b>	<b>Banc optique</b> .....	21
<b>2.4</b>	<b>Logiciels</b> .....	22
2.4.1	Simulation .....	22
2.4.2	Acquisition d'images.....	22
<b>Chapitre 3</b>	.....	24
<b>3.1</b>	<b>Principes optiques</b> .....	25
3.1.1	Lumière polarisée .....	25
3.1.2	Biréfringence .....	29
3.1.3	Axe optique .....	31
3.1.4	Polariseurs .....	31
<b>3.2</b>	<b>Formalisme</b> .....	33
3.2.1	Paramètre de Stokes .....	33
3.2.2	Formalisme de Jones .....	38
3.2.3	Sphère de Poincaré .....	40
3.2.4	Formalisme de Mueller.....	41
3.2.5	Faisabilité physique de la matrice de Mueller .....	42
3.2.6	Composant optique de polarisation .....	43
3.2.7	Dichroïsme : .....	43
3.2.8	Polarisance.....	46
3.2.9	Déphaseur.....	47
3.2.10	Milieu dépolarisant et non-dépolarisant .....	49
3.2.11	Décomposition de la Matrice de Mueller .....	50
<b>Chapitre 4</b>	.....	55
<b>4.1</b>	<b>Constitution du banc optique</b> .....	56
4.1.1	Description .....	56
4.1.2	Montage.....	56
<b>4.2</b>	<b>Qualification</b> .....	58
4.2.1	Source lumineuse.....	58
4.2.2	Polariseur/Analyseur linéaire .....	61
4.2.3	Rotation des moteurs .....	63
4.2.4	Lames quart d'onde .....	65
4.2.5	Caméras d'acquisitions.....	69

<b>Chapitre 5</b> .....	73
<b>5.1 Objet uni-axial biréfringent entre le couple polariseur et analyseur croisés</b> .....	74
<b>5.2 Méthode analytique</b> .....	77
<b>5.3 Introduction d'un volume de <math>100 \times 100 \times 500 \mu\text{m}^3</math></b> .....	80
5.3.1 Volume homogène : cardiomyocytes parallèles .....	80
5.3.2 Variation de l'angle d'azimut du volume de 0 à 90 degrés entre le couple polariseurs et analyseurs croisés. ....	80
5.3.3 Découplage de la mesure de l'angle d'azimut de celle de l'angle d'élévation dans le banc optique .....	84
5.3.4 Mesure entre polariseurs linéaires et lames quart d'onde, mesure de l'azimut à élévation constante.....	85
5.3.5 Mesure entre polariseurs linéaires et lames quart d'onde, mesure de l'angle d'élévation à azimut constant. ....	87
5.3.6 Simulation d'un volume hétérogène : Angle solide de dispersion .....	88
5.3.7 Simulation d'un volume hétérogène : croisement de deux populations de cardiomyocytes.....	93
<b>5.4 Présentation d'un modèle analytique pour extraire l'orientation des cardiomyocytes en lumière polarisée</b> .....	100
5.4.1 Ajustement du modèle avec le volume homogène simulé.....	100
5.4.2 Ajustement du modèle avec le volume non homogène simulé.....	101
5.4.3 Extraction des paramètres du modèle ( $A, B, \theta$ ).....	102
<b>Chapitre 6</b> .....	107
<b>6.1 Validation du modèle mathématique par une étude des muscles papillaires des valves auriculo-ventriculaires</b> .....	108
6.1.1 Etude de l'orientation des cardiomyocytes dans chaque voxel .....	108
6.1.2 Variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise dans un voxel pour un azimut de 0 degré .....	108
6.1.3 Intensité de la lumière polarisée transmise dans le pilier orienté à un angle d'azimut de 45 degrés par rapport au polariseur .....	110
6.1.4 Extension de l'angle d'azimut du pilier jusqu'à 180 degrés.....	113
6.1.5 Analyse de la différence de chemin optique dans les piliers des valves auriculo-ventriculaires .....	115
6.1.6 Cartographies des piliers .....	117
<b>6.2 Croisement des cardiomyocytes par superposition de deux piliers</b> .....	120
<b>Chapitre 7</b> .....	127
<b>7.1 Etude d'un cœur en entier</b> .....	128
<b>7.2 Cartographie de l'orientation du myocarde humain</b> .....	132

7.2.1	Extraction de la cartographie du niveau d'homogénéité du myocarde humain : paramètre ( $A$ ).....	132
7.2.2	Cartographie de l'angle d'élévation : paramètre ( $\Phi$ ).....	135
7.2.3	Cartographie de l'angle d'azimut : paramètre ( $\theta$ ).....	138
<b>7.3</b>	<b>Discussion</b> .....	<b>140</b>
<b>Chapitre 8</b> .....		<b>142</b>
<b>8.1</b>	<b>Principe de l'Imagerie par Résonance Magnétique</b> .....	<b>143</b>
<b>8.2</b>	<b>Comparaison des cartographies du cœur</b> .....	<b>143</b>
<b>8.3</b>	<b>Cartographie IRM vs ILP</b> .....	<b>143</b>
<b>8.4</b>	<b>Discussion</b> .....	<b>155</b>
<b>Chapitre 9</b> .....		<b>158</b>
<b>9.1</b>	<b>Synthèse</b> .....	<b>159</b>
<b>9.2</b>	<b>Perspectives</b> .....	<b>161</b>
9.2.1	Extension de l'angle d'élévation du volume de -90 à 90 degrés.....	161
9.2.2	Méthode pour obtenir de la matrice de Muller d'un échantillon de cœur.....	161
9.2.3	Conclusion générale.....	167
<b>Annexe</b> .....		<b>168</b>
	<b>Expression analytique du calcul de l'angle d'élévation dans le volume</b> .....	<b>174</b>
	<b>Calcul approché de l'intensité de la lumière polarisée transmise <math>I\Phi</math></b> .....	<b>174</b>
<b>Journal</b> .....		<b>181</b>
<b>Conférence</b> .....		<b>181</b>
<b>Bibliographies</b> .....		<b>182</b>

# *Première partie*

---

# Chapitre 1

## Anatomie du cœur humain

---

<b>Chapitre 1</b> .....	1
<b>1.1 Introduction</b> .....	2
<b>1.2 Généralités</b> .....	2
<b>1.3 Fonctionnement du cœur humain</b> .....	4
1.3.1 Activité électrique du cœur .....	5
1.3.2 Les artères cardiaques .....	7
1.3.3 Les oreillettes ou atria .....	7
1.3.4 Les valves cardiaques.....	8
1.3.5 Les ventricules.....	9
1.3.6 Le septum inter-ventriculaire .....	9
1.3.7 Apex .....	10
<b>1.4 Problématique du myocarde humain</b> .....	11

## 1.1 Introduction

## 1.2 Généralités

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les maladies cardiovasculaires sont la première cause de mortalité dans le monde. D'ici 2030, près de 23 millions de personnes mourront d'une maladie cardio-vasculaire. Parmi les maladies cardiovasculaires existant, on peut citer : les cardiopathies coronariennes, les malformations congénitales, infarctus, etc...

Pour comprendre et analyser le développement des maladies cardio-vasculaire au sein du myocarde humain, il est nécessaire de connaître l'architecture du myocarde humain, c'est-à-dire l'orientation 3D des cardiomyocytes et des faisceaux de cardiomyocytes (souvent qualifiés de fibre par abus de langage) en chaque région au sein de la masse ventriculaire.

Le myocarde humain est un muscle très complexe. Sa complexité ne permet pas d'utiliser n'importe quelles techniques d'imagerie pour étudier sa structure.

Selon Jouk et al. les filaments de myosine (protéine qui joue un rôle primordial dans les contractions musculaire du cœur) qui se trouvent dans les tissus myocardique possèdent une biréfringence cristalline et se comportent comme des cristaux uni-axiaux biréfringents. Elles ont les mêmes caractéristiques physico-chimiques avec les cristaux uni-axiaux biréfringents. A cause de la nature biréfringente de la myosine, la technique d'imagerie la plus pertinente permettant de révéler la structure détaillée du myocarde humain est la lumière polarisée.

Depuis des siècles, les minéralogistes et les géologues utilisent les propriétés vibratoires de la lumière polarisée (lumière polarisée) pour caractériser, analyser, et étudier les propriétés physico-chimiques de certains cristaux biréfringents. La nature biréfringente de ces cristaux ouvre une nouvelle ère très prometteuse dans le monde de la physique. Un simple coup de marteau sur les cristaux permet de les fractionner en plusieurs petits morceaux de cristaux, qui par la suite sont analysés optiquement grâce à leur nature biréfringente. Les compositions atomiques et l'arrangement spatial des atomes des cristaux, ont permis de les différencier les unes des autres, puisque dans ces cristaux la lumière se propage beaucoup plus vite que d'autres. La plupart de ces cristaux sont utilisés dans la fabrication des polariseurs, des équipements optiques, ou d'autre d'application beaucoup plus complexe.

Parallèlement, dans le domaine médical, les biologistes utilisent des agents de contraste pour détecter la présence d'une pathologie ou des protéines dans un tissu biologique ou d'autres choses. Néanmoins, l'exploitation de ces agents de contrastes dépend totalement de la technique de l'imagerie utilisée (rayon X, IRM, DTI etc...) c'est l'un des points faibles de ces modes d'imageries.

L'imagerie de la lumière polarisée permet d'exploiter la nature biréfringente des cristaux ou les tissus biologiques qui ont les mêmes caractéristiques que ces cristaux. En ce sens, plusieurs auteurs ont utilisé cette technique d'imagerie pour étudier les tissus biologiques tels que : (Bickel WS, 1976), (Peter Whittaker, 1989), (Steven L. Jacques, 2000), (Hubertus Axer, 2001), (Luiza Larsen, 2007), (Pierre-Simon Jouk, 2007), (Jarno Rieppo, 2008), (Wood M. F., 2010), (Jürgen Dammers M. A., 2010), (Markus Axer, 2011), (Jürgen Dammers L. B., 2012).

Dans ce manuscrit, nous présenterons des outils mathématiques très robustes qui nous permettront de connaître en chaque point du myocarde, l'orientation 3D des cardiomyocytes. Les résultats qui seront présentés dans ce manuscrit, permettront aux médecins, au chercheurs d'avoir une idée globale et détaillée sur l'orientation des cardiomyocytes et de trouver une solution adéquate pour combattre les maladies cardiovasculaire, car la plupart de ces maladies sont étroitement liées à l'architecture des cardiomyocytes dans le myocarde humain.

Avant de présenter notre modèle mathématique pour l'exploitation du myocarde humain en entier en lumière polarisée, il est nécessaire de faire une description sommaire du fonctionnement du cœur humain adulte. Cependant, pour une meilleure estimation de l'orientation des cardiomyocytes au cours de leur développement, les cartographies d'un cœur fœtal et d'un cœur post-natal seront présentés et étudiés dans le chapitres 2, 6, 7, 8.

### 1.3 Fonctionnement du cœur humain

Le cœur humain est un organe creux et musculaire (le muscle du cœur s'appelle myocarde, du grec myo : muscle ; et carde : cœur) qui mesure environ 14 à 16 cm de long. Son diamètre varie de 12 à 14 cm. Le cœur se contracte suivant un rythme régulier durant toute une vie. Pour un adulte sain, le poids du cœur varie entre 250 et 425 grammes. Le cœur est situé dans la région de la cage thoracique entre les deux poumons, 2/3 à gauche et 1/3 à droite de la ligne médiane. Il est composé de quatre cavités, deux cavités supérieures (oreillette droite et gauche) et deux cavités inférieures (ventricule droit et gauche). Son rôle principal est de pomper le sang dans les poumons et dans tout l'organisme. Le sang riche en oxygène est distribué dans tout le corps humain à travers les artères, tandis que le sang pauvre en oxygène est dirigé vers les poumons pour être filtré par ce dernier. Après le filtrage, le sang devient riche en oxygène et se dirige vers la partie gauche du cœur. Ce mouvement s'effectue à l'infini, sauf dans le cas d'une pathologie affectant cette partie. Le cœur fonctionne comme une vraie pompe et obéit aux lois de la mécanique. Le cœur bat environ 60 à 120 fois par minute, et pompe environ 5 litres de sang par minute soit 8000 litres de sang par jour qui est l'équivalent moyen de 100000 battements cardiaques. Pour un adulte âgé de 70 ans, le cœur a pompé environ 204,5 millions litres de sang équivalent à 2,55 milliards de battements. Le cœur humain est considéré comme la meilleure pompe autonome que l'humanité n'ait connue. Son fonctionnement dépend de deux phases qui sont :

- a) une phase électrique commandée par le nœud sinusal (Westbury, 1971)
- b) une phase mécanique qui dépend des oreillettes et des ventricules (Ohayon, 2001), (Mourad, 2003).

Pour mieux comprendre le fonctionnement du cœur, il est nécessaire de faire une description sommaire des différentes parties du cœur, ainsi que leur fonctionnement. Les différentes parties du cœur sont :

- a) le nœud sinusal ou Keith et Flack
- b) les artères coronaires et cardiaques
- c) les oreillettes
- d) les valves cardiaques
- e) les ventricules
- f) le septum inter-ventriculaire (cloison séparant les deux ventricules)
- g) apex (pointe du cœur).

Le mouvement du cœur dépend d'un groupe de cellules spécialisées appelé le nœud sinusal ou Keith et Flack qui contrôle l'activité électrique.

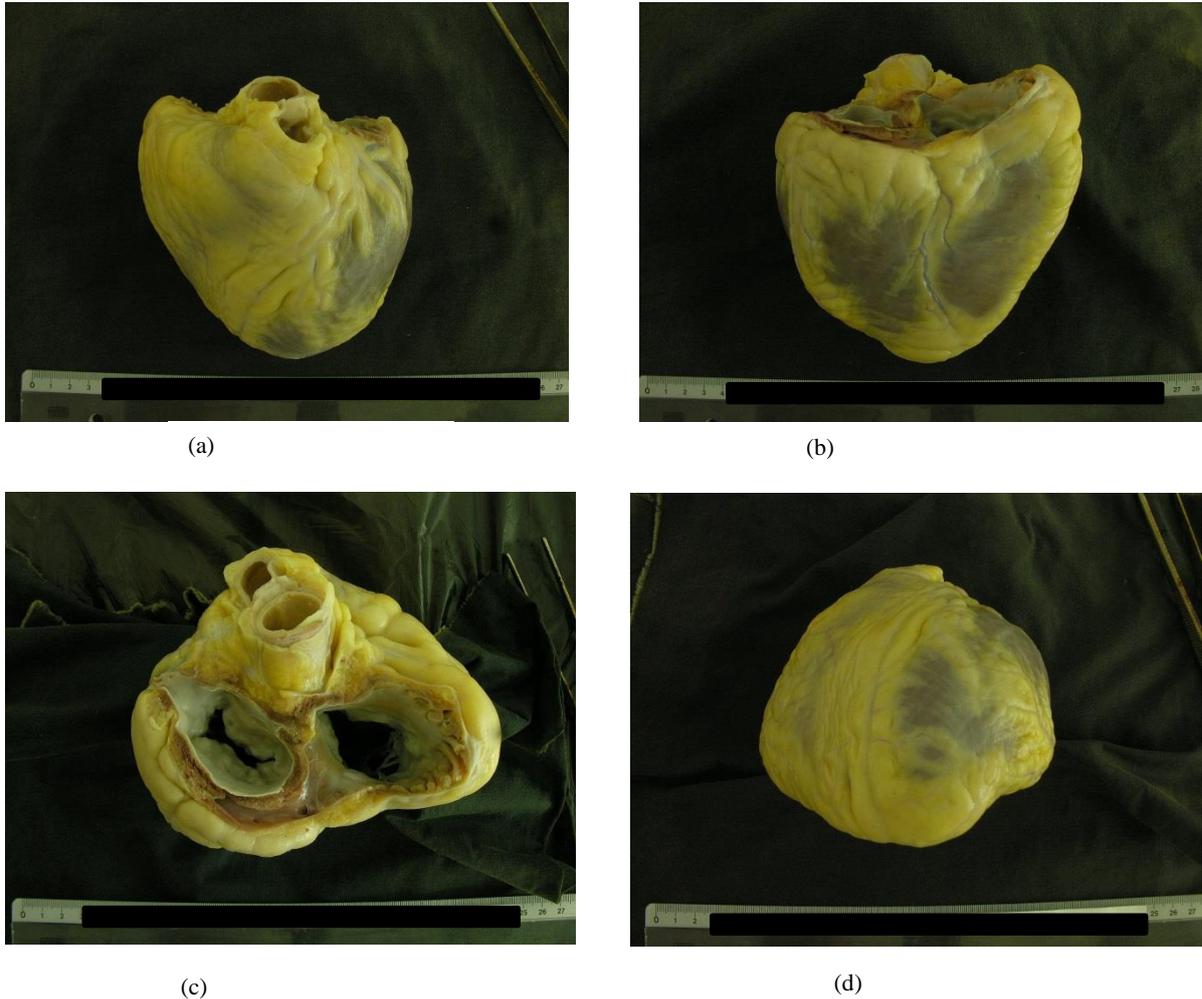


Figure 1-1: Présentation d'un massif ventriculaire de cœur humain adulte. Poids 425 grammes. (a) face postérieure du cœur ; (b) face antérieure du cœur ; (c) base du cœur avec la présence des valves auriculo-ventriculaires ; (d) Apex ou pointe du cœur.

### 1.3.1 Activité électrique du cœur

Le nœud sinusal ou de Keith et Flack (1907) est un groupe de cellules péricardiques de 15 mm de long et 5 mm de large situé sur la paroi supérieure de l'oreillette droite, et forme le système électrique du cœur souvent appelé cardio-necteur. Ce groupe de cellules est aussi responsable de l'automatisme cardiaque. Dans un cœur sain, l'impulsion électrique qui enclenche le battement du muscle cardiaque dépend de ce groupe de cellules qui est souvent appelé le régulateur du rythme cardiaque. Ainsi, le signal électrique généré par ce groupe de cellules suit un trajet nerveux spécifique dans le cœur, figure 1-2.

Selon le besoin de l'organisme, le nœud sinusal génère un certain nombre de signaux électriques qui font pomper le cœur à un rythme bien précis (de 60 à 120 battements par minutes) afin que tous les tissus de l'organisme reçoivent le sang riche en oxygène. Par exemple, lors d'une course à pied, le rythme cardiaque augmente car les cellules du corps réclament beaucoup plus d'oxygène pour augmenter leur niveau d'énergie, donc le nœud sinusal est obligé de générer un plus grand nombre de signaux pour répondre au besoin de l'organisme. Le fonctionnement du nœud sinusal est similaire au rôle que jouent les bougies d'allumage d'un moteur d'une voiture à essence. Au repos, l'intérieur de ce groupe de cellules est chargé négativement, tandis que leur surface est chargée positivement. C'est la polarisation de la cellule. Cependant, lorsque la cellule est stimulée, les ions ( $\text{Na}^+$ ) de sodium traversent la membrane cellulaire vers sa surface externe, la membrane est alors chargée négativement à l'extérieur et positivement à l'intérieur. C'est la dépolarisation. Les signaux de dépolarisation (potentiel d'action) ont une fréquence de 60 à 120 Hertz par minute. Au repos, la composition en  $\text{K}^+$  dans les cellules est trente fois supérieure à celle en  $\text{Na}^+$  et le potentiel d'action est environ de -80 à -90 mV.

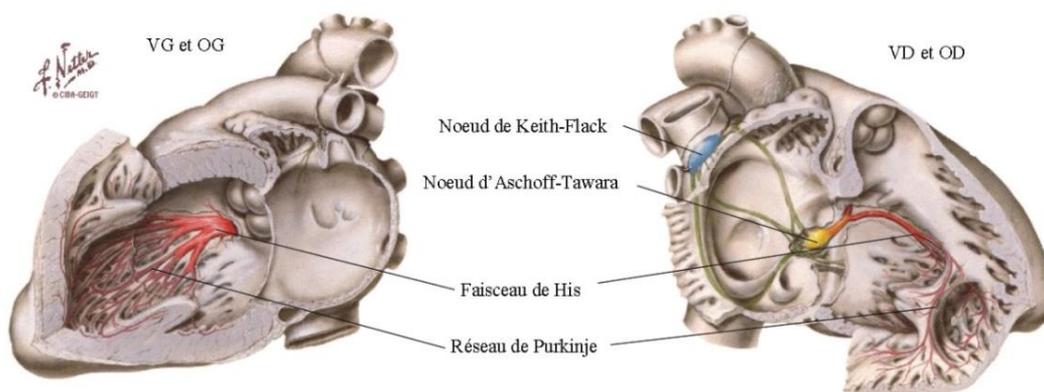


Figure 1-2 : Le système cardio-necteur d'après (Netter, 1969), (Petit-Jean, 2003).

L'impulsion électrique générée par le nœud sinusal se propage de cellule en cellule, de l'oreillette droite vers l'oreillette gauche avec une vitesse de conduction moyenne de  $1 \text{ m.s}^{-1}$ . Ainsi, l'onde électrique se propage très rapidement dans les deux oreillettes comme des vaguelettes créées par une pierre lancée à la surface de l'eau, et les deux oreillettes se contractent simultanément pour éjecter le sang. Ces signaux électriques continuent de se propager jusqu'à atteindre le faisceau de His qui est formé de cellules appelées pacemaker, figure 1-2. Ces dernières sont de même type que le groupe de cellules du nœud sinusal, mais battantes à une vitesse inférieure (40 à 50 battements par minutes) par rapport au nœud sinusal. De ce fait, la conduction à travers ces cellules est environ de  $0,5 \text{ m.s}^{-1}$  (Mourad, 2003) ce qui laisse le temps aux oreillettes de se contracter pour pomper le sang dans les ventricules avant que le potentiel d'action arrive aux ventricules pour déclencher leur contraction. Le

signal de contraction se propage jusqu'à l'extrémité des deux ventricules grâce au faisceau de His et au faisceau de Purkinje qui ressemble à des branches d'arbres qui entourent l'intérieur des ventricules, et qui enclenchent la contraction de ces derniers.

Le système de conduction est un vrai stimulateur cardiaque ; il maintient le rythme cardiaque entre 60 et 120 battements par minute.

Parallèlement, les artères cardiaques sont des tuyaux qui apportent le sang dans les oreillettes grâce à la pulsion électrique générée par le nœud sinusal.

### **1.3.2 Les artères cardiaques**

L'artère aorte est la principale artère de l'organisme et aussi la plus grosse. Elle part à la base de l'oreillette gauche pour terminer dans la partie inférieure de l'abdomen. Son rôle est de distribuer le sang riche en oxygène à l'ensemble de l'organisme, sauf à la circulation fonctionnelle du poumon. L'artère pulmonaire exporte le sang pauvre en oxygène vers les poumons pour être filtrée. Après le filtrage, ce sang devenu riche en oxygène est injecté dans l'oreillette gauche.

Les artères coronaires entourent la surface externe du cœur. Leur rôle est de vasculariser le muscle cardiaque, par conséquent de le nourrir. Ainsi, le sang provenant des artères est aspiré par les oreillettes ou atria.

### **1.3.3 Les oreillettes ou atria**

Les oreillettes ou atria sont deux cavités postérieures du cœur qui apportent le sang dans les cavités antérieures du cœur ou ventricules. Elles se contractent simultanément grâce aux signaux électriques provenant du nœud sinusal pour injecter le sang dans les ventricules. L'oreillette droite est souvent considérée comme le lieu de réglage de la fréquence cardiaque. De plus, elle reçoit le sang en haut à partir de la veine cave supérieure, et en bas par la veine cave inférieure. Son rôle est de recevoir le sang pauvre en oxygène pour l'injecter dans le ventricule droit à travers la valve tricuspide, tandis que l'oreillette gauche reçoit le sang riche en oxygène provenant des poumons à travers les veines pulmonaires, et propulse ce sang dans le ventricule gauche à une vitesse considérable (circulation à grande vitesse) à travers la valve mitrale.

Le sang est propulsé dans les ventricules et dans le reste de l'organisme à travers des portes automatiques, contrôlées par la pression en amont et en aval des chambres cardiaques, ces portes sont connues sous le nom de valves cardiaques.

### 1.3.4 Les valves cardiaques

Les valves cardiaques ont pour rôle de laisser passer le sang dans une direction bien précise. Elles empêchent le sang de refluer dans de mauvaises directions, c'est-à-dire de retourner dans les oreillettes (valve auriculo ventriculaire) ou dans les ventricules (valves pulmonaire, aortique). Ces valves cardiaques sont au nombre de quatre, qui sont :

- a) valve tricuspide
- b) valve mitrale
- c) valve aortique
- d) valve sigmoïde.

Les valves tricuspide et mitrale sont appelées valves auriculo-ventriculaires. Elles sont situées entre les oreillettes et les ventricules. Leur rôle est de laisser passer le sang provenant des oreillettes dans les deux ventricules, et après elles empêchent le sang de refluer dans ces derniers. Ces deux valves fonctionnent simultanément; elles s'ouvrent et ferment dans le même sens, dit sens « antérograde ». Cependant, si la pression en amont de la valve est beaucoup plus élevée que la pression en aval, les valves s'ouvrent et laisse passer le sang des oreillettes vers les ventricules. A l'inverse, si la pression en aval dépasse celle en amont, la valve se ferme hermétiquement. Après chaque expulsion de sang des oreillettes dans les ventricules, les valves se ferment. La circulation du sang se fait dans un seul sens, c'est à dire, des oreillettes vers les ventricules.

La fermeture des valves auriculo-ventriculaires (valve tricuspide et valve mitral) engendre le premier bruit du cœur appelé B1, tandis que la fermeture des deux autres valves (valve aortique et valve sigmoïde) produit le second bruit du cœur appelé B2. Le son émis par la fermeture des valves permet de déterminer une pathologie à ce niveau (Leatham, 1958), (Epstein, 1973), (laennext, 2007). La technique permettant d'écouter le bruit du cœur est appelé auscultation.

En résumé, après chaque contraction, le sang est injecté dans les ventricules à travers les valves auriculo-ventriculaires.

### 1.3.5 Les ventricules

Les ventricules sont les deux cavités antérieures du cœur humain. Le ventricule droit reçoit le sang pauvre en oxygène en provenance de l'oreillette droite, et le ventricule gauche reçoit le sang riche en oxygène en provenant de l'oreillette gauche. Le ventricule droit a pour rôle de propulser le sang pauvre en oxygène vers les poumons à travers l'artère pulmonaire, et le ventricule gauche propulse le sang oxygéné dans l'organisme à travers l'artère aorte. Leur contraction et leur relaxation dépendent

du système électrique du cœur. Le ventricule gauche est l'élément le plus important du myocarde humain; il assure à lui seul 80% (Lalande, 2012) du travail mécanique du cœur. La plupart des examens cardiaques sont focalisés sur le ventricule gauche. Il est plus petit que le ventricule droit, mais trois fois plus épais que ce dernier. L'architecture ventriculaire est très complexe. Dans cette partie, on se propose de présenter seulement le rôle des ventricules.

Dans la partie antérieure des ventricules, à quelques millimètres de la pointe du cœur se trouve un ensemble de tissus anisotropes allongés avec un grand niveau d'homogénéité et qui servent de base aux valves auriculo-ventriculaires. Ils portent le nom de piliers ou muscle papillaires, figure 1-3. Le chapitre 8 détaille mieux l'architecture du myocarde humain (l'orientation des cardiomyocytes à l'intérieur de la masse ventriculaire). Les deux ventricules sont séparés par une frontière ou une cloison, appelée le septum inter-ventriculaire.

### **1.3.6 Le septum inter-ventriculaire**

Le septum vient du mot latin qui signifie cloison. Le septum inter-ventriculaire est une cloison qui sépare le ventricule droite du ventricule gauche. Il empêche le sang pauvre en oxygène de se mélanger avec le sang riche en oxygène, et le septum atrial sépare les deux oreillettes. Le septum joue un rôle important dans le cycle cardiaque. Ainsi, le cycle cardiaque a une durée moyenne de 800 ms, et se divise en deux phases qui sont : diastole et systole.

Au cours d'un cycle cardiaque, les chambres ventriculaires sont remplies de sang. Le ventricule droit est rempli du sang pauvre en oxygène, et le ventricule gauche est rempli du sang riche en oxygène. Le mouvement de remplissage des ventricules est appelé diastole ; ce mouvement dure environ 500 ms (Lalande, 2012). A la fin du remplissage ou télé diastole, les deux ventricules sont remplis de sang, et la pression dans ces derniers devient très élevée par rapport aux oreillettes et les artères. Cette pression entraîne la fermeture des quatre valves cardiaques mentionnées plus haut. Au même instant, l'arrivée du signal ou l'onde électrique dans le nœud d'Aschoff Tawaka ou auriculo-ventriculaire, le faisceau de His, et le réseau de Purkinje provoque la contraction des ventricules qui éjectent le sang à travers les valves pulmonaire et aortique. Le sang pauvre en oxygène est injecté dans l'artère pulmonaire pour aller au poumon, tandis que l'artère aortique distribue le sang riche en oxygène dans tout l'organisme. Le mouvement d'injection des ventricules définit la systole qui dure environ 300 ms.

La pression systolique moyenne est de 125 mm Hg (normalement inférieur à 140 mm Hg), et la pression diastolique moyenne est de 80 mm Hg (normalement inférieur à 90 mm Hg), (Foster, 2010). La pression artérielle se définit comme le rapport de la pression systolique sur la pression diastolique

normalement qui est de 125 mm /80 mm ou 12,5 cm / 8 cm. La diastole ou systole dépend de l'activité électrique (nœud sinusal) du cœur

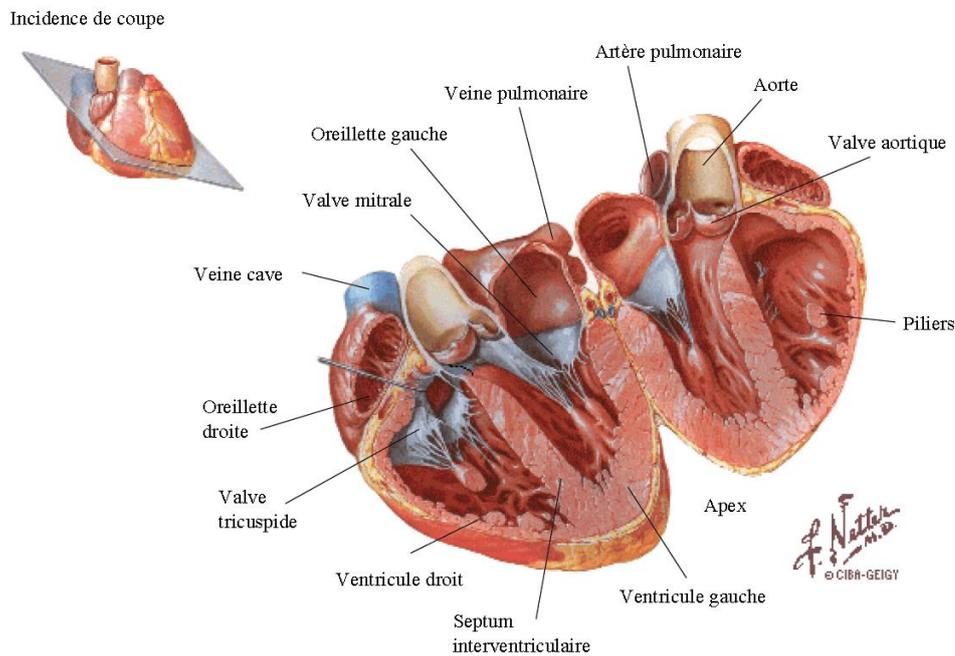


Figure 1-3: Anatomie du cœur humain d'après (Netter, 1969), (Petit-Jean, 2003).

### 1.3.7 Apex

La pointe du cœur ou sommet est appelé apex et représente le début de l'excitation ventriculaire. Il est parcouru par le faisceau de Purkinje.

En tant que pompe, le cœur humain peut subir plusieurs défaillances d'ordres électriques (dysfonctionnement du nœud sinusal, ou du faisceau de His, ou du nœud auriculo-ventriculaire. Une pathologie peut détruire totalement le nœud sinusal ; dans ce cas il devient nécessaire d'installer un stimulateur cardiaque électronique pour le patient) et mécaniques (contraction anarchique des oreillettes et des ventriculaire, septum inter-ventriculaire percée). Quand la fonction de pompe d'un ventricule est altérée on parle d'insuffisance ventriculaire (droite, gauche, ou les deux). Ainsi, le myocarde ou muscle du cœur est constitué d'un ensemble de cardiomyocytes ayant une architecture très complexe.

De plus, la plupart des pathologies cardiovasculaires sont étroitement liées à l'architecture des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire.

## 1.4 Problématique du myocarde humain

Depuis des décennies, de nombreux travaux ont été menés sur l'architecture des faisceaux de cardiomyocytes, pour avoir une meilleure connaissance de sa structure et de l'orientation des faisceaux de cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire. Ainsi, les résultats ont été très divergents selon la technique utilisée. Le myocarde ou muscle du cœur est une masse de faisceaux de cardiomyocytes empilées et arrangées suivant une géométrie très complexe et bien structurée. Sa structure lui confère la force mécanique à l'étirement et la force électrique à l'excitation. Le myocarde humain est très différent des muscles squelettiques. A cause de sa complexité, plusieurs techniques classiques de dissection ont été utilisées pour étudier la structure des cardiomyocytes.

L'une des techniques de dissection la plus utilisée a été le pelage du cœur de l'épicarde (membrane externe du cœur) à l'endocarde (membrane interne du cœur). Khrel (Krehl, 1891), Mac Callum (Callum, 1900), Mall (Mall, 1911), Streeter (Streeter, 1979), et Greenbaum (Greenbaum RA, 1981) ont tous utilisé cette technique de dissection.

Selon Khrel (Krehl, 1891), les faisceaux de cardiomyocytes du ventricule gauche sont des spirales, c'est-à-dire un même faisceau de cardiomyocytes est sous-épicardique au début de sa trajectoire et sous-endocardique sur le reste de son parcours. Il passe de l'épicarde à l'endocarde par l'apex, et de l'endocarde à l'épicarde au niveau de l'orifice mitro-aortique. La partie compacte du ventricule gauche est montée comme un écheveau de cardiomyocytes, les superficielles étant en continu avec les plus profondes.

Le vingtième siècle fut marqué par une modification des techniques de pelages. Mac Callum (Callum, 1900) pèle des cœurs de porc et humains après les avoir insérés dans une solution acétique qui permet la dissociation des faisceaux de cardiomyocytes, afin d'étudier leur structure.

Les résultats de Mac Callum, Mall (Mall, 1911), (Robb JS, 1942), ont permis de distinguer 4 principaux chefs musculaires avec des dispositions complexes : 2 faisceaux bulbo-spiraux, un profond et un superficiel, et deux faisceaux sino-spiraux, un profond et un superficiel. Ces résultats modifiaient profondément la conception de la mécanique ventriculaire, car le squelette fibreux du cœur était considéré comme une structure tendineuse d'insertion de fibres musculaire.

Dans le modèle Robb et Robb (Robb JS, 1942) les quatre faisceaux des cardiomyocytes sont ancrés dans un trigone fibreux de la racine aortique et pulmonaire.

Pour Rushmer et al. (Rushmer RF, 1953), les cardiomyocytes sont rangés en trois couches, une couche superficielle, moyenne et profonde. Les cardiomyocytes de la couche superficielle sont principalement

insérées dans la région du squelette fibreux et courent obliquement à la surface de la masse ventriculaire. Ces cardiomyocytes forment un modèle spiral à l'apex du cœur, et de façon continue avec les cardiomyocytes de la couche profonde. Les cardiomyocytes de la couche profonde sont dites des faisceaux de cardiomyocytes à montés longitudinales de l'apex à la base du cœur formant les muscles papillaires. Les cardiomyocytes de la couche intermédiaire ne sont pas insérés dans le squelette fibreux. Rushmer et al les appela, constructeur ventriculaire parce que cette couche est composée uniquement de cardiomyocytes ou « fibres circulaires ».

Dans le modèle proposé par Torrent-Guasp (Torrent-Guasp, 1975), le cœur est formé d'une seule bande de muscle qui part de l'artère pulmonaire et de l'artère aortique. Par ces techniques, il a pu mettre en place une technique standardisée de pelage des cœurs. De plus, de 1957 à 1975, il a disséqué un très grand nombre de cœurs humains, et des gros mammifères, dans le seul but d'étudier l'architecture du myocarde. Par ces résultats, il a pu confirmer expérimentalement les travaux de Krehl (Krehl, 1891), et permet aux histologistes de mettre au point les modèles et les techniques d'études de l'architecture 3D des cardiomyocytes.

Ce fut en 1979 que Streeter (Streeter, 1979) proposa un modèle topologique du ventricule gauche. Selon Streeter, la paroi équatoriale libre du ventricule gauche est recouverte de cardiomyocytes, ils ont une organisation en géodésiques de surfaces (ce sont les cardiomyocytes qui définissent la surface) toroïdales emboîtées (chaque faisceau de cardiomyocytes s'enroule sur une surface et se referme), c'est-à-dire que les faisceaux de cardiomyocytes suivent des plus courts chemins. Ces travaux lui ont permis de confirmer les résultats de Krehl soit 88 ans plus tard. Ce modèle a été étendu par Sanchez-Quintana (Sanchez-Quintana, 1995).

L'organisation géométrique des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire a été aussi étudiée par Chadwick (Chadwick, 1982), Grice et al. (Grice, 1992), Feneis (Feneis, 1943), Robinson et al. (Robinson TF, 1986).

Les travaux d'Anderson and Becker (Anderson RH, 1980), Greenbaum et al. (Greenbaum RA, 1981), Fernandez-Teran et Hurle (Fernandez-Teran, 1982), et Sanchez-Quintana et al. (Sanchez-Quintana D., 1995), ont confirmé le modèle proposé par Rushmer et al., c'est-à-dire que les cardiomyocytes sont divisés suivant trois couches. Elles sont distinguées l'une de l'autre grâce au changement progressif des directions des cardiomyocytes. Ce modèle qui était approuvé par certains auteurs comme Greenbaum et al. (Greenbaum RA, 1981), Fernandez-Teran (Fernandez-Teran, 1982) et Hurle allait soulever pas mal de questions, sur l'existence d'une couche moyenne au niveau du ventricule droit et sur l'architecture du muscle du septum inter-ventriculaire. De plus, certains auteurs ont approuvé le modèle de Rushmer et al. sur l'anatomie des sommets des ventricules. Cependant, certains auteurs

étaient opposés à l'organisation symétrique des cardiomyocytes. Selon Rushmer et al., les cardiomyocytes courent exclusivement à l'intérieur de leur couche. Ce résultat est trompeur, car selon Streeter (Streeter, 1979) et Lunkenheimer et al. (Lunkenheimer PP, 1997) les cardiomyocytes peuvent passer d'une couche à l'autre, ce qui donne la possibilité de mesurer l'angle de pénétration des faisceaux de cardiomyocytes à l'intérieur de la masse ventriculaire.

Toutes les méthodes citées ci-dessus sont basées sur la dissection classique. Cette méthode ne permet pas d'étudier de façon détaillée l'architecture des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire. Les résultats sont tous divergents.

D'autres modèles non linéaires ont vu le jour. Ces modèles prennent en compte la structure fibreuse et l'anisotropie. Ils ont été proposés par Bogen (D.K., 1987), Fung (Fung, 1993), Hunter et al. (Hunter P.J., 1988). Puis le modèle de Jouk et al. (Jouk P-S. U. Y., 1995) qui permet d'avoir une idée beaucoup plus détaillée de la structure des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire.

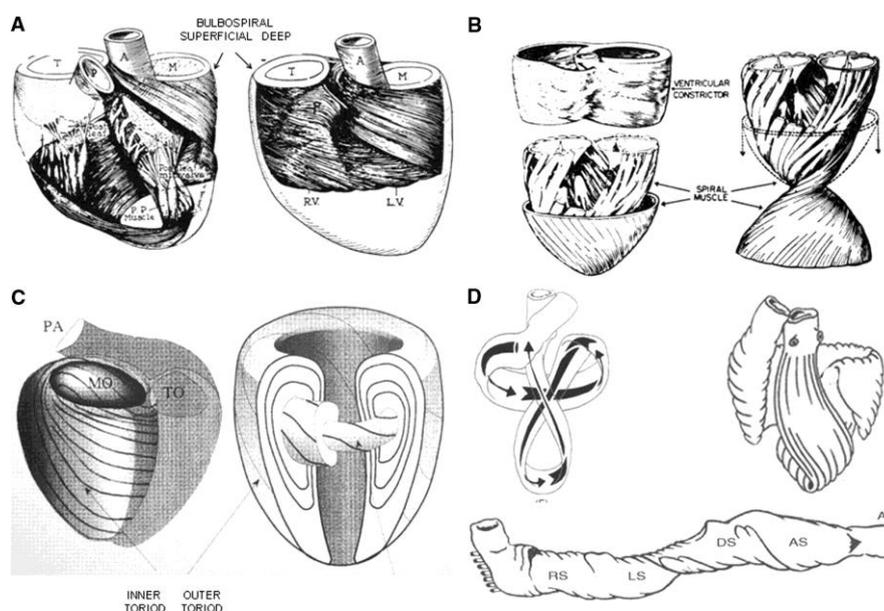


Figure 1-4: Quelques modèles de l'organisation myocardique. A) Modèle de Mac Callum. B) Modèle de Robb et Robb et Rushmer et al. C) Modèle de Khrel à gauche, et celui de Streeter à droite. D) Modèle de Torrent-Guasp. (Gerald, 2008)

Avec l'avancement de la technologie, beaucoup d'autres techniques d'imagerie les unes plus performantes que les autres ont vu le jour comme : la microscopie électronique en transmission, les microscopes à balayage laser, les microscopes bi-photons, la tomographie par émission des positons, imagerie par résonance magnétique (IRM), la lumière polarisée, etc. Ainsi, l'arrivée de la microscopie électronique en transmission allait remettre en cause la technique du pelage du myocarde humain.

Parmi les techniques d'imageries les plus avancées, on peut citer : l'Imagerie par Résonance Magnétique de diffusion (IRMd) ou IRM de tenseur de diffusion, qui est basée sur la description de la diffusion des molécules d'eau au sein du tissu et permet de connaître l'orientation des cardiomyocytes (voir chapitre 8 : Confrontation IRM vs ILP). C'est une technique d'imagerie non-invasive (Wu MT T. W., 2006), (C. Frindel, 2010), (Scmid P, 2005) . Le Q-Ball Imaging (QBI) est une technique d'imagerie qui permet d'étudier le croisement des cardiomyocytes à l'intérieur d'un voxel (Tuch, 2004), (Muriel Perrin, 2005), ce qui n'est pas possible avec la technique de l'IRM classique.

La technique d'imagerie en lumière polarisée utilise les propriétés vibratoires de la lumière pour étudier l'architecture des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire, mais cette technique d'imagerie n'est pas applicable sur les tissus vivants, et elle est invasive. Toutefois, le modèle proposé par Jouk et al. (Jouk P-S. Y. Usson, 2000) a étendu le modèle de Streeter à l'ensemble du myocarde humain. La technique d'imagerie en lumière polarisée développée par Jouk et Usson, permet d'étudier l'orientation 3D des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire. De plus, ce modèle est le plus récent parmi les modèles proposés ci-dessus, figure 1-5.

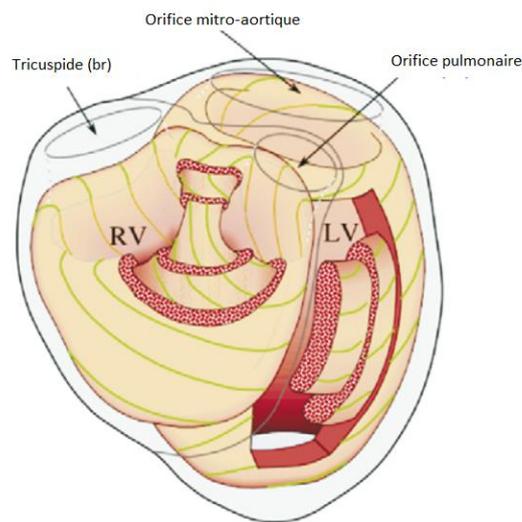


Figure 1-5 : Modèle de Jouk et Usson.

Cette thèse est la continuité des travaux de Jouk et al. Ainsi, nous allons développer un modèle mathématique basé sur le modèle de Jouk et al, afin de connaître en tout point et en détail, l'organisation 3D des cardiomyocytes au cours du développement (période fœtale, et néonatale). De plus, le même modèle mathématique nous permettra aussi de caractériser le niveau d'homogénéité des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire. Pour mener à bien notre étude, le chapitre suivant définit les matériels et les méthodes qui vont être utilisés pour atteindre cet objectif.

# Chapitre 2

## Matériels et Méthodes

---

<b>Chapitre 2</b> .....	15
<b>2.1 Méthodes d'imageries du cœur</b> .....	16
2.1.1 Méthode invasive .....	16
2.1.2 Méthode non invasive .....	16
2.1.3 IRM (méthode non invasive) .....	16
2.1.4 Lumière polarisée (méthode invasive).....	17
<b>2.2 Préparation inclusions Méthyl Méthacrylate (MMA) cœur et Piliers</b> .....	17
2.2.1 Préparation du cœur entier .....	18
2.2.2 Préparation des piliers .....	20
<b>2.3 Banc optique</b> .....	21
<b>2.4 Logiciels</b> .....	22
2.4.1 Simulation .....	22
2.4.2 Acquisition d'images .....	22

## 2.1 Méthodes d'imageries du cœur

Compte tenu de la diversité des techniques utilisées, le présent chapitre constitue plus une énumération des techniques utilisées qu'un descriptif exhaustif. Les méthodes les plus élaborées sont détaillées ensuite dans des chapitres dédiés.

Pour observer les différents mouvements du cœur humain (diastole, systole, ouverture et fermeture des valves cardiaques), ainsi que la structure détaillée du myocarde à la recherche des pathologies, il existe deux grandes méthodes dites méthodes invasives et non invasives

### 2.1.1 Méthode invasive

La méthode dite invasive est l'une des méthodes la plus ancienne, elle requière une effraction de la peau plus importante, une chirurgie de l'organe en question. Pour analyser ce tissu, il faut être en contact direct avec ce dernier soit par la dissection ou des coupes histologiques. Par exemple, les affections du cœur, les gros vaisseaux thoraciques, et les matériels autopsies.

### 2.1.2 Méthode non invasive

Avec l'avancement de la technologie, la plupart des pathologies peuvent être observées et analysées directement par des techniques d'imageries sans avoir recours à la chirurgie ou à l'effraction de la peau. De nos jours, il est possible de traiter directement un patient atteint d'une tumeur par un bombardement de la zone tumorale par des rayons X. Parmi les techniques d'imageries du cœur, on peut citer : l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) ou d'Imagerie par Résonance Magnétique de diffusion (IRMd), la Tomographie par Emission de Positron (T.E.P), le Q-Ball Imaging (QBI), etc...

### 2.1.3 IRM (méthode non invasive)

L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) est l'une des techniques d'imagerie non invasive la plus répandue à l'heure actuelle. Elle permet d'obtenir une vue 2D ou 3D de l'organe de façon non invasive avec une résolution de contraste élevée. Elle est basée sur l'exploitation de la diffusion des molécules d'eau à l'intérieur du tissu biologique car cette diffusion est contrainte par les tissus environnants, et permet d'obtenir indirectement la position et l'orientation des structures fibreuses. Durant ces dernières années, plusieurs modèles de simulation des molécules d'eau à l'intérieur du tissu ont été proposés par des chercheurs, afin d'optimiser les algorithmes de reconstruction 2D et 3D. La résonance des atomes d'hydrogène sous l'effet des certaines ondes radiofréquences permet d'obtenir un signal qui provient majoritairement des protons des molécules d'eau (voir chapitre 8 : Confrontation IRM/ILP).

### 2.1.4 Lumière polarisée (méthode invasive)

L'imagerie en lumière polarisée est une technique invasive (travail sur des matériels autopsiés) qui utilise les propriétés vibratoires de la lumière pour extraire des informations dans un tissu biologique biréfringent et anisotrope. Elle permet de déterminer l'orientation des cardiomyocytes dans chaque voxel donné. Elle est basée sur l'exploitation de la biréfringence du tissu biologique. Si la lumière se propage de façon isotrope dans un tissu biologique quel que soit son orientation par rapport à un faisceau incident, cette technique d'imagerie se révèle inefficace, et il est nécessaire de faire place à d'autres techniques d'imagerie.

La structure atomique et physico-chimique du muscle cardiaque laisse passer la lumière de façon anisotrope, car le myocarde humain se comporte comme un cristal uni-axial biréfringent. Cette technique peut être considérée comme vérité terrain, car elle permet de révéler de façon détaillée la structure des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire (voir chapitre 6 : Expérimentations, chapitre 7 : Cartographies du myocarde humain).

La technique de l'imagerie en lumière polarisée requiert des coupes sériées histologiques, c'est-à-dire, l'échantillon doit être préparé et découpé selon un protocole bien défini. En ce sens, un protocole a été défini par Jouk et al (Jouk P.-S. Y., 2000) pour l'exploitation de la biréfringence du myocarde humain en lumière polarisée.

## 2.2 Préparation inclusions Méthyl Méthacrylate (MMA) cœur et Piliers

Pour exploiter la biréfringence du myocarde humain, il est nécessaire de définir un protocole de préparation qui met en valeur la nature biréfringente et anisotrope du myocarde. Celle-ci est due principalement à la biréfringence des filaments de myosine.

Les filaments de myosine présents dans le myocarde humain ne sont pas les seules qui possèdent une biréfringence cristalline. Le collagène est l'une des protéines les plus abondantes dans l'organisme humain. Sa présence dans la matrice extracellulaire confère aux tissus une résistance mécanique à l'étirement. Le collagène et la myosine sont les deux éléments les plus biréfringents du myocarde humain, cependant l'indice de réfraction du collagène est supérieur à celui de la myosine. La présence du collagène est donc gênante car cela perturbe toutes informations provenant des filaments de myosine. De ce fait, il faut éliminer totalement la contribution du collagène pour avoir des informations seulement sur les filaments de myosine. En même temps, il fallait trouver un bon compromis pour ne pas détériorer la nature de la myosine.

Les échantillons biologiques sont réalisés au laboratoire d'anatomie pathologique du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Grenoble par des ingénieurs et des techniciens compétents.

### 2.2.1 Préparation du cœur entier

Les échantillons de travail présentés dans ce manuscrit, proviennent de deux cœurs humains sains. Le premier cœur est celui d'un fœtus de 33 semaines d'aménorrhée, poids des ventricules 12 gr, et celui des oreillettes 3 gr. Le poids total du cœur est 15 gr (chapitre 7 : Cartographies du myocarde humain). Le second cœur est celui d'un enfant de 14 mois, qui est né prématurément à 33 semaines d'aménorrhée et décédé de façon inexplicable. Le poids des ventricules est 32 gr (chapitre 8 : Confrontation IRM vs ILP). Les échantillons biologiques sont obtenus suivant un cadre législatif.

#### **Cadre législatif de l'étude des cœurs fœtaux et post-nataux:**

*« Les tissus biologiques sont prélevés, conservés et utilisés par le laboratoire de fœtopathologie du CHU de Grenoble. Conformément au code de la santé publique, dispositions des articles R1243-49 et suivants, une attestation d'acceptation de déclaration d'activité de conservation et de préparation d'éléments du corps humain pour les besoins des programmes de recherche de cet organisme a été délivrée par le ministère de l'enseignement et de la recherche (DC-2008-737, responsable scientifique: P.S. Jouk).*

*De plus, un consentement écrit de la femme est obligatoire pour réaliser l'examen fœto-pathologique et l'autopsie du fœtus, du nouveau-né ou de l'enfant au cours des quels sont prélevés les cœurs: consentement à visées diagnostiques et scientifiques dans le but de recherches sur le développement de l'enfant ».*

L'étude de la topographie des cellules myocardiques au sein de la masse ventriculaire des cœurs embryonnaires et fœtaux normaux permet de connaître en détail l'arrangement spatial des cardiomyocytes, ainsi que la structure détaillée du myocarde et du septum inter-ventriculaire.

Le cœur est perfusé et fixé dans une solution de formaldéhyde à 4% neutralisée, et immergé pendant une semaine minimum dans la même solution. Les oreillettes sont sectionnées à 1mm des valves auriculo-ventriculaire et à 3mm des ventricules. Un fois fixé, le massif ventriculaire est inclus dans une résine acrylique hydrophobe, le méthyl méthacrylate (MMA) préparé suivant un protocole bien défini (voir Annexe). Le myocarde commence par être déshydraté et imprégné d'une résine hydrophile, le glycol méthacrylate (GMA), puis il est imprégné d'un mélange de GMA et de MMA, dans laquelle la concentration du MMA augmente graduellement jusqu'à l'imprégnation dans du MMA pur. La durée totale des imprégnations par bains successifs est de 9 semaines L'échantillon est

inclus par polymérisation et durcissement de la résine MMA. Après la polymérisation, le cœur est totalement observable à travers le bloc de résine, figure 2-1. Le bloc de l'échantillon peut être orienté et coupé suivant un référentiel choisi, soit des coupes: coronales, sagittales, transversales. Cependant, avant la découpe du bloc de l'échantillon en sections d'une épaisseur de 500 $\mu$ m appelée microtomie, 3 trous de 1 mm de diamètre ont été forés dans la résine, perpendiculairement à la base de ce dernier, figure 2-2. Ces trous sont appelés les marqueurs fiduciaires. Ils servent de références pour la reconstruction tridimensionnelle de l'échantillon. En effet, lors des acquisitions d'images des coupes de cœur en lumière polarisée, les coupes sont alignées les unes par rapport aux autres grâce à la référence constituée par les marqueurs fiduciaires. Ainsi préparé, le bloc d'inclusion de l'échantillon orienté selon un référentiel est placé sur un microtome à scie circulaire diamantée, ou sur une scie à fil diamanté. Des coupes sériées du myocarde entier sont réalisées. Au total, nous avons obtenu 42 coupes. Ces techniques de découpes évitent les distorsions de l'échantillon, toutefois les stries créées à la surface des sections doivent être éliminées par polissage manuel afin de ne pas perturber le trajet des rayons lumineux.

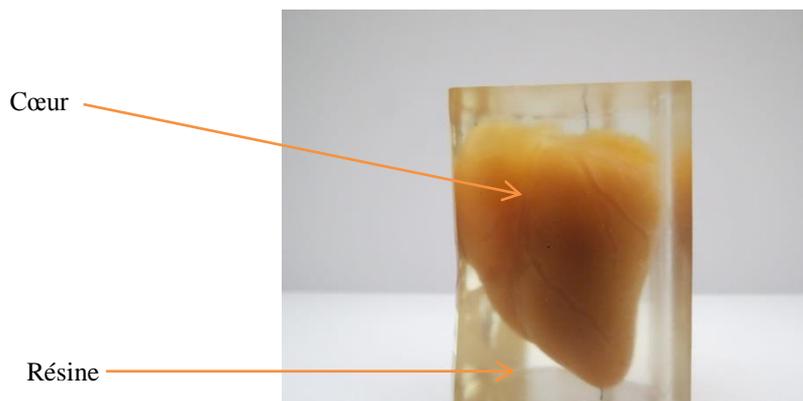


Figure 2-1 : Cœur entier inclus dans le MMA.

Le choix de l'épaisseur de coupe est un compromis entre :

- a) Le retard de phase induit par l'échantillon biologique nécessaire à l'obtention d'un contraste suffisant dans l'examen en lumière polarisée ;
- b) des contraintes liées essentiellement à la microtomie (Jouk P.-S. , 1994), cette dernière génère deux facteurs de variabilité de l'épaisseur des coupes indépendants de l'épaisseur de celles-ci. Le premier facteur est lié à la profondeur des stries laissées à la surface des coupes par la scie diamantée, en fonction de l'usure de la scie. Le second facteur de variation concerne les coupes les plus larges, et dépend de son épaisseur et se manifeste par une netteté des coupes. Cependant, pour les coupes de 500  $\mu$ m, les stries ne sont plus discernables lors de l'examen en lumière polarisées, et la variation d'épaisseur représente que 6% de l'épaisseur totale.

L'indice de réfraction d'une coupe (après polymérisation, découpage et polissage) est un compromis entre l'indice de réfraction du MMA (indice de réfraction 1,4121) et celui de la myosine (biréfringence maximale de  $10^{-4}$ ). Le MMA a le même indice de réfraction que le collagène.

Soit  $n_1$  l'indice de réfraction du MMA + myosine, et  $n_2$  l'indice de réfraction du MMA. Il est possible par une simple opération arithmétique de soustraire l'indice de réfraction  $n_2$  de  $n_1$ . Ainsi, il devient possible d'obtenir seulement l'indice de réfraction de la myosine, d'où le choix l'inclusion du cœur dans le MMA.

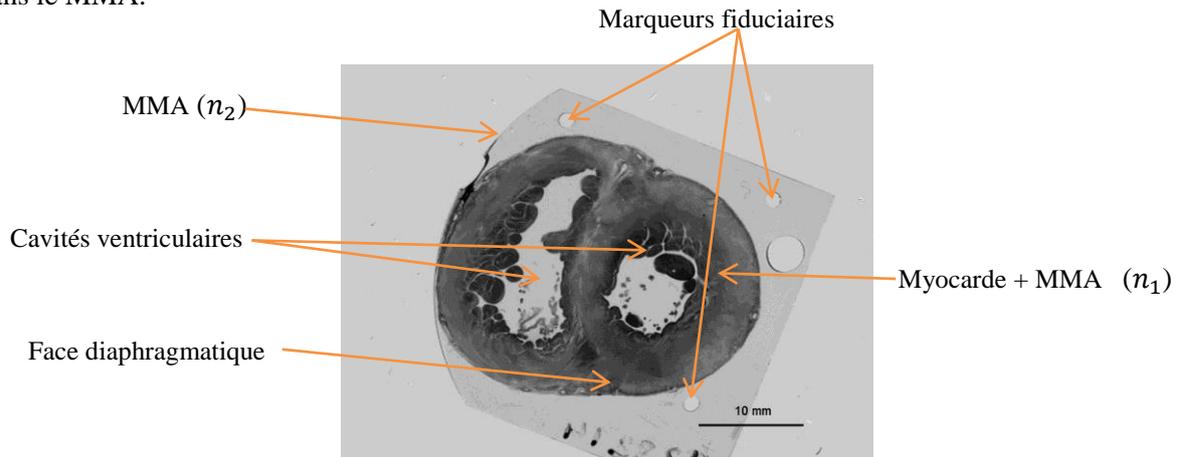


Figure 2-2 : Section de myocarde inclus dans le MMA avec les 3 marqueurs fiduciaux périphériques. Ventricule gauche à droite, face diaphragmatique en bas.

## 2.2.2 Préparation des piliers

Les piliers des valves auriculo-ventriculaire ont été prélevés après fixation par immersion et par perfusion coronaire par le formaldéhyde à 4% neutralisée par un tampon phosphate. Ces piliers ont été inclus dans le méthyl méthacrylate (MMA) selon le même protocole que le cœur en entier. Une fois inclus, ces blocs ont été orientés de façon à obtenir, lors de la microtomie, des angles d'élévation régulièrement réparties tous les 11,25 degrés, entre 0 et 90 degrés. A cause des petits déplacements des piliers lors de la polymérisation, les angles d'élévation pour chacun des piliers n'ont pu être établis qu'à 5 degrés près, les piliers ont ensuite été sectionnés au microtome rotatif à une épaisseur de 250  $\mu\text{m}$ , Jouk et al (Jouk P.-S. , 1994). En plaçant le pilier entre polariseur et analyseur croisés, les informations recueillies sur le pilier proviennent seulement de l'orientation des cardiomyocytes ou « fibres » ainsi que leur niveau d'homogénéité, car le pilier est constitué de tissu musculaire sans collagène, figure 2-3.

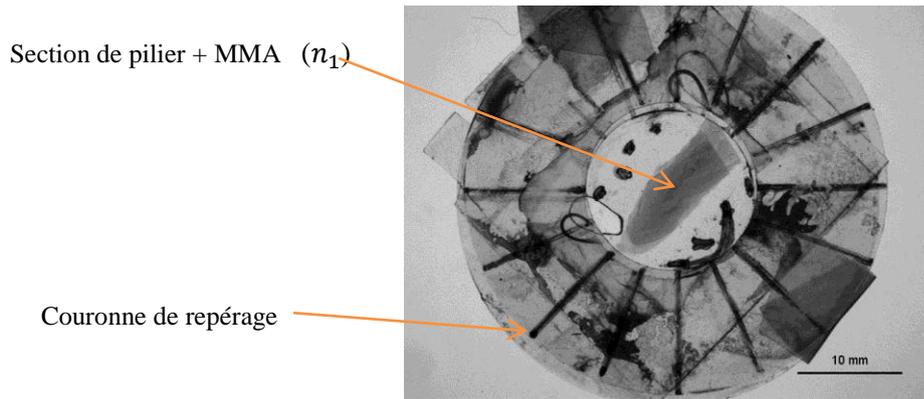


Figure 2-3: Section de pilier des valves auriculo-ventriculaires. Deux sections de 250  $\mu\text{m}$  d'un même pilier sont superposées de façon à pouvoir tester les effets des croisements de cardiomyocytes.

Il n'est pas nécessaire de faire de marqueur fiduciaire pour le pilier, car aucune reconstruction tridimensionnelle n'est requise. Les couronnes de repérages permettent de déterminer l'orientation de la section du pilier des valves auriculo-ventriculaire entre le couple polariseur et analyseurs croisés.

## 2.3 Banc optique

Pour exploiter l'échantillon de cœur avec la technique de la lumière polarisée, le banc optique est composé de :

- une source de lumière « blanche » dépolarisée avec un spectre connu.
- un diffuseur, comme son nom l'indique permet de diffuser la lumière
- un polariseur linéaire avec son axe de sélection orienté à 0 degré par rapport à l'axe  $ox$  (axe référentiel) du banc optique, qui représente le zéro du système
- deux lames quart d'onde avec leurs axes neutres orientés respectivement à 45 et 135 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur
- une lame pleine onde, avec son axe neutre orienté à 0 degré
- un analyseur linéaire avec son axe de sélection orienté à 90 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur.

Ces éléments optiques sont montés sur un support métallique qui permet de les aligner les uns à la suite des autres. Une description détaillée du banc optique se trouve au chapitre 4 (Banc Optique, figure 4-1).

## 2.4 Logiciels

### 2.4.1 Simulation

Pour simuler le comportement des cardiomyocytes entre polariseur et analyseur croisés, le choix a été porté sur GNU/Octave et Matlab. Ces deux logiciels ont à peu près la même syntaxe. GNU/Octave est un logiciel libre permettant de faire des calculs matriciels, mais un peu lents (dans les boucles) dans les calculs.

Matlab est un logiciel payant, rapide, puissant et permet de faire des calculs matriciels dans un temps minimal. Notre préférence pour l'« Open Source » nous a amené à travailler beaucoup plus avec GNU/Octave. Tous les résultats des simulations qui sont présentés dans ce manuscrit sont obtenus sur GNU/Octave. Dans les acquisitions des images brutes en IRM (chapitre 7 : Cartographies du myocarde humain), il est nécessaire d'utiliser Matlab, car les données qui nous sont fournies, se trouvent dans un format propriétaire de Matlab.

Pour l'analyse formelle des modèles et la recherche d'optimisation des calculs pour l'implémentation des codes d'analyses d'images robustes, nous avons utilisé le logiciel GNU/Maxima un logiciel libre qui est destiné à des calculs formels.

### 2.4.2 Acquisition d'images

L'implémentation de notre programme d'acquisition d'images (PolarBench) écrit en C/C++ sous Windows, permet d'automatiser le banc optique. Il est divisé en deux parties :

- a) la première partie du programme, contrôle toute la partie mécanique et électrique du banc optique (moteurs de rotation des polariseurs, capteurs de position à potentiomètres, moteurs de bascule de la platine porte-objet, source lumineuse).
- b) la deuxième partie est consacrée à l'acquisition des images entre polariseur et analyseur croisés : contrôle des paramètres paramètre du capteur et de la numérisation (luminosité, contraste), filtrage du bruit et stockage des images.

Après une série d'acquisition, le traitement de ces images est effectué avec le logiciel ImageJ. Ce dernier est un logiciel libre de traitement d'image et du signal écrit en Java. Il permet de créer des greffons logiciels et des macros en Java.

Dans le chapitre 6 (Expérimentations), nous allons élaborer un greffon de logiciel sur ImageJ qui permettra de faire des ajustements du modèle pixel par pixel avec les résultats provenant de la simulation dans le chapitre 5 (Simulations Numériques).

Le chapitre suivant présente de façon détaillée, la méthode optique (lumière polarisée) qui sera utilisée pour analyser la structure et le niveau d'homogénéité des cardiomyocytes à l'intérieur de la masse ventriculaire.

# Chapitre 3

## Méthodes Optiques

<b>Chapitre 3</b> .....	24
<b>3.1 Principes optiques</b> .....	25
3.1.1 Lumière polarisée .....	25
3.1.2 Biréfringence .....	29
3.1.3 Axe optique .....	31
3.1.4 Polariseurs .....	31
3.1.4.1 Polariseur linéaire .....	32
3.1.4.2 lame quart d'onde ou « polariseur circulaire ».....	33
<b>3.2 Formalisme</b> .....	33
3.2.1 Paramètre de Stokes .....	33
3.2.2 Formalisme de Jones .....	38
3.2.3 Sphère de Poincaré .....	40
3.2.4 Formalisme de Mueller .....	41
3.2.5 Faisabilité physique de la matrice de Mueller.....	42
3.2.6 Composant optique de polarisation .....	43
3.2.7 Dichroïsme : .....	43
3.2.8 Polarisation .....	46
3.2.9 Déphaseur.....	47
3.2.10 Milieu dépolarisant et non-dépolarisant.....	49
3.2.11 Décomposition de la Matrice de Mueller.....	50

## 3.1 Principes optiques

### 3.1.1 Lumière polarisée

Le spectre visible de la lumière blanche est compris entre 400 nm (violet) et 700 nm (rouge sombre), pour une longueur d'onde moyenne de 550 nm et une fréquence de 350 THz à 750 THz. L'émission de la totalité des spectres (longueur d'onde) visibles comme l'avait observé Isaac Newton en 1671 donne l'impression de la couleur blanche, car l'œil humain est sensible à l'intensité de l'onde et à sa fréquence. Ainsi, la nature vectorielle de la lumière a été ignorée pendant plusieurs siècles, car à ces époques, l'œil humain était considéré comme le meilleur détecteur optique.

Depuis l'arrivée de la théorie ondulatoire de la lumière établie par Fresnel, et de la théorie de l'électromagnétisme de Maxwell, la lumière est considérée comme une onde vectorielle, plane et transversale. Elle est transversale, car les vibrations de l'onde (vecteur champ électrique  $\vec{E}$ ) ont lieu dans un plan perpendiculaire à la direction de propagation de l'onde. Comme toute onde électromagnétique plane et transversale se propage dans le vide ou dans l'espace, la lumière est caractérisée par quatre vecteurs fondamentaux qui sont : l'excitation magnétique  $\vec{H}$ , le déplacement électrique  $\vec{D}$ , le champ électrique  $\vec{E}$  et champ magnétique  $\vec{B}$  (Francois & Wyncke, 2003). La composante du vecteur magnétique  $\vec{B}$  de l'onde peut être reconstruite à l'aide de la composante du vecteur champ électrique  $\vec{E}$ . De ce fait, on s'intéresse plutôt aux propriétés vectorielles du champ électrique  $\vec{E}$ . De plus, ces deux composantes de l'onde ( $\vec{E}$ ,  $\vec{B}$ ) sont régies par les lois de Maxwell, elles oscillent perpendiculairement à la direction de propagation de l'onde. Ainsi, une lumière ou une onde électromagnétique est dite polarisée, si le vecteur du champ électrique  $\vec{E}$  vibre dans une direction déterminé en fonction du temps, quel que soit le point de l'espace considéré, sinon la lumière est dite naturelle ou non polarisée (évolution stochastique du vecteur du champ électrique  $\vec{E}$ ).

Pour étudier la polarisation de la lumière, le choix est porté sur le vecteur du champ électrique  $\vec{E}$  et non sur les trois autres vecteurs électromagnétiques. En effet, dans les milieux ou dans les matériaux optiques anisotropes ou isotropes, l'interaction photonique et atomique entre la lumière et la matière est beaucoup plus intense avec la présence d'un champ électrique, car la force qu'il exerce sur les électrons des atomes de la matière répond beaucoup plus vite sous la pression du champ électrique que sur la force exercée par le champ magnétique (Francois & Wyncke, 2003). L'équation de Maxwell se définit par :

$$\begin{cases} \vec{\nabla} \cdot \vec{D} = 0 \\ \vec{\nabla} \wedge \vec{E} = -\partial \vec{B} / \partial t \\ \vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0 \\ \vec{\nabla} \wedge \vec{H} = +\partial \vec{D} / \partial t \end{cases} \quad (3.1)$$

Cependant, une simple approche géométrique permet d'ignorer la nature vectorielle de la lumière car une approche purement scalaire de la lumière est souvent suffisante (Huard, 1994). De plus, la plupart des phénomènes optiques nécessitent uniquement une simple connaissance du milieu observé. Ainsi, la lumière est caractérisée par quatre grandeurs physiques mesurables qui sont : l'intensité, la phase, la fréquence et la polarisation. L'état de polarisation de l'onde peut varier dans l'espace-temps, car l'interaction de l'onde avec un objet biréfringent et anisotrope peut modifier non seulement sa trajectoire, mais aussi son amplitude et sa phase. Ceci engendre deux étapes de polarisation, la première étape est celle de l'onde qui voyage seule dans l'espace-temps, et la deuxième étape est la modification subie après avoir rencontré un objet biréfringent et anisotrope. Après l'interaction physico-chimique entre l'onde lumineuse et les atomes de la matière (Walter, 1978), (Robinson & Bradbury, 1992), il est possible de remonter aux caractéristiques propres du milieu optique ou du matériau traversé par l'onde. Cet aspect de polarisation de la lumière peut être mis en œuvre avec la description de certains éléments optiques qui permettent de modifier l'amplitude et la direction de propagation de l'onde lumineuse (polariseurs). L'interprétation et la description de ces phénomènes font appel à la physique moderne qui utilise des formalismes soit géométriques ou algébriques qui seront étudiés dans la suite de ce chapitre.

La représentation vectorielle de la polarisation de l'onde électromagnétique trouve sa place dans le fait que la plupart des matériaux optiques polarisants ou non polarisants peuvent être représentés par des vecteurs ou matrices dites matrice de Mueller, et matrice de Jones.

La polarisation de la lumière est basée sur l'étude du vecteur champ électrique  $\vec{E}$ . Dans le cas d'une onde monochromatique plane et transversale de vecteur d'onde  $\vec{k}$  se propageant suivant la direction de l'axe z positif dans un repère orthonormé  $(O, x, y, z)$  avec une vitesse angulaire  $\omega t$ , le vecteur champ électrique  $\vec{E}$  résultant suivant  $E(z = 0, t)$  est nul, et les deux composantes  $E_x, E_y$  du vecteur champ électrique vibrent suivant les deux axes orthogonaux en  $x$  et  $y$  de manière indépendante, et l'équation du plan d'onde s'écrit :

$$\vec{E} = \begin{cases} E_x(z, t) = A_x \cos(kz - \omega t + \varphi_x) \\ E_y(z, t) = A_y \cos(kz - \omega t + \varphi_y) \\ E_z(z, t) = 0 \end{cases} \quad (3.2)$$

La courbe tracée par la variation du vecteur champ électrique  $\vec{E}$  autour de l'axe z positif grâce à sa pulsation  $\omega$  définit l'ellipse de polarisation de l'onde monochromatique, figure 3-1. Les amplitudes  $A_x, A_y$  sont indépendantes du temps. En posant  $\varphi = \varphi_x - \varphi_y$ , et par élimination de  $\omega t$  et  $kz$  dans l'équation 3.2, on obtient alors :

$$\left(\frac{E_x}{A_x}\right)^2 + \left(\frac{E_y}{A_y}\right)^2 - 2\left(\frac{E_x E_y}{A_x A_y}\right)\cos\varphi = \sin^2\varphi \quad (3.3)$$

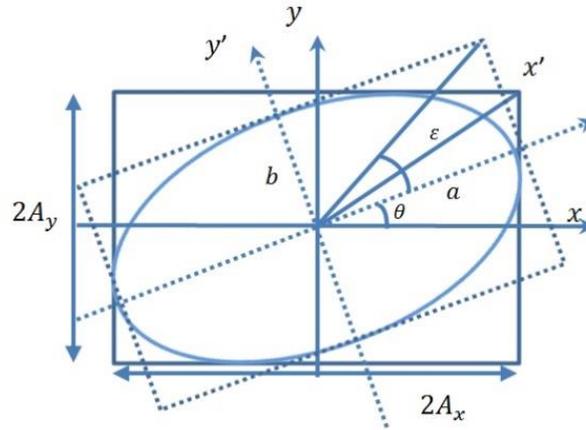


Figure 3-1 : Ellipse de polarisation. Elle est définie par son azimut  $\theta$ , son amplitude  $2A$ , et par son ellipticité  $\varepsilon$ .

Pour l'angle d'azimut, on a :

$$\tan 2\theta = 2\left(\frac{A_x A_y}{A_x^2 + A_y^2}\right)\cos\varphi \quad (3.4)$$

Et l'ellipticité  $\varepsilon$  dont la tangente est égale au rapport des longueurs  $A_x$  et  $A_y$  des axes de l'ellipse :

$$\sin 2\varepsilon = 2\left(\frac{A_x A_y}{A_x^2 + A_y^2}\right)\sin\varphi \quad (3.5)$$

ou

$$\tan \varepsilon = \frac{A_y}{A_x} = b/a \quad (\text{Voir figure 3-1}) \quad (3.6)$$

avec

$$-\pi/4 \leq \varepsilon \leq \pi/4$$

$$-\pi/2 \leq \varphi \leq \pi/2 \quad (\text{Équation 3.3})$$

Le sens de rotation du vecteur champ électrique  $\vec{E}$  dépend de  $\varphi$ . Une ellipticité nulle indique que la polarisation est linéaire ( $A_y = 0$  ou  $A_x = 0$ ). Si  $\varepsilon = \pi/4$ , on a  $A_x = A_y$ , et la polarisation est dite

circulaire. D'après la figure 3-1, l'ellipse de polarisation est inscrite dans un rectangle de côté  $2A_x$ , et  $2A_y$ . Selon les différentes valeurs de rotation du vecteur champ électrique résultant  $\vec{E}$ , la polarisation de l'onde lumineuse peut être: elliptique droite ou elliptique gauche, circulaire droite ou gauche, ou linéaire (verticale ou horizontale). La polarisation est dite elliptique lorsqu'il existe un déphasage entre les deux composantes orthogonales  $(E_x, E_y)$  du champ électrique.

Dans la figure 3-2, le tracé du vecteur du champ résultant de l'onde  $\vec{E}$  en fonction du temps définit une ellipse quand le déphasage  $\varphi$  est égal à  $[-\pi/4, \pi/4]$ , le vecteur du champ électrique tourne dans le sens des aiguilles d'une montre, c'est-à-dire la polarisation est elliptique droite, dans le cas où  $\varphi$  est égal à  $[-3\pi/4, 3\pi/4]$ , la polarisation est dite elliptique gauche. Dans le cas d'une polarisation circulaire, le déphasage  $\varphi = \varphi_x - \varphi_y$  est égal à  $[-\pi/2, \pi/2]$ . De plus, l'amplitude des deux composantes du vecteur champ électrique est égale, c'est à dire  $A_x = A_y$ . Selon le sens de la rotation, la polarisation est dite circulaire droite si  $\varphi$  est égal à  $+\pi/2$ , et gauche si  $\varphi$  est égal à  $-\pi/2$ . La polarisation se réduit à une droite quand  $\varphi$  est égal à  $0, \pi$  ou  $-\pi$ . Les différents états de polarisation de l'onde lumineuse sont représentés dans la figure suivante :

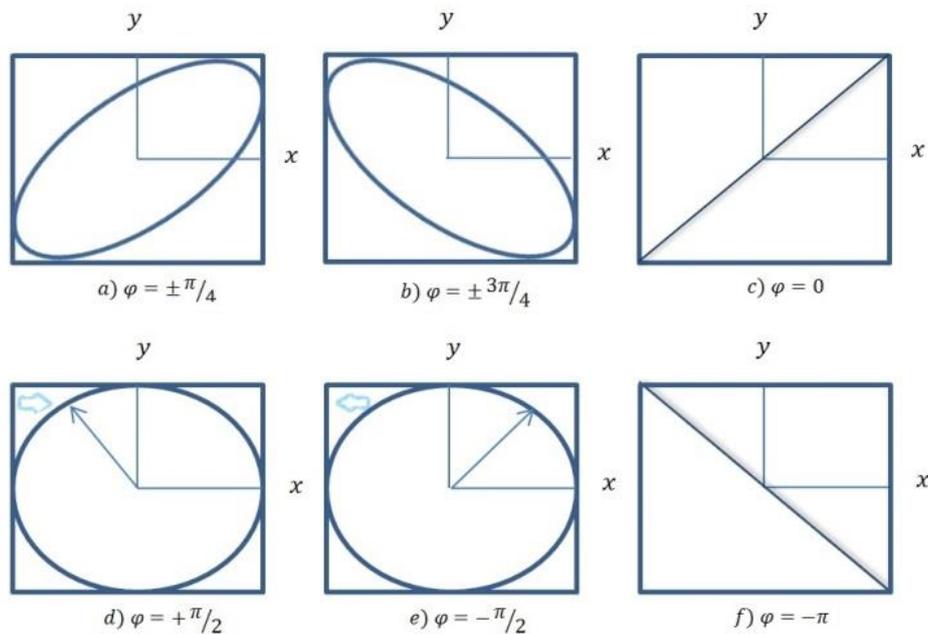


Figure 3-2 : Différents états de polarisation de la lumière. De (a-b) la polarisation elliptique droite et gauche, de (d-e) la polarisation circulaire droite et gauche, et de (c-f) la polarisation linéaire droite et gauche.

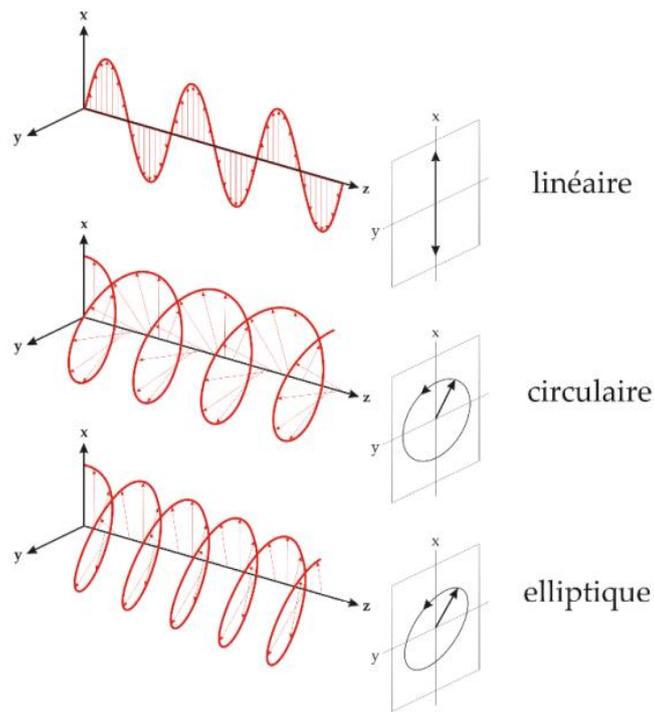


Figure 3-3: Etat de polarisation de l'onde lumineuse. Polarisation linéaire, circulaire, et elliptique.

### 3.1.2 Biréfringence

Les matériaux optiques peuvent être classés en deux grandes catégories :

- a) les matériaux isotropes
- b) les matériaux anisotropes.

Dans les matériaux isotropes, la vitesse de propagation de la lumière est indépendante de la direction de celle-ci par rapport aux matériaux, c'est-à-dire l'indice de réfraction  $n$  est unique (figure 3-4c), quel que soit l'angle que fait le faisceau incident avec le matériau. En revanche, dans le cas des matériaux biréfringents et anisotropes, la valeur de l'indice de réfraction  $n$  n'est pas unique, tout se passe comme si le rayon lumineux se divise en deux rayons dont les champs électriques  $(E_x, E_y)$  vibrent à angle droit l'un par rapport à l'autre (Walter, 1978). Un des rayons, le rayon dit ordinaire à une vitesse de propagation indépendante de l'angle qu'il fait avec le matériau, il est noté  $n_o$ . L'autre rayon s'appelle le rayon extraordinaire parce que sa vitesse de propagation varie selon sa direction par rapport au matériau, il est noté  $n_e$  (figure 3-4a). La vitesse de propagation de ces deux rayons dans un matériau biréfringent et anisotrope varie suivant la nature atomique et physico-chimique de ce dernier. La différence de chemin optique entre deux rayons avec des indices de réfraction différents ( $n_o$ ,  $n_e$ ) définit une différence de marche dans le matériau, et se mesure en nanomètres (nm), (Freeman, 1971), (Brenders P., 2005). Soit  $t_e$  et  $t_o$  le temps de parcours des deux rayons d'indices  $n_e$  et  $n_o$  pour traverser le matériau biréfringent, la différence de marche s'écrit :

$$\Delta = (t_e - t_o)v \quad (3.7)$$

Avec  $v$  la vitesse de propagation de la lumière dans le vide, et  $e$  l'épaisseur du matériau, on peut écrire :

$$\text{Or } V_o = v/n_o \text{ et } V_e = v/n_e$$

$$\Delta = (t_e - t_o)v = \left( \frac{e}{V_e} - \frac{e}{V_o} \right) v = ev \left( \frac{n_e}{v} - \frac{n_o}{v} \right) \quad (3.8)$$

Donc, la différence de chemin optique dans le matériau est définie par:

$$\Delta = e(n_e - n_o) \quad (3.9)$$

En ce sens, la biréfringence du matériau se définit comme la différence de ces deux indices de réfraction, qui est notée:

$$\Delta_n = (n_e - n_o) \quad (3.10)$$

Si  $\Delta_n > 0$  le matériau est dit uni-axial positif. Dans le cas contraire, le matériau est dit uni-axial négatif. Ainsi, parmi les matériaux uni-axiaux existants, on peut citer le quartz, la calcite, les systèmes cristallin de symétrie hexagonale, ou tétragone ou quadratique.

Dans les figures 3-4c et 3.4b-1 le plan de vibration de la lumière incidente est perpendiculaire à l'axe de sélection du rayon extraordinaire, il n'y a pas de division de faisceau, tandis que dans les figures 3-4a et 3.4b-2 le cristal biréfringent est incliné avec un angle  $\theta$ , ce qui entraîne la dissociation des deux rayons, c'est-à-dire le plan de vibration de la lumière incidente n'est plus perpendiculaire à l'axe de sélection du rayon extraordinaire.

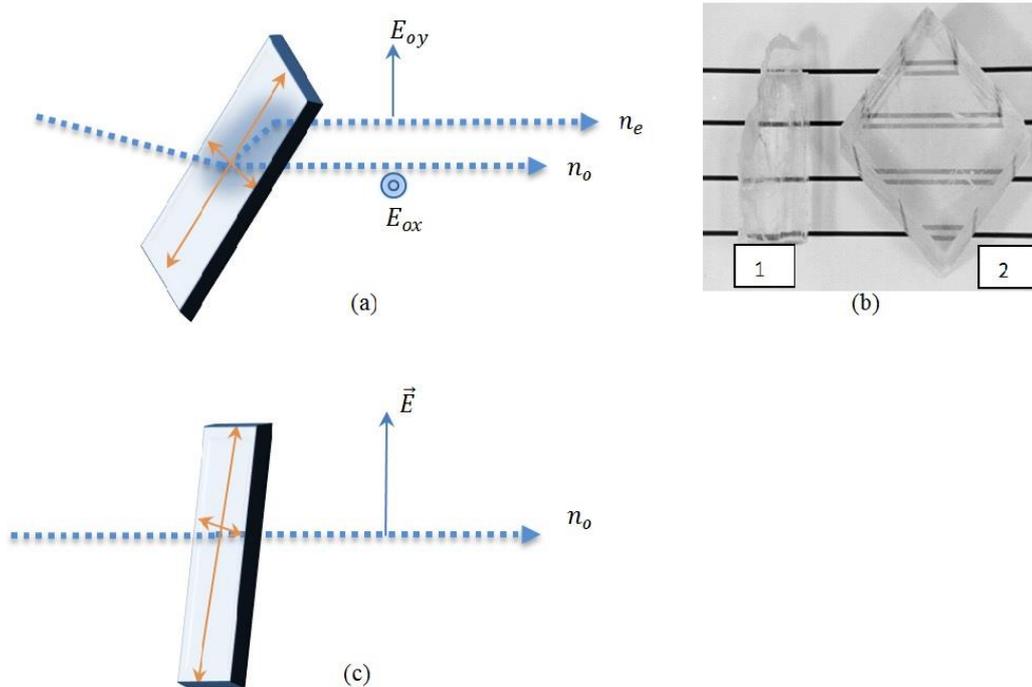


Figure 3-4: Biréfringence d'un matériau anisotrope. (a) schéma détaillé lorsqu'un faisceau de lumière traverse un objet uni-axial biréfringent. Après avoir traversé l'objet, le faisceau lumineux donne naissance à deux rayons qu'on appelle rayon ordinaire et extraordinaire. Cependant, la vitesse de propagation du rayon extraordinaire dépend de l'orientation qu'il fait avec le matériau tandis que le rayon ordinaire est indépendant de l'angle qu'il fait avec le matériau ; (b) c'est l'illustration de ce phénomène dans la vie courante, (Présentation de N. Manset, Polarized light : from basics Instruments). (c) pas de division de faisceau quand la lumière pénètre selon l'axe optique du cristal qui se comporte comme un matériau isotrope.

### 3.1.3 Axe optique

Dans le cas d'un cristal uni-axial biréfringent, l'axe optique se définit comme l'axe permettant d'annuler l'effet de la biréfringence du cristal, c'est-à-dire, quand un faisceau incident pénètre un objet uni-axial biréfringent le long de son axe optique, le faisceau de lumière se propage comme dans un milieu isotrope, il n'y a pas de division de faisceau lumineux. Par contre, au fur et à mesure que le faisceau incident s'écarte de l'axe optique, la biréfringence apparaît progressivement. Le plan de vibration du rayon extraordinaire dépend totalement de la structure physico-chimique du cristal.

### 3.1.4 Polariseurs

Un polariseur est un élément optique capable de modifier de façon inégale l'amplitude des deux composantes  $(E_x, E_y)$  du vecteur champ électrique  $\vec{E}$ . Un polariseur est caractérisé par l'état de polarisation qu'il transmet à sa sortie. La polarisation à la sortie du polariseur peut être linéaire, circulaire ou elliptique, ce qui entraîne la nomination des polariseurs en: polariseur linéaire, circulaire. Pour polariser un faisceau lumineux non polarisé ayant une longueur d'onde connue, la présence d'un polariseur est importante pour polariser le faisceau lumineux dans la direction désirée. Cependant, la

polarisation de ce dernier entraîne des pertes d'intensité considérables (Francois & Wyncke, 2003), (voir formalisme de Mueller). Dans le cas d'un polariseur idéal, c'est seulement 50% de l'intensité incidente qui est transmise. Quand les axes de sélection de deux polariseurs linéaires sont parallèles l'un par rapport à l'autre, l'intensité de la lumière polarisée transmise est maximale, figure 3-5. En revanche, lorsqu'on fait tourner progressivement l'axe de sélection du premier polariseur par rapport à l'axe de sélection du second polariseur, l'intensité de la lumière polarisée transmise diminue au fur et à mesure, et devient nulle quand les deux axes de sélection sont totalement orthogonaux l'un par rapport à l'autre.

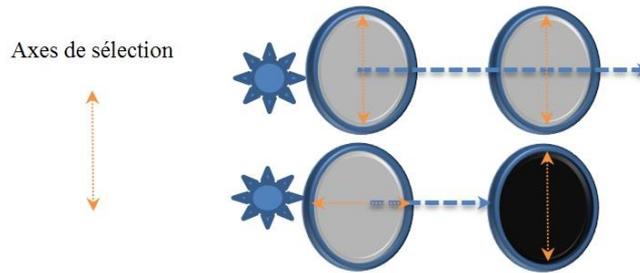


Figure 3-5 : Parallélisme et orthogonalité des axes de sélection des deux polariseurs linéaires. Quand les axes de sélection des deux polariseurs sont parallèles, l'intensité de la lumière polarisée transmise est au maximum, tandis que l'amplitude ou l'intensité de la lumière est nulle quand les axes de sélection des deux polariseurs sont orthogonaux.

Cette absorption sélective est basée sur le croisement des axes de sélection des deux polariseurs linéaires. La variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise varie comme le carré du cosinus, et selon la loi de Malus, cette valeur d'intensité transmise a pour expression :

$$I_{transmise} = I_0 \cos^2 \alpha \quad (3.11)$$

Les polariseurs possèdent toutes les propriétés de la biréfringence des cristaux.

### 3.1.4.1 Polariseur linéaire

Lorsqu'un faisceau lumineux non polarisée traverse un polariseur linéaire, ce dernier a la propriété de laisser passer ce faisceau dans une seule direction suivant l'axe de sélection du polariseur. Quand l'axe de sélection du polariseur est orienté à 0 degré (direction principale de propagation) par rapport à l'axe  $Ox$ , la composante verticale du vecteur champ électrique  $\vec{E}$  vaut zéro, c'est à dire  $E_{oy} = 0$ . En revanche, si l'axe de sélection du polariseur est orienté à  $\pi/2$  par rapport à l'axe  $Ox$ , la composante horizontale du vecteur champ électrique  $\vec{E}$  est nulle, c'est-à-dire  $E_{ox} = 0$ . Cependant, si l'axe de sélection du polariseur est orienté à  $\pi/4$  par rapport l'axe  $Ox$ , les deux composantes du vecteur champ électrique  $\vec{E}$  ne sont pas nulles mais déphasées l'une par rapport à l'autre. La rotation du vecteur du champ électrique résultant  $\vec{E}$  dessine une ellipse et la polarisation est dite elliptique. Le degré d'aplanissement de l'ellipse ou l'ellipticité peut être calculé avec l'équation 3.5 et 3.6.

### 3.1.4.2 *Lame quart d'onde*

Les lames quart d'onde ou lame  $\lambda/4$  sont basées sur le même principe des polariseurs. Ce sont des lames à faces parallèles taillées dans un milieu anisotrope, ces lames permettent de produire des polarisations circulaires droites ou gauches. Elles présentent deux directions de vibration orthogonales  $(E_x, E_y)$  parfois appelées lignes neutres ou axes optiques. Elles sont construites pour que les amplitudes des deux composantes  $(A_x = A_y)$  du champ électrique soient égales, et le déphasage  $\varphi = \frac{2\pi e\Delta n}{\lambda} = \varphi_x - \varphi_y = (2k + 1)\pi/2$ . Quand un faisceau lumineux déjà polarisé traverse une lame quart d'onde, les vitesses de propagation de  $n_e$ , et  $n_o$  sont différentes; il en résulte un retard de phase qui vaut  $(2k + 1)\pi/2$  soit un quart de la longueur d'onde. Ces lames sont capables de convertir une polarisation rectiligne en polarisation circulaire et vice versa, selon le montage optique considéré. Quand les lignes neutres de la lame  $\lambda/4$  sont alignées avec les axes de l'ellipse, la polarisation elliptique devient une polarisation linéaire.

La combinaison d'un polariseur linéaire, avec son axe de sélection orienté à 45 degrés par rapport à une lame quart d'onde qui est elle-même orientée à 0 degré par rapport à l'axe  $ox$ , permet d'obtenir une polarisation circulaire, ce montage (polariseur+ $\lambda/4$ ) est souvent appelé «polariseur circulaire».

## 3.2 Formalisme

Pour étudier la lumière polarisée, il existe deux formalismes matriciels permettant d'aborder ce sujet sans passer par les propriétés transversales de l'onde électromagnétique ou les équations de Maxwell. Le formalisme de Jones permet de résoudre le problème de la superposition des faisceaux lumineux (faisceau émis de façon ordonnée), dans lesquels les amplitudes s'additionnent. Ce formalisme est représenté par une matrice  $2 \times 2$  avec des quantités complexes difficilement mesurables, telles que l'amplitude et la phase de l'onde lumineuse (Jones, 1941). Le formalisme de Mueller est une matrice  $4 \times 4$ , avec 16 degrés de libertés et est basé sur l'intensité de la lumière qui est une grandeur physique mesurable. Il permet de résoudre la superposition de l'intensité des faisceaux lumineux. La sphère de Poincaré (Poincaré, 1892) et la matrice de cohérence (Wolf, 1983) permettent aussi d'étudier les états de polarisation de la lumière.

Dans cette étude, nous ne développons que le formalisme de Mueller car il est mesurable, et se trouve plus adapté à une réalisation expérimentale.

### 3.2.1 Paramètre de Stokes

En 1852, Sir Gabriel Stokes a démontré que la polarisation de la lumière peut être représentée par quatre grandeurs physiques mesurables (Stokes, 1852), dont le premier terme  $S_0$  représente

l'intensité totale de la lumière, et les trois autres paramètres ( $S_1, S_2, S_3$ ) décrivent les états de polarisation de la lumière. La représentation des paramètres de Stokes en fonction de l'intensité de l'onde électromagnétique est nécessaire, car cette grandeur physique peut être observée et mesurée expérimentalement, tandis qu'une représentation au niveau de l'amplitude du champ électrique de l'onde électromagnétique ne peut pas être observée expérimentalement. Mathématiquement, il est toujours possible de raisonner sur l'amplitude de l'onde électromagnétique, c'est-à-dire que les paramètres de Stokes peuvent être calculés en fonction de l'intensité ou de l'amplitude de la lumière. Lorsqu'une onde plane monochromatique se propage dans l'espace suivant l'axe  $z$  positif, les deux composantes orthogonales  $E_{ox}, E_{oy}$  du champ électrique  $E_z$  ne sont pas nulles dans le plan de l'onde, ce qui revient à écrire :

$$\begin{cases} E_x(t) = A_x \cos(\omega t + \varphi_x) \\ E_y(t) = A_y \cos(\omega t + \varphi_y) \\ E_z(t) = 0 \end{cases} \quad (3.12)$$

$A_x$  et  $A_y$  représentent l'amplitude de l'onde, tandis que  $\varphi_x$  et  $\varphi_y$  sont la phase de l'onde suivant  $Ox$  et  $Oy$ . En effet, les deux composantes orthogonales du champ électrique  $E_z$  dépendent du temps et de la durée spatiale de l'onde. Avec l'élimination du terme en  $\omega t$  et en posant  $\varphi = \varphi_x - \varphi_y$ , l'équation précédente devient celle d'une ellipse mais en fonction du temps, ce qui permet d'écrire :

$$\left( \frac{E_x(t)}{A_x} \right)^2 + \left( \frac{E_y(t)}{A_y} \right)^2 - 2 \frac{E_x(t)E_y(t)}{A_x A_y} \cos\varphi = \sin^2\varphi \quad (3.13)$$

Jusqu'à maintenant l'équation de l'ellipse est toujours en fonction du temps, et les amplitudes  $A_x$  et  $A_y$  sont des constantes. Pour représenter l'onde lumineuse en fonction des quantités observables et mesurables, il faut calculer la valeur moyenne temporelle de l'onde sur le temps d'intégration, et l'ellipse devient :

$$\langle E_x(t)^2 \rangle / A_x + \langle E_y(t)^2 \rangle / A_y - 2 \langle E_x(t)E_y(t) \rangle / A_x A_y \cos\varphi = \sin^2\varphi \quad (3.14)$$

Où  $\langle \quad \rangle$  désigne la moyenne temporelle

Dans le cas d'une onde totalement polarisée, les paramètres de Stokes peuvent être reliés aux paramètres géométriques de l'ellipse de polarisation, tel que :

$$\theta = 1/2 \tan^{-1} \left( S_2 / S_1 \right) \quad (3.15)$$

$$\varepsilon = b/a = 1/2 \sin^{-1} \left( \frac{S_3}{S_0 + \sqrt{S_1^2 + S_2^2}} \right) \quad (3.16)$$

Et l'excentricité de l'ellipse :

$$\epsilon = \sqrt{1 - \varepsilon^2} \quad (3.17)$$

Après un calcul de la moyenne du temps d'intégration de l'onde lumineuse, et simplifications au niveau de l'amplitude et du champ électrique, les paramètres de Stokes peuvent s'écrire de la façon suivante :

$$\begin{cases} S_0 = A_x^2 + A_y^2 \\ S_1 = A_x^2 - A_y^2 \\ S_2 = 2A_x A_y \cos\varphi \\ S_3 = 2A_x A_y \sin\varphi \end{cases} \quad (3.18)$$

avec

$$Amp^2 = A_x^2 + A_y^2 = I \quad (3.19)$$

Après la normalisation ( $Amp^2 = 1$ ) des paramètres de Stokes (Azam, 1989), (Shurcliff, 1962) il est possible de déterminer la valeur de chaque paramètre selon l'état de polarisation considérée. Généralement, les paramètres de stokes pour une onde lumineuse quasiment monochromatique, s'expriment :

$$\begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \langle E_x^2 \rangle + \langle E_y^2 \rangle \\ \langle E_x^2 \rangle - \langle E_y^2 \rangle \\ 2\langle E_x E_y \cos\varphi \rangle \\ 2\langle E_x E_y \sin\varphi \rangle \end{bmatrix} \quad (3.20)$$

Mathématiquement, ce n'est pas un vecteur. Comme les paramètres de Stokes s'écrivent sous la forme d'une matrice colonne, or la notation de vecteur s'applique à toute matrice colonne, ce qui permet de les considérer comme un vecteur. Dans le cas d'une polarisation totale de la lumière, le vecteur de Stokes vérifie l'égalité suivante :

$$S_0^2 = S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 \quad (3.21)$$

Dans le cas contraire :

$$S_0^2 \geq S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 \quad (3.22)$$

Pour chaque état de polarisation de la lumière, il est possible de déterminer le degré de polarisation de la lumière par les équations suivantes :

Degré de polarisation

$$DP = I_{pol} / I_{totale} = \sqrt{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2} / S_0 \quad (3.23)$$

Degré de polarisation linéaire,  $S_3 = 0$

$$DPL = \sqrt{S_1^2 + S_2^2} / S_0 \quad (3.24)$$

Degré de polarisation circulaire,  $S_1 = S_2 = 0$

$$DPC = S_3 / S_0 \quad (3.25)$$

Avec  $0 \leq DP \leq 1$

$DP = 0$  : la lumière est non polarisée,

$DP = 1$  : la lumière est totalement polarisée,

$0 < DP < 1$  : la lumière est partiellement polarisée.

Parfois, au sein d'un même faisceau lumineux coïncident des ondes polarisées et des ondes non polarisées. Dans ce cas, DP est inférieur à 1 et selon (Collett, 1992), (R. A. Chipman, 1995) cette polarisation dite polarisation partielle peut être considérée comme une superposition complète des vecteurs de Stokes polarisés. En ce sens, le vecteur de Stokes peut être décomposé en la somme de deux vecteurs de Stokes qui sont :  $\vec{S}_p$  (polarisé) et  $\vec{S}_{np}$  (non polarisé). Le vecteur de Stokes s'écrit:

$$\vec{S} = \vec{S}_p + \vec{S}_{np} = \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = S_0 DP \begin{bmatrix} 1 \\ S_1 / (S_0 DP) \\ S_2 / (S_0 DP) \\ S_3 / (S_0 DP) \end{bmatrix} + S_0 (1 - DP) \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (3.26)$$

ou

$$\vec{S} = \vec{S}_p + \vec{S}_{np} = \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sqrt{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2} \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} S_0 - \sqrt{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2} \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (3.27)$$

Lorsqu'un matériau biréfringent se trouve dans la trajectoire d'une onde déjà polarisée, le vecteur de Stokes en fonction de l'intensité de la lumière transmise à travers le matériau peut s'écrire totalement en fonction de l'intensité de la lumière,

$$\begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} I_x + I_y \\ I_x - I_y \\ I_{45} - I_{-45} \\ I_d - I_g \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} I_0 + I_{90} \\ I_0 - I_{90} \\ I_{45} - I_{-45} \\ I_d - I_g \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} I_{totale} \\ I_0 - I_{90} \\ I_{45} - I_{-45} \\ I_d - I_g \end{bmatrix} \quad (3.28)$$

Pour mesurer les éléments de Stokes dans un système optique, il faut produire et mesurer les six intensités de la lumière polarisée.

Le premier terme  $S_0 = I_0 + I_{90} = I_{totale}$  représente l'intensité totale de la lumière transmise à travers un matériau biréfringent. Pour mesurer expérimentalement le premier élément du vecteur de Stokes, la présence de deux polariseurs linéaires s'avère importante, avec leurs axes de sélection orientés respectivement à 0 ( $I_0$ ) degré (la polarisation est dite horizontale) et à 90 ( $I_{90}$ ) degrés (la polarisation est dite verticale). L'addition de ces deux intensités déterminent l'intensité maximum dans le système optique, et leur différences définissent le deuxième élément de Stokes le  $S_1$ .

Quand les axe de sélection des deux polariseurs linéaires sont orientés à +45 ( $I_{45}$ ) puis à -45 degrés ( $I_{-45}$ ) par rapport à l'axe  $Ox$ , la différence de ces deux intensités permet de mesurer le second élément de Stokes  $S_2$ .

Quand un polariseur linéaire (figure 3-6, rond bleu) avec à son axe de sélection orienté à 0 degré par rapport à l'axe  $Ox$  est suivi d'une lame quart d'onde (figure 3-6, rond noir) avec l'un de ces axes neutres placé à +45 degrés par rapport à l'axe de sélection de ce dernier, l'état de polarisation de l'onde lumineuse à la sortie de la lame quart d'onde est dite circulaire droite ( $I_d$ ). Cependant, si l'un des axes neutres de la lame quart d'onde est orienté à 135 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur linéaire, on parle de polarisation circulaire gauche ( $I_g$ ). Ceci permet de mesurer le paramètre  $S_3$ .

Selon (Collett, 1992), et (Francois & Wyncke, 2003), l'introduction d'une lame quart d'onde perturbe le paramètre  $S_3$ , car ce polariseur absorbe une quantité d'énergie, contrairement à ce qui se passe dans la mesure des trois autres paramètres. Pour une mesure précise des paramètres de Stokes, il est nécessaire de connaître le coefficient d'absorption de la lame pleine onde.

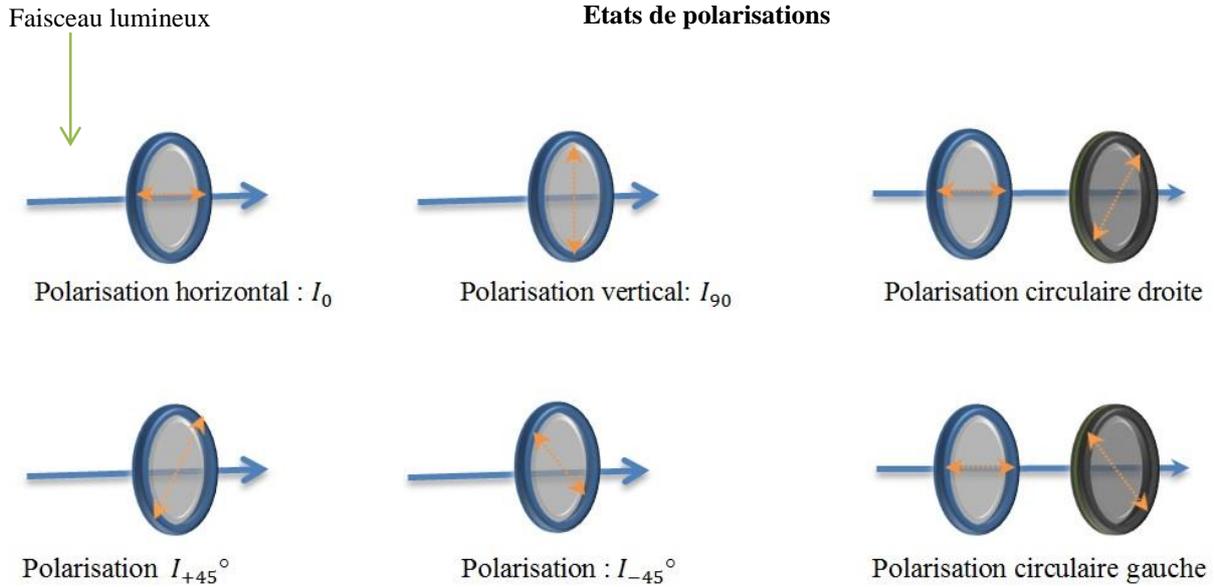


Figure 3-6 : Faisabilité physique pour obtenir les vecteurs de Stokes. Une présentation expérimentale et basique des différents états de polarisation de la lumière. Les différentes positions des polariseurs linéaires et circulaires permettent de mesurer expérimentalement le vecteur de Stokes dans le banc optique. D’autres équipements optiques (lame demie- onde, lame pleine-onde variable) peuvent être ajoutés dans ce montage pour mesurer le vecteur de Stokes (polariseur : rond bleu, lame quart d’onde : rond noir).

Le tableau ci-dessous résume les différents états de polarisation des vecteurs de Stokes normalisés.

Vecteur de Stokes	H	V	+45	-45	CD	CG	Elliptique
$\begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ -1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ -1 \\ 0 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ -1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ \cos 2\epsilon \cos 2\theta \\ \sin 2\epsilon \sin 2\theta \\ \sin 2\epsilon \end{bmatrix}$

Tableau 1 : Vecteurs de Stokes.

### 3.2.2 Formalisme de Jones

En 1940, Robert Clark Jones présente un formalisme matriciel qui permet de représenter l’état de polarisation d’une onde plane et monochromatique, (Jones R. , 1941,1947,1956), (Jones R. C., 1941). Quand un objet biréfringent, totalement homogène, se trouve dans la trajectoire d’une onde totalement polarisée, le vecteur champ électrique  $\vec{E}$  vibre dans la direction de propagation de l’onde, et l’onde reste toujours polarisée après avoir traversé l’objet biréfringent. Cependant, la nature physico-chimique de l’objet biréfringent peut modifier l’état de polarisation de l’onde lumineuse ou de la lumière en créant un déphasage égal ou inégale entre les deux composantes orthogonales du vecteur champ électrique  $\vec{E}$ . Si le vecteur champ électrique  $\vec{E}$  reste uniforme dans le milieu optique, la matrice de Jones à coefficients complexes permet d’étudier le comportement de l’onde, et de l’objet biréfringent. Ce formalisme s’applique uniquement si les conditions ci-dessous sont réunies :

- a) une onde plane

- b) une onde parfaitement monochromatique
- c) une onde totalement polarisée

La représentation complexe du champ électrique selon Jones permet d'écrire :

$$\vec{E} = \begin{cases} E_x = A_x e^{i(kz - \omega t + \varphi_x)} \\ E_y = A_y e^{i(kz - \omega t + \varphi_y)} \end{cases} \quad (3.29)$$

Par élimination du terme de propagation d'onde  $(kz - \omega t)$ , l'équation devient :

$$\vec{E} = \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} A_x e^{i(\varphi_x)} \\ A_y e^{i(\varphi_y)} \end{pmatrix} \quad (3.30)$$

Le vecteur de Jones contient toute l'information nécessaire sur l'état de polarisation de l'onde, principalement sur l'amplitude et la phase des deux composantes orthogonales du vecteur champ électrique. Ce formalisme peut être défini par trois paramètres de polarimétrie qui sont :  $A_x, A_y, \varphi$ , en posant  $\varphi = \varphi_x - \varphi_y$  ou par les trois derniers éléments du vecteur de Stokes  $(S_1, S_2, S_3)$  dans le cas d'une onde totalement polarisée. Ceci permet de décrire de manière simple et unique les caractéristiques de l'onde lumineuse. Dans un système optique non dépolarisant, la matrice de Jones  $\mathbf{J}$  est représentée par une matrice  $2 \times 2$ , et l'interaction du milieu totalement polarisé avec le système optique est définie suivant l'équation :

$$E_{entré} = \mathbf{J} E_{sortie} \quad (3.31)$$

Avec l'équation 3.31, il est possible d'en déduire la matrice de Jones pour un polariseur linéaire ou circulaire. Lorsqu'un objet biréfringent et homogène est traversé par une onde lumineuse totalement polarisée, il est possible d'avoir une atténuation totale de l'une ou des deux composantes  $(E_x, E_y)$  du champ électrique ou d'avoir un retard de phase entre les deux.

Le tableau suivant représente les vecteurs de Jones normés.

Vecteurs Jones	H	V	+45	-45	CD	CG	Elliptique
$\vec{J}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 0 \\ 1 \end{bmatrix}$	$\frac{1}{\sqrt{2}} \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \end{bmatrix}$	$\frac{1}{\sqrt{2}} \begin{bmatrix} 1 \\ -1 \end{bmatrix}$	$\frac{1}{\sqrt{2}} \begin{bmatrix} 1 \\ -i \end{bmatrix}$	$\frac{1}{\sqrt{2}} \begin{bmatrix} 1 \\ i \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} \cos 2\theta \cos \varepsilon - i \sin 2\theta \sin 2\varepsilon \\ \sin 2\theta \cos 2\varepsilon + i \cos 2\theta \sin 2\varepsilon \end{bmatrix}$

Tableau 2 : Vecteurs de Jones.

Dans le cas de la superposition de plusieurs ondes lumineuses, la somme des vecteurs de Stokes est possible si la superposition est incohérente (onde non polarisée), sinon la somme des vecteurs de Jones est possible.

Quand dans un système optique les objets biréfringents sont disposés en cascade, la matrice de Jones de l'ensemble est le produit des matrices de Jones formant cette cascade, tel que :

$$E_{entré} = J_n J_{n-1} J_{n-2} \dots J E_{sortie} \quad (3.32)$$

Cependant, si le vecteur champ électrique évolue de façon aléatoire au sein du même faisceau, l'onde lumineuse n'est plus totalement polarisée, la matrice de Jones se révèle incomplète et doit céder la place au formalisme de Mueller.

### 3.2.3 Sphère de Poincaré

En 1892, Henri Poincaré publia son ouvrage intitulé « La Théorie des Mathématiques de la Lumière » tome 2 (Poincaré, 1892), dans lequel il définit par des calculs géométriques tous les états de polarisation de la lumière sur une sphère dite Sphère de Poincaré. La représentation géométrique de Poincaré est parfaitement adaptée à l'optique cristalline car tous les états de polarisations peuvent être représentés dans la sphère de rayon 1 (Azzam, 2000). Les pôles nord et sud représentent une polarisation circulaire droite ou gauche, les points situés sur l'équateur sont des états de polarisation linéaires tandis que les autres points représentent une polarisation linéaire. Ces calculs s'appuient directement sur les vecteurs de Stokes normalisés, car pour un état  $S$  donné, les coordonnées cartésiennes sont  $(S_1/S_0, S_2/S_0, S_3/S_0)$  ou pour les coordonnées sphériques  $(p; 2\theta; 2\varepsilon)$ . Avec un taux de polarisation  $p$  compris entre 0 et 1.

Un point  $p$  quelconque sur la sphère est caractérisé par  $\theta$  et  $\varepsilon$ . Ce point représente un état de polarisation, et peut être écrit en fonction des vecteurs de Stokes réduits ou normalisés (Mac Born, 1986).

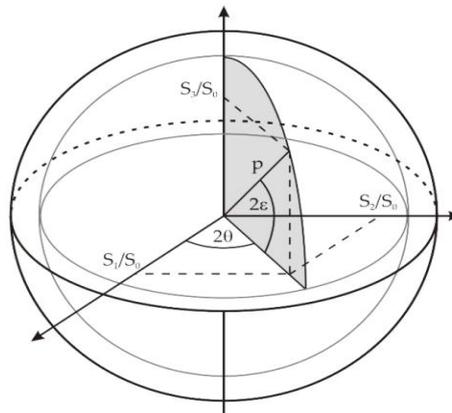


Figure 3-7 Sphère de Poincaré.

Le vecteur  $\vec{P}$  sur la sphère peut s'écrire :

$$\vec{P} \begin{cases} S_1/S_0 = \cos 2\theta \cos 2\varepsilon \\ S_2/S_0 = \sin 2\theta \cos 2\varepsilon \\ S_3/S_0 = \sin 2\varepsilon \\ S_0 = 1 \end{cases} \Leftrightarrow \begin{cases} S_1/S_0 = I \cos 2\theta \cos 2\varepsilon \\ S_2/S_0 = I \sin 2\theta \cos 2\varepsilon \\ S_3/S_0 = I \sin 2\varepsilon \\ S_0 = I \end{cases} \quad (3.33)$$

### 3.2.4 Formalisme de Mueller

Bien qu'il eut un prédécesseur (Soleillet, 1929), c'est en 1940 qu'Hans Mueller fut considéré le premier à avoir l'idée de démontrer que tout élément optique peut être représenté sous la forme d'une matrice 4x4, de 16 degrés de liberté, c'est-à-dire, 16 quantités physiques, réelles et mesurables. L'avantage majeur du formalisme de Mueller est le fait qu'il est basé sur l'exploitation de l'intensité de la lumière quel que soient les états de polarisation. De nos jours, il est possible de mesurer expérimentalement l'intensité de la lumière ce qui n'était pas le cas quand Stokes avait défini les quatre états de polarisation de la lumière. Ce formalisme permet d'étudier

- a) lumière totalement polarisée
- b) lumière partiellement polarisée
- c) lumière non polarisée.

Contrairement au formalisme de Jones qui étudie seulement le cas où la lumière est totalement polarisée, la matrice de Mueller prend en compte tous les états de polarisation (Mueller, 1948). Ainsi, Mueller utilisa les travaux de Stokes pour compléter sa théorie car le vecteur de Stokes  $\vec{S}$  ouvre la voie à un outil mathématique très puissant permettant de d'écrire l'interaction atomique et structurale de la lumière avec la matière. L'exploitation de la matrice de Mueller permet d'avoir aussi un système dont le contraste est basé sur les propriétés de polarimétrie du milieu observé. En ce sens, quand un matériau biréfringent est placé dans la trajectoire d'une onde déjà polarisée, le vecteur de Stokes à l'entrée et à la sortie du matériau permet de calculer ou de mesurer la matrice de Mueller correspondant ( $M$ ) :

$$\vec{S}'_{sortie} = M \cdot \vec{S}_{entrée} \quad (3.34)$$

$$\begin{bmatrix} S'_0 \\ S'_1 \\ S'_2 \\ S'_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} m_{00} & m_{01} & m_{02} & m_{03} \\ m_{10} & m_{11} & m_{12} & m_{13} \\ m_{20} & m_{21} & m_{22} & m_{23} \\ m_{30} & m_{31} & m_{32} & m_{33} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} \quad (3.35)$$

Dans un banc optique où les éléments du système sont montés en cascade, la matrice de Mueller du système est le produit des matrices de Mueller de chaque élément, tel que :

$$M_{sortie} = M_n M_{n-1} \dots M_2 M_1 \quad (3.36)$$

$$\vec{S}'_{sortie} = [M_n][M_{n-1}] \dots [M_2][M_1] \vec{S}_{entrée} \quad (3.37)$$

En pratique, la matrice de Mueller normalisée fournit l'information sur la polarimétrie du système; le terme  $m_{00}$  représente l'intensité totale du milieu optique ou la transmission de l'échantillon en lumière dépolarisée, ou l'intensité totale.

### 3.2.5 Faisabilité physique de la matrice de Mueller

Toute matrice  $4 \times 4$  n'est pas obligatoirement une matrice de Mueller. Elle est dite Mueller seulement lorsque les vecteurs de Stokes d'entrée et de sortie sont physiquement admissibles. Pour qu'un vecteur de Stokes soit considéré physiquement admissible, il doit vérifier les équations 3.21 et 3.23. Les conditions d'admissibilité physique sont largement étudiées dans la littérature (Hovenier, 1986), (Barakat, 1987), (Cloude, 1989), (Girgel, 1991), (Xing, 1992), (Kumar, 1992), (van der Mee C. ..., 1992), (Kostinski, 1993), (Gil, 2000), (van der Mee C. V., 1993), (Christian Brosseau, 1993), (Alexander B. Kostinski, 1993), (R. A. Chipman, 1995). D'après ces auteurs, une matrice de Mueller expérimentale est considérée comme matrice de Mueller si :

$$\left\{ \begin{array}{l} Tr(MM^T) \leq 4 m_{00} \\ m_{00} \geq |m_{ij}| \\ m_{00} \geq b^2 \\ (m_{00} - b)^2 \geq \sum_{j=1}^3 \left( m_{0j} - \sum_{k=1}^3 m_{j,k} a_k \right) \\ m_{00} + b^2 \leq 1 \\ m_{00} + \sqrt{m_{10}^2 + m_{20}^2 + m_{30}^2} \leq 1 \end{array} \right.$$

avec

$$b = \sqrt{m_{01}^2 + m_{02}^2 + m_{03}^2}$$

$$a_k = m_{0j}/b$$

Dans la thèse de Ainouz (2006) il a été démontré que la matrice de Mueller  $M$  expérimentale du radio-collimateur de Howell (Howell, 1979) connu pour son caractère non physique peut être vérifiée par la condition de Givens et Kostinski (Alexander B. Kostinski, 1993), qui est une condition nécessaire et suffisante, parce qu'elle est basée sur l'utilisation de la métrique de Lorentz qui est définie par  $G = diag[1, -1, -1, -1]$ . Une matrice  $M = (m_{ij})_{ij=0,1,2,3}$  est dite Mueller si :

1.  $m_{00} > 0$
2. Le spectre de  $GM^tGM$  est réel
3. Le vecteur propre associé à la plus grande valeur propre est un vecteur Stokes physique.

Malheureusement, la matrice  $M$  expérimentale du radio-collimateur ne respecte pas les conditions nécessaires pour être considérée comme une matrice de Mueller physiquement réalisable selon le Givens et Kostinski.

Selon (Laude-Boulesteix, 2004), (Hatit, 2009), une matrice de Mueller est physiquement réalisable, si les valeurs propres de sa matrice hermitienne  $H(M)$  associée sont toutes positives ou nulles.

Soit  $I$  une source de lumière non polarisée, caractérisée par son vecteur de Stokes  $\vec{S} (I, 0, 0, 0)$ , et  $M$  la matrice de Mueller d'un polariseur idéal avec son axe de sélection orienté à 45 degrés par rapport à l'axe  $Ox$ . Selon l'équation 3.35, il est possible d'écrire :

$$\begin{bmatrix} S'_0 \\ S'_1 \\ S'_2 \\ S'_3 \end{bmatrix} = 0,5 \begin{bmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} I \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} = 0,5I \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (3.38)$$

Donc l'intensité totale de la lumière non polarisée après avoir traversé le polariseur linéaire vaut  $0,5 I$  ; l'intensité de la lumière est la moitié de ce qu'elle était avant la traversée du polariseur.

Soit  $T$  une source de lumière déjà polarisée caractérisée par son vecteur de Stokes  $\vec{S} (1, 1, 0, 0)$ , et  $M$  une matrice de Mueller d'une lame quart d'onde orientée à  $\pm 45$  degrés par rapport au polariseur, on a :

$$\begin{bmatrix} S'_0 \\ S'_1 \\ S'_2 \\ S'_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \pm 1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & \pm 1 & 0 & 0 \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ \pm 1 \end{bmatrix} \quad (3.39)$$

A la sortie de la lame quart d'onde, la polarisation est circulaire droite ou gauche. Les résultats obtenus de l'équation 3.38 et 3.39 sont conformes avec les valeurs dans le tableau 1.

### 3.2.6 Composant optique de polarisation

### 3.2.7 Dichroïsme :

Un matériau totalement homogène est dit diatténuateur ou dichroïque si dans l'interaction avec la lumière il présente une anisotropie spatiale d'absorption et donc de transmission. Les structures physico-chimiques d'un tel matériau engendrent une modification de l'état de polarisation de la lumière qui est caractérisé par une modification de l'amplitude des composantes du champ électrique. Dans le cas où la phase de l'onde électromagnétique incidente n'est pas modifiée, le taux de transmission énergétique maximal  $T_{max}$  et minimal  $T_{min}$  de l'élément dichroïque, correspond à la transmission selon ses deux axes orthogonaux. Un diatténuateur scalaire se définit par :

$$D = \frac{(T_{max} - T_{min})}{(T_{max} + T_{min})} \quad 0 \leq D \leq 1 \quad (3.40)$$

Si

$D = 1$  : l'élément est un polariseur parfait

$0 < D < 1$  : l'élément est un polariseur partiel

$D = 0$  : l'élément non polariseur ; la transmission en intensité est indépendante de l'état de polarisation de l'onde.

Dans le cas d'une onde non polarisée, la transmittance se définit par :

$$T_o = (T_{max} + T_{min})/2 \quad (3.41)$$

Le taux d'extinction est défini par l'expression suivante :

$$\tau = T_{max}/T_{min} \quad (3.42)$$

Comme la matrice de Mueller est basée entièrement sur l'intensité de la lumière et non sur son amplitude, la valeur scalaire du taux de transmission en intensité (Collet, 2003) peut être lue directement sur la première ligne de la matrice de Mueller et se définit par :

$$T_{max} = m_{00} + \sqrt{m_{01}^2 + m_{02}^2 + m_{03}^2} \quad (3.43)$$

$$T_{min} = m_{00} - \sqrt{m_{01}^2 + m_{02}^2 + m_{03}^2} \quad (3.44)$$

Il est possible de lire les états de polarisation liés à ces taux de transmission par le vecteur de Stokes; on a :

$$\vec{S}_{max} = 1/m_{00} D \begin{bmatrix} 1 \\ m_{02} \\ m_{03} \\ m_{04} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ d_1 \\ d_2 \\ d_3 \end{bmatrix} \quad \text{et} \quad \vec{S}_{min} = -1/m_{00} D \begin{bmatrix} 1 \\ m_{02} \\ m_{03} \\ m_{04} \end{bmatrix} = - \begin{bmatrix} 1 \\ d_1 \\ d_2 \\ d_3 \end{bmatrix} \quad (3.45)$$

$\vec{S}_{max}, \vec{S}_{min}$  sont deux vecteurs totalement polarisés et orthogonaux, dont  $S_{max}$  définit l'axe principal du diatténuateur. Soit  $(1, d_1, d_2, d_3)^T$  le vecteur de Stokes décrivant l'état propre de polarisation associé à  $T_{max}$ . En remplaçant l'équation 3.43 dans l'équation 3.40, le dichroïsme scalaire de l'élément devient :

$$D = \sqrt{m_{01}^2 + m_{02}^2 + m_{03}^2} / m_{00} \quad (3.46)$$

Si les états propres de l'élément dichroïque sont linéaires, circulaires, ou elliptiques dans ce cas, l'élément dichroïque est appelé polariseur linéaire, circulaire ou elliptique. La définition scalaire de l'élément dichroïque est nécessaire mais pas suffisante car plusieurs éléments optiques (diatténuateur) peuvent avoir la même diatténuateur  $D$ . Quand le taux de transmission  $T$  de la polarisation est beaucoup plus élevé dans une direction spécifique, celle-ci est considérée comme la direction principale de transmission et la valeur de 1 lui est associée dans le cas d'un diatténuateur pure et homogène. Le vecteur de Stokes  $\vec{S} = (1, d_1, d_2, d_3)^T$  associé à un tel état propre de polarisation revient à définir  $D$  par :

$$\vec{D} = D \begin{bmatrix} d_1 \\ d_2 \\ d_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} D_H \\ D_{45} \\ D_C \end{bmatrix} = 1/m_{00} \begin{bmatrix} m_{01} \\ m_{02} \\ m_{03} \end{bmatrix} \quad (3.47)$$

Le diatténuateur linéaire est défini par :

$$D_L = \sqrt{D_H^2 + D_{45}^2} \quad (3.48)$$

Le diatténuateur scalaire peut être redéfini par :

$$D = |\vec{D}| = \sqrt{D_H^2 + D_{45}^2 + D_C^2} = \sqrt{D_L^2 + D_C^2} \quad (3.49)$$

Le vecteur de Stokes peut être réécrit mathématiquement,

$$\vec{S}_{max} = \begin{bmatrix} 1 \\ \vec{D}/D \end{bmatrix} = \text{et} -\vec{S}_{max} = \begin{bmatrix} 1 \\ -\vec{D}/D \end{bmatrix} \quad (3.50)$$

En reprenant la définition du diatténuateur de l'équation 3.40, vectoriellement il est possible d'écrire :

$$\vec{D} = \begin{bmatrix} D_H \\ D_{45} \\ D_C \end{bmatrix} = D \begin{bmatrix} d_1 \\ d_2 \\ d_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} m_{01}/m_{00} \\ m_{02}/m_{00} \\ m_{03}/m_{00} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} (T_H - T_V)/(T_H + T_V) \\ (T_{45} - T_{135})/(T_{45} + T_{135}) \\ (T_D - T_G)/(T_D + T_G) \end{bmatrix} \quad (3.51)$$

Dans le cas d'un polariseur orienté à un azimut  $\theta$  et une ellipticité  $\tan(2\varepsilon)$ , les valeurs de  $d_1, d_2, d_3$  peuvent être calculées directement par la formule ci-dessous :

$$\vec{D} = D \begin{bmatrix} \cos 2\varepsilon \cos 2\theta \\ \sin 2\varepsilon \sin 2\theta \\ \sin 2\varepsilon \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} d_1 = \cos 2\varepsilon \cos 2\theta \\ d_2 = \sin 2\varepsilon \sin 2\theta \\ d_3 = \sin 2\varepsilon \end{bmatrix} \quad (3.52)$$

En ce sens, la matrice de Mueller pour un élément dichroïque ou diatténuateur est de la forme :

$$M_D = T_u \begin{bmatrix} 1 & \vec{D}^T \\ \vec{D} & m_D \end{bmatrix} \quad (3.53)$$

Avec

$$m_D = (1 - D^2)^{1/2} I + (1 - (1 - D^2)^{1/2}) \hat{D} \hat{D}^T \quad (3.54)$$

Où  $I$  est la matrice identité  $3 \times 3$ ,  $\hat{D} = \vec{D}/|\vec{D}|$  le vecteur unitaire selon la direction  $\vec{D}$ ,  $T_u$  la transmittance maximum, et  $m_D$  est la matrice réduite  $3 \times 3$ .

Pour  $D = 1$ , le diatténuateur est un polariseur idéal qui peut transformer une onde totalement dépolarisée en une onde totalement polarisée. Après calcul et simplification, la matrice de Mueller pour un diatténuateur est :

$$M_D = \begin{bmatrix} M_{D00} & M_{D01} & M_{D02} & M_{D03} \\ M_{D10} & M_{D11} & M_{D12} & M_{D13} \\ M_{D20} & M_{D21} & M_{D22} & M_{D23} \\ M_{D30} & M_{D31} & M_{D32} & M_{D33} \end{bmatrix} = m_{D00} \begin{bmatrix} 1 & \vec{D}^T \\ \vec{D} & (m_D) \end{bmatrix} \quad (3.55)$$

Pour un polariseur idéal, les différentes valeurs de  $\alpha$  déterminent l'état de polarisation du faisceau lumineux à la sortie du polariseur. La forme générale d'un polariseur linéaire (Francois & Wyncke, 2003) est la suivante :

$$\frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & \cos 2\alpha & \sin 2\alpha & 0 \\ \cos 2\alpha & \cos 2\alpha^2 & \cos 2\alpha \sin 2\alpha & 0 \\ \sin 2\alpha & \cos 2\alpha \sin 2\alpha & \sin 2\alpha & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$$

La première ligne de la matrice de Mueller  $M$  donne des informations pertinentes sur la nature physico-chimique de l'élément dichroïque.

### 3.2.8 Polarisation

Quand un matériau optique totalement homogène et anisotrope est traversé par un faisceau lumineux non polarisé caractérisé par le vecteur de Stokes  $\vec{S} = (1,0,0,0)$ , l'état de polarisation de lumière à la sortie de matériau peut être lu directement sur la première colonne de la matrice de Mueller. La polarisation est définie comme le degré de polarisation induit par un matériau biréfringent et anisotrope sur un faisceau lumineux non polarisé, on a :

$$P = \sqrt{m_{10}^2 + m_{20}^2 + m_{30}^2} / m_{00}, \quad 0 \leq P \leq 1 \quad (3.56)$$

$P = 1$  : la polarisation est totalement anisotrope

$0 < P < 1$  : la polarisation est partiellement anisotrope

$P = 0$  : la polarisation engendrée est isotrope

Le vecteur de polarisation peut se définir par :

$$\vec{P} = \begin{bmatrix} P_H \\ P_{45} \\ P_C \end{bmatrix} = 1/m_{00} \begin{bmatrix} m_{01} \\ m_{02} \\ m_{03} \end{bmatrix} \quad (3.57)$$

Pour un matériau totalement homogène et anisotrope, la polarisation  $P$  est égale au diatténuateur  $D$  pure et homogène ( $P = D$ ), ce qui revient à écrire :

$$m_{01}^2 + m_{02}^2 + m_{03}^2 = m_{10}^2 + m_{20}^2 + m_{30}^2 \quad (3.58)$$

Cette égalité n'est vraie que pour des polariseurs parfaits.

### 3.2.9 Déphaseur

Un déphaseur ou retardateur a pour but de modifier les phases des états de polarisations propres. En ce sens, il agit différemment sur les deux composantes orthogonales du champ électrique sans modifier leur amplitude. La direction où le déphasage est beaucoup plus faible définit l'axe rapide de l'état de polarisation propre. Malheureusement, ce paramètre n'est pas totalement visible dans la matrice de Mueller. Le retard de phase scalaire engendré par le déphaseur s'écrit :

$$R = |\varphi_1 - \varphi_2|, \quad 0 \leq R \leq \pi \quad (3.59)$$

Comme pour le dichroïque, le cas le plus général est donc celui de la biréfringence elliptique

$$\vec{R} = R \begin{bmatrix} \cos 2\varepsilon \cos 2\theta \\ \sin 2\varepsilon \sin 2\theta \\ \sin 2\varepsilon \end{bmatrix} \quad (3.60)$$

De même pour le diatténuateur, le retard se définit par :

$$\vec{R} = R \begin{bmatrix} r_1 \\ r_2 \\ r_3 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} R_H \\ R_{45} \\ R_C \end{bmatrix} \quad (3.61)$$

avec  $\vec{S} = (1, r_1, r_2, r_3)$  le vecteur de Stokes d'un tel vecteur propre. La connaissance du vecteur  $\vec{R}$  donne la possibilité de caractériser complètement le déphaseur. Le retard de phase total produit par le déphaseur s'écrit en fonction du retard linéaire, comme pour le diatténuateur linéaire:

$$R = \sqrt{R_H^2 + R_{45}^2 + R_C^2} = \sqrt{R_L^2 + R_C^2} \quad (3.62)$$

La matrice de Mueller pour un déphaseur est :

$$M_R = \begin{bmatrix} m_{R00} & m_{R01} & m_{R02} & m_{R03} \\ m_{R10} & m_{R11} & m_{R12} & m_{R13} \\ m_{R20} & m_{R21} & m_{R22} & m_{R23} \\ m_{R30} & m_{R31} & m_{R32} & m_{R33} \end{bmatrix} = m_{R00} \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{0} & (m_R) \end{bmatrix} \quad (3.63)$$

avec  $m_R$  est la matrice réduite  $3 \times 3$ . On a :

$$R = \cos^{-1} \left[ \left( \text{tr}(M_R)/2 \right) - 1 \right] \quad (3.64)$$

Donc le vecteur de retard peut être déterminé à partir de la matrice de Mueller par :

$$r_i = (1/2 \sin R) \sum_{j,k=1}^3 \epsilon_{ijk} (m_R)_{jk} \quad (3.65)$$

ou

$$\vec{R} = R/2 \sin(R) \begin{bmatrix} m_{R23} - m_{R32} \\ m_{R31} - m_{R13} \\ m_{R12} - m_{R21} \end{bmatrix} \quad (3.66)$$

Et la matrice  $m_R$  est définie par :

$$(m_R)_{ij} = \delta_{ij} \cos R + r_i r_j (1 - \cos R) + \sum_{k=1}^3 \epsilon_{ijk} r_k \sin R \quad (3.67)$$

La matrice de Mueller pour un déphaseur linéaire (Francois & Wyncke, 2003) est le produit d'un rotateur par un déphaseur. Les différentes valeurs de  $\theta$  et  $\varphi$  déterminent le déphasage induit dans le milieu optique

$$M(2\theta) \times M(\varphi)$$

La forme générale d'un déphaseur linéaire est :

$$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos 2\theta^2 - \cos \varphi \sin^2 2\theta & (1 - \cos 2\varphi) \sin 2\theta \cos 2\theta & \sin \varphi \sin 2\theta \\ 0 & (1 - \cos 2\varphi) \sin 2\theta \cos 2\theta & \sin 2\theta^2 + \cos \varphi \cos^2 2\theta & -\sin \varphi \cos 2\theta \\ 0 & -\sin \varphi \sin 2\theta & \sin \varphi \cos 2\theta & \cos 2\varphi \end{bmatrix}$$

La matrice de Mueller pour un déphaseur elliptique se définit par :

$$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & d^2 - e^2 - f^2 + g^2 & 2(de + fg) & 2(df + eg) \\ 0 & 2(de - fg) & -d^2 + e^2 - f^2 + g^2 & -2(dg - ef) \\ 0 & 2(df - eg) & 2(dg + ef) & -d^2 - e^2 + f^2 + g^2 \end{bmatrix}$$

avec :

$$\begin{cases} d = \cos 2\varepsilon \cos 2\theta \sin(\varphi(\Phi)/2) \\ e = \cos 2\varepsilon \sin 2\theta \sin(\varphi(\Phi)/2) \\ f = \sin 2\varepsilon \cos 2\theta \sin(\varphi(\Phi)/2) \\ g = \cos \varphi(\Phi)/2 \end{cases}$$

### 3.2.10 Milieu dépolarisant et non-dépolarisant

Selon Lu et Chipman, un matériau dépolarisant est un matériau optique qui n'a ni polarisance, ni diatténuateur. La matrice de Mueller pour un tel matériau est définie par:

$$M_{\Delta} = \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{0} & m_{\Delta} \end{bmatrix} \quad (3.68)$$

Avec  $m_{\Delta}$  représente une matrice 3x3 symétrique qui être diagonalisée. Les axes de dépolarisation principaux sont définis par ses vecteurs propres. La matrice de Mueller prend la forme suivante :

$$M_{\Delta} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & a & 0 & 0 \\ 0 & 0 & b & 0 \\ 0 & 0 & 0 & c \end{bmatrix}, a, b, c, \in [-1,1] \quad (3.69)$$

$1 - |a|, 1 - |b|$  et  $1 - |c|$  correspondent au pouvoir dépolarisant du matériau suivant les 3 axes propres. La dépolarisation est définie par :

$$\Delta = 1 - (|a| + |b| + |c|)/3, \text{ et } 0 \leq \Delta \leq 1 \quad (3.70)$$

Le dépolarisateur est dit partiel quand  $a = b = c$ .

Pour un dépolarisateur idéal, on a :  $a = b = c = 0$

Le tableau ci-dessous donne la matrice de Mueller pour un matériau dépolarisant:

Matériau	Matériau	Matériau
dépolarisant	Dépolariseur partiel	Purement idéal
$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & a & 0 & 0 \\ 0 & 0 & b & 0 \\ 0 & 0 & 0 & c \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & a & 0 & 0 \\ 0 & 0 & a & 0 \\ 0 & 0 & 0 & a \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$

Tableau 3 : Matrice de Mueller pour des matériaux dépolarisants,  $a, b, c, \in [-1,1]$

### 3.2.11 Décomposition de la Matrice de Mueller

La matrice de Mueller est une matrice qui est très riche en informations, car elle permet de remonter à la nature physico-chimique de l'élément optique tel que le diatténuateur, la polarisance et le déphaseur. D'après la méthode de Lu et Chipman (Lu & Chipman, 1996), la matrice de Mueller peut être décomposée comme le produit de trois sous matrices. La méthode qu'ils ont proposée, permet d'extraire pour toute matrice de Mueller physiquement réalisable les trois paramètres ci-dessus.

$$M = M_{\Delta} M_R M_D \quad (3.71)$$

$$[M] = \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{P}_{\Delta} & (m_{\Delta}) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{0} & (m_R) \end{bmatrix} T_u \begin{bmatrix} 1 & \vec{D}^T \\ \vec{D} & (m_D) \end{bmatrix} \quad (3.72)$$

$M_{\Delta}$  est la matrice du dépolarisant,  $M_R$  celle du retardateur et celle d'un diatténuateur  $M_D$

ce qui revient à écrire:

$$[M] = T_u \begin{bmatrix} 1 & \vec{D}^T \\ \vec{P} & [m] \end{bmatrix} \quad (3.73)$$

avec

$$[m] = \begin{bmatrix} m_{11} & m_{12} & m_{13} \\ m_{21} & m_{22} & m_{23} \\ m_{31} & m_{32} & m_{33} \end{bmatrix} \quad (3.74)$$

On a :

$$[M] = \begin{bmatrix} 1 & \vec{D}^T \\ \vec{P} & m = \begin{bmatrix} m_{11} & m_{12} & m_{13} \\ m_{21} & m_{22} & m_{23} \\ m_{31} & m_{32} & m_{33} \end{bmatrix} \end{bmatrix} \quad (3.75)$$

$\vec{P}$  est le vecteur de polarisance,  $\vec{D}$  est le vecteur du diatténuateur et  $m$  est la matrice de Mueller réduite  $3 \times 3$ .

Pour déterminer la matrice du dépolariseur (Hatit, 2009), (Dubreuil, 2010), (Jungrae, 2007), (Ghosh N. M., 2008), (Ghosh N. M., 2009), (S. Manhas, 2006), il faut connaître le vecteur  $\vec{P}_\Delta$  et la matrice  $m_\Delta$ . Dans le cas où  $M_D$  (équation 3.55) n'est pas singulière, il est possible de construire la matrice  $M'$  telle que :

$$M' = MM_D^{-1} = M_\Delta M_R \quad (3.76)$$

On a :

$$M' = \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{P}_\Delta & (m') \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{P}_\Delta & m_\Delta \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{0} & (m_R) \end{bmatrix} = M_\Delta M_R \quad (3.77)$$

avec  $m' = m_\Delta m_R$

Dans l'équation 3.72, la matrice du dépolarisant est différente de celle présentée dans l'équation 3.68, car elle fait intervenir  $\vec{P}_\Delta$  qui est le vecteur polarisation du dépolarisant. En générale, une matrice de Mueller contient 16 paramètres indépendants et 16 degrés de libertés. Cependant, le diatténuateur  $D$  est défini par 4 paramètres ( $T_o, D, \varepsilon_D, \theta_D$ ), le retardateur par 3 paramètres ( $R, \varepsilon_D, \theta_D$ ), et le dépolariseur par 6 paramètres (3 facteurs de dépolarisation et 3 directions associées). Les 3 autres degrés de liberté s'obtient après inversion de  $M_D$  dans l'équation 3.76. Ceci permet d'avoir une description cohérente de la matrice de Mueller.

On peut déduire l'expression du vecteur  $\vec{P}_\Delta$  :

$$\vec{P}_\Delta = \begin{bmatrix} m'_{10} \\ m'_{20} \\ m'_{30} \end{bmatrix} = (\vec{P} - m\vec{D}) / (1 - D^2) \text{ avec } D \neq 1 \quad (3.78)$$

Avec

$$\vec{P} = 1/m_{00} \begin{bmatrix} m_{10} \\ m_{20} \\ m_{30} \end{bmatrix} \quad (3.79)$$

Pour déterminer  $m_\Delta$ , on a :

$$m'm'^T = (m_\Delta m_R)(m_\Delta m_R)^T = m_\Delta^2 \quad (3.80)$$

Soit  $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$  les valeurs propres de la matrice  $m'm'^T$ . Les valeurs propres de  $m_\Delta$  sont calculées à partir de la racine des valeurs propres de la matrice  $m'm'^T$ , ce qui permet d'écrire :

$$m_\Delta = \pm [m'm'^T + (\sqrt{\lambda_1\lambda_2} + \sqrt{\lambda_2\lambda_3} + \sqrt{\lambda_1\lambda_3})I]^{-1} \times [(\sqrt{\lambda_1} + \sqrt{\lambda_2} + \sqrt{\lambda_3})m'm'^T + \sqrt{\lambda_1\lambda_2\lambda_3}(I)] \quad (3.81)$$

Si le déterminant de  $M'$  est négatif, on utilise le signe -, sinon on utilise le signe +. Ceci permet de calculer facilement la matrice retard qui est :

$$M_R = M_{\Delta}^{-1}M' \quad (3.82)$$

Le but de la décomposition polaire de la matrice de Mueller  $M$  est de fournir une interprétation physique aux matrices de Mueller expérimentales, équation (3.71). Cependant, le produit matriciel n'est pas commutatif. L'ordre de l'arrangement des matrices est très important. La matrice de Mueller  $M$  peut être décomposée :

$$\begin{cases} M = M_{\Delta}M_RM_D \\ M = M_{\Delta}M_DM_R \\ M = M_RM_{\Delta}M_D \\ M = M_DM_RM_{\Delta} \\ M = M_RM_DM_{\Delta} \\ M = M_DM_{\Delta}M_R \end{cases} \quad (3.83)$$

D'après Morio et Goudail (Goudail, 2007), il est possible séparer l'équation 3.83 en deux familles qui sont: décompositions classiques et famille inverse.

- a) Dans les décompositions classiques, les trois premières équations font intervenir le diatténuateur avant le dépolariseur. Cette décomposition donne lieu à des matrices de Mueller physiquement réalisables et non singulières.
- b) Dans la famille inverse, les trois dernières équations font apparaitre le dépolariseur avant le diatténuateur. Il est possible que cette décomposition donne lieu à des matrices de Mueller non physiques dans le cas de fortes dépolarisations. Cependant, ce problème est résolu par Ossikovski et al (Ossikovski, 2007), (M. Anastasiadou, 2007).

D'après Lu (Lu & Chipman, 1996), il est toujours préférable de séparer l'élément dépolarisant  $M_{\Delta}$  des éléments non dépolarisant  $M_RM_D$ . Ce choix permet de réduire les six arrangements possibles de l'équation de 3.83 en trois arrangements en partant de la première équation. Cependant, pour une interprétation des données expérimentales, seulement la première équation de 3.83 est validée.

Toutes les matrices de Mueller présentées ci-dessus ont le premier élément  $m_{00}$  qui vaut toujours 1 parce que ce sont des éléments optiques totalement homogènes et anisotropes (élément parfait). Cette valeur représente l'intensité maximum du milieu optique. Pour les polariseurs idéaux, la valeur scalaire du diatténuateur et la polarisation est égale à 1 en considérant les deux modes de transmission ( $\alpha = 0, \alpha = \pi/2$ ).

Un objet uni-axial biréfringent et totalement homogène peut être représenté par une matrice de Jones. Cependant, si l'objet possède une certaine variabilité structurelle qui peut modifier l'état de polarisation de la lumière, de telle sorte que le champ électrique évolue aléatoirement au sein du même

faisceau, par exemple un tissu biologique, la matrice de Jones se révèle incomplète. Elle laisse la place à la matrice de Mueller qui est beaucoup plus complète parce qu'elle traite tous les états de polarisation. De plus, la décomposition de la matrice de Mueller selon l'algorithme de Lu et Chipman permet d'extraire 3 sous matrices qui permettent de remonter directement à la nature physico-chimique du tissu biologique (diatténuateur, polarisance, retardateur) ce qui revient à dire que la matrice de Jones n'est pas faite pour étudier la polarimétrie des tissus biologiques.

En raison de tous ces facteurs, notre choix se porte sur l'exploitation de la matrice de Mueller pour simuler le comportement du myocarde humain en lumière polarisée. Ce formalisme permet de déterminer avec robustesse

- a) l'orientation des cardiomyocytes dans chaque voxel
- b) la mesure du niveau d'homogénéité du tissu myocardique
- c) comparer les résultats simulés avec les données expérimentales
- d) permet de mieux interpréter les données expérimentales.

Avant de commencer la simulation du myocarde humain, il est nécessaire de réaliser la qualification du banc optique pour s'assurer l'homogénéité de la source lumineuse, le croisement des polariseurs linéaires et circulaires, et les caméras d'acquisition d'images.

# *Contributions*

---

# Chapitre 4

## Banc Optique

---

<b>Chapitre 4</b> .....	55
<b>4.1 Constitution du banc optique</b> .....	56
4.1.1 Description .....	56
4.1.2 Montage du banc optique.....	56
<b>4.2 Qualification</b> .....	58
4.2.1 Source lumineuse .....	58
4.2.2 Polariseur/Analyseur linéaire .....	61
4.2.3 Rotation des moteurs.....	63
4.2.4 Lames quart d'onde ou « polariseur circulaire ».....	65
4.2.5 Caméras d'acquisitions .....	69

## 4.1 Constitution du banc optique

### 4.1.1 Description

A cause de la complexité du myocarde humain (ventricule droit et gauche, et le septum inter-ventriculaire), (voir chapitre 1), la plupart des techniques d'imageries de nos jours se révèle moins efficace. La méthode la plus adaptée pour étudier l'architecture du myocarde humain de façon détaillée par des cartographies est la technique d'imagerie en lumière polarisée (Jouk P-S. U. Y., 2000), (Wood M. F., 2010). Ainsi, pour analyser la structure détaillée du myocarde humain, Jouk et al. (Jouk P-S., 1994) ont développé un système de polarimétrie pour l'acquisition et l'analyse des images du myocarde humain. Ainsi, un banc optique en lumière polarisée a été réalisé avec les éléments optiques cités ci-dessous :

- a) une source de lumière « blanche » homogène, non polarisée et de spectre connue
- b) deux polariseurs linéaires
- c) deux polariseurs circulaires (marque Hoya 95 mm PL-CIR)
- d) deux filtres de densité (marque Hoya 80 mm)
- e) une lame pleine onde (550 nm)
- f) une platine porte-objet
- g) un diffuseur.

### 4.1.2 Montage

Dans la figure 4-1a, la source lumineuse est montée sur un support fixe avec le faisceau lumineux dirigé vers le haut suivant l'axe de z positif. Tous les éléments optiques sont positionnés le long de cet axe, ainsi le maximum de flux lumineux les traverse. Un diffuseur (opaline) est placé en sortie de la source lumineuse pour diffuser tout le flux lumineux de façon homogène dans le banc optique.

Deux polariseurs linéaires montés sur un support mobile sont entraînés chacun par un moteur pas à pas. Les positions angulaires du couple polariseur et analyseur peuvent être déterminées. Le polariseur inférieur est placé au-dessus de la source lumineuse.

La platine porte-objet est un système gyroscopique à deux axes permettant à la plaque de verre sur laquelle est posé l'échantillon biologique à basculer suivant l'axe  $Ox$  ou  $Oy$ . Elle est positionnée entre la polariseur linéaire.

Le rôle des deux polariseurs circulaires et le filtre orange seront définis dans les sections correspondantes.

Une lame pleine onde est placée entre l'échantillon biologique et le second polariseur (analyseur), son rôle sera défini plus tard. L'axe neutre de la lame pleine onde peut être orienté à 0, -45 ou 45 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur inférieur.

Le second polariseur (l'analyseur) permet d'observer l'état de polarisation de la lumière en sortie, et son axe de sélection est orienté à 90 degrés par rapport à l'axe de sélection au premier polariseur. Pour faire la distinction entre les directions des deux axes de sélection des deux polariseurs, le second polariseur est nommé analyseur.

Une caméra numérique (CCD) mobile est montée sur une potence. Elle permet d'acquérir des images et est dotée d'un objectif permettant de définir le grandissement optique.

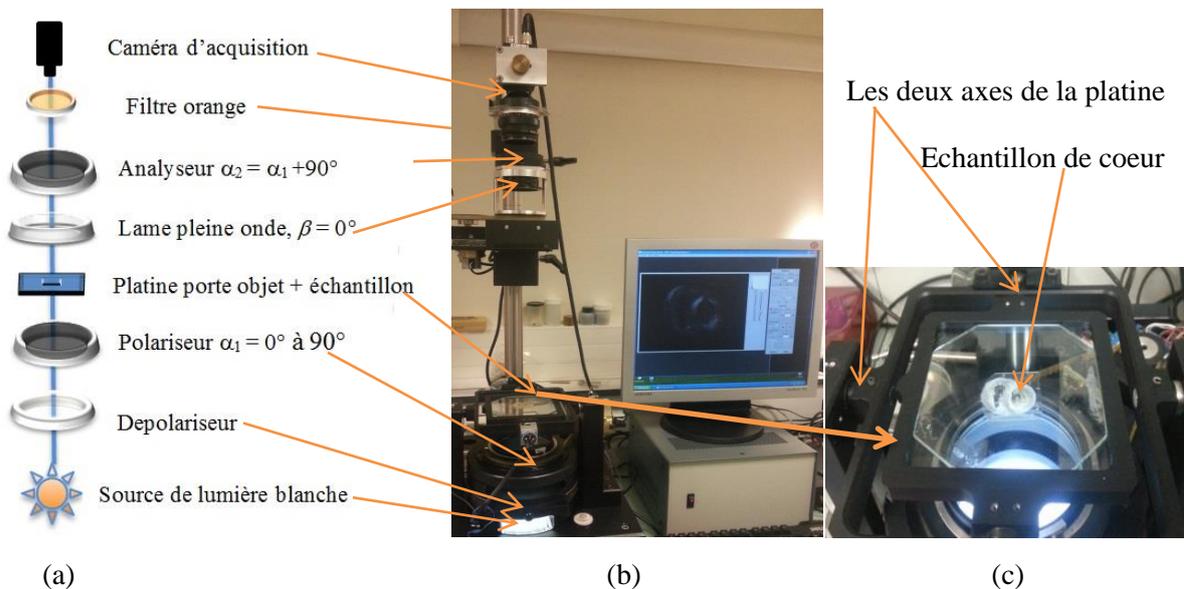


Figure 4-1: Banc Optique. (a) schéma du banc optique ; (b) la station de travail avec les équipements liés au banc optique ; (c) un grandissement sur la platine porte-objet qui sert à recevoir l'échantillon de cœur.

Les moteurs de rotation et les capteurs de position à potentiomètres sont gérés par un boîtier électronique équipé de microcontrôleurs. La communication entre le boîtier électronique et l'ordinateur se fait par une liaison RS232. Nous avons écrit un programme en C/C++ pour le pilotage des moteurs, les capteurs de positions à potentiomètres, et les acquisitions des images.

## 4.2 Qualification

Pour mener à bien cette étude, une qualification des instruments optiques est nécessaire pour garantir la fiabilité des mesures obtenues, et pour la confrontation des mesures expérimentales avec celles des simulations numériques. Pour ce faire, tous les instruments optiques sont testés un à un pour vérifier l'homogénéité de la source lumineuse, la précision et la reproductibilité du positionnement des moteurs pas à pas, le zéro optique (origine) du couple polariseur et analyseur croisés, la qualité des lames quart d'onde, la qualité des polariseurs circulaires, et la linéarité des caméras d'acquisitions. Les résultats obtenus ont permis d'apporter des corrections nécessaires dans le banc optique, et d'optimiser le fonctionnement.

### 4.2.1 Source lumineuse

La source lumineuse est composée de 144 LED blanches, SMD 3528, dotées d'une température de couleur de 6500° k qui est proche de celle de la lumière du jour à midi. Le flux lumineux total des LED est de 700 lumens.

La figure 4-2 montre l'analyse de la réponse spectrale de la source lumineuse. Le retard de phase induit par l'objet uni-axial biréfringent dépend de la longueur de la lumière  $\lambda$ , de son épaisseur  $e$ , et de sa biréfringence  $\Delta_n$ . Comme l'indice de réfraction de chacun des deux rayons est différent (chapitre 3, équation 3.9, et figure 3-4a), on observe une différence de chemin optique entre les deux rayons. Cette différence est fonction de la différence de vitesse entre les deux rayons et de la longueur du trajet à travers l'échantillon biologique. La différence de chemin optique entre les deux indices de réfraction ( $n_e, n_o$ ) de l'échantillon biologique va donner lieu à des interférences colorées avec l'insertion d'une lame pleine onde entre l'échantillon biologique et analyseur.

L'interférence est dite constructive (superposition des deux ondes), si  $\Delta$  est un multiple entier de la longueur d'onde, c'est-à-dire que :

$$\Delta = m\lambda \text{ avec } m = (1, 2, 3, 4, \dots, n) \quad (4.1)$$

Par contre, l'interférence est dite destructive si  $\Delta$  est égal à la moitié de la longueur d'onde de la lumière monochromatique plus un multiple entier de la longueur d'onde, c'est-à-dire que :

$$\Delta = (m + 1/2) \lambda \quad (4.2)$$

Les phénomènes d'interférences apparaissent seulement dans le cas où les deux ondes :

- a) ont la même fréquence

- b) provienne d'un même point de source lumineuse
- c) présentent une différence de phase constante (parcoure la même distance).

En effet, lorsqu'un objet uni-axial biréfringent se trouve entre polariseur et analyseur croisés, et que  $\Delta$  est multiple entier de la longueur d'onde de la lumière monochromatique, le plan de vibration de l'unique rayon issu de l'objet est perpendiculaire au plan de vibration transmise par l'analyseur, aucun rayon n'est transmis (intensité de la lumière est nulle). Si  $\Delta$  est égal à la moitié de la longueur d'onde de la lumière monochromatique plus un multiple entier de la longueur d'onde, toute la lumière est transmise (Jouk P.-S. , 1994). Pour résoudre ce problème d'interférence, nous avons introduit un filtre passe long sur l'objectif de la caméra.

Dans l'équation 4.3 on connaît l'épaisseur  $e$  de l'échantillon biologique ( $e = 500 \mu\text{m}$ ), et sa biréfringence  $\Delta_n = 10^{-4}$  (chapitre 5 : Simulation Numérique, équation 5.4). Il ne reste que la longueur d'onde de la lumière à mesurer pour pouvoir déterminer le retard de phase pixel par pixel. Ce retard de phase peut être calculé par

$$\varphi = (2\pi)e\Delta_n/\lambda \quad (4.3)$$

Pour mettre en évidence le retard de phase dans l'échantillon biologique pixel par pixel lors d'une série d'acquisitions, deux filtres (rouge et orange) sont testés un à un sur l'objectif d'une caméra (noir et blanc) d'acquisition d'images. Le filtre rouge et le filtre orange sont des filtres « passe long », c'est-à-dire des filtres qui laissent passer la lumière avec une longueur d'onde supérieure à sa longueur d'onde de coupure. Le filtre orange absorbe presque tout le bleu ainsi que certains verts, tandis que le filtre rouge absorbe totalement le bleu, le vert, et ne laisse passer que la couleur dominante qui est le rouge. La figure 4-2 et 4-3 montre la réponse spectrale des deux filtres (orange, rouge) et leur longueur d'onde de coupure. La connaissance de cette longueur d'onde de coupure permet de mesurer le retard de phase induit (équation 4.3), puis l'intensité de la lumière polarisée transmise, et l'angle d'élévation des cardiomyocytes dans la masse ventriculaire (chapitre 5, équation 5.15). Les filtres sont choisis en fonction de la longueur d'onde de la lumière, et en fonction de la différence de chemin optique engendré par l'échantillon biologique.

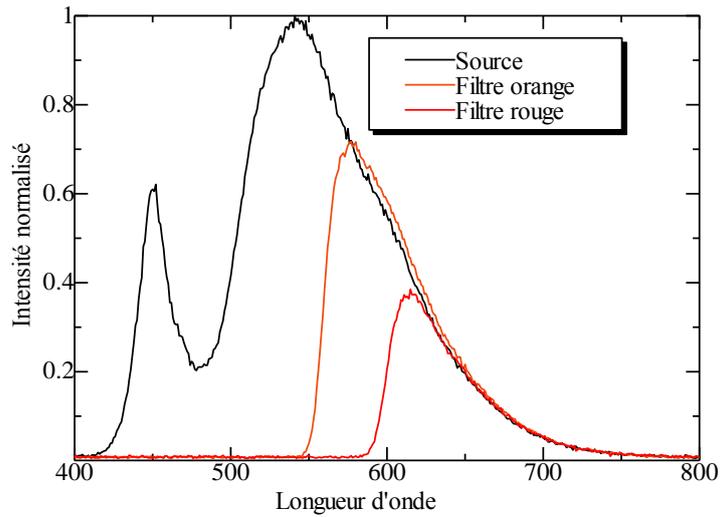


Figure 4-2: Réponse spectrale de la source lumineuse seule, puis avec un filtre orange, et enfin un filtre rouge. Ordonnées : intensité normalisée; Abscisses : longueurs d'onde de la source en nanomètre.

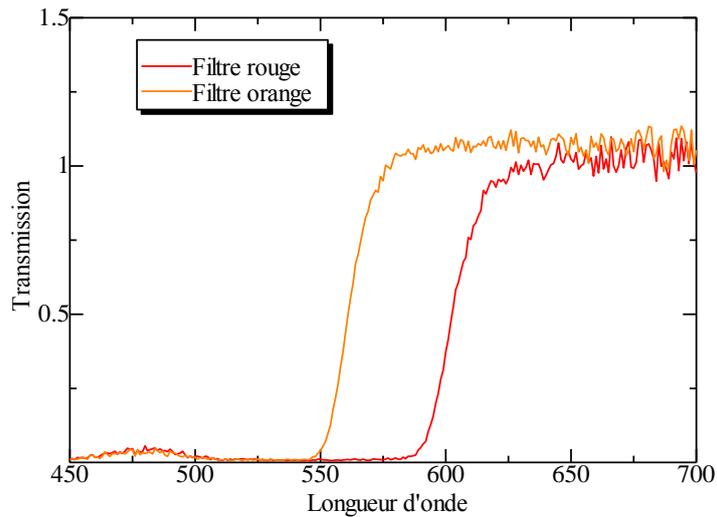


Figure 4-3: Réponse des deux filtres. Le filtre orange a une longueur d'onde de coupure aux environs de 560 nm, et le filtre rouge 610 nm. Ordonnées : l'intensité de la lumière transmise; Abscisse : longueur d'onde la source en nanomètre.

Sachant que les longueurs d'onde de coupure du filtre orange est de 560 nm, et celle du filtre rouge est de 610 nm, donc l'intervalle de mesures des longueurs d'onde à traiter dans le banc optique varie de 560 à 750 nm ou de 610 à 750 nm, voir figure 4-2 et 4-3. Il devient possible de mesurer la différence de chemin optique des deux rayons dans le banc optique. Cependant, l'insertion du filtre orange permet de mieux discriminer les angles azimuts entre 0 et 90 degrés, et de 90 à 180 degrés.

Après avoir effectué ces différentes mesures avec les deux filtres, le choix est porté sur le filtre orange.

### 4.2.2 Polariseur/Analyseur linéaire

Quand les axes de sélection d'un polariseur et d'un analyseur sont perpendiculaires l'un par rapport à l'autre, la lumière à la sortie de l'analyseur est nulle, c'est-à-dire que le champ de vecteurs électriques résultant  $\vec{E}$  vaut 0, puisque ses deux composantes suivant les axes  $Ox$  et  $Oy$  sont nulles (chapitre 3 : Méthodes Optiques, figure 3-5).

Une rotation du couple polariseur et analyseur croisés de 0 à 360 degrés, par pas de 1 degré sans interposition de l'échantillon biologique, permet de vérifier si les deux axes de sélection du couple polariseur et analyseur restent bien croisés après rotations des deux moteurs.

Après le calibrage (initialisation des moteurs, croisement du couple polariseur et analyseur) du banc optique, une acquisition est faite pour chaque angle de rotation du couple polariseur et analyseur croisés. Puis, nous avons capturé 360 images. Ensuite, nous avons utilisé ImageJ pour analyser la pile d'images ainsi obtenue, puis nous avons choisi un point de mesure (ensemble de pixels de mêmes coordonnées  $(x, y)$  dans les images) dans cette pile d'images. Ce point de mesure nous a permis de tracer dans un tableur le profil de l'intensité de la lumière polarisée transmise. Les résultats obtenus, montrent que dans l'intervalle de  $[0^\circ, 90^\circ]$ , la variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise est inférieure à un niveau de gris dans les images, figure 4-4.

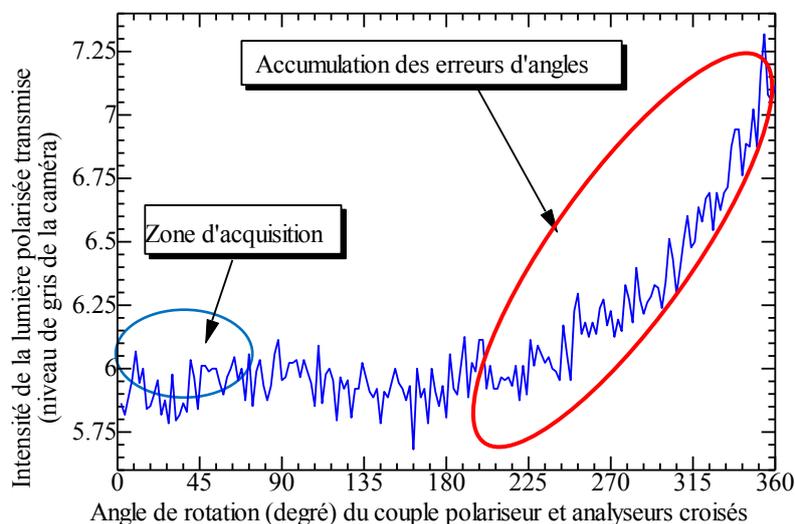


Figure 4-4: Polariseur et analyseur croisés sans interposition d'un objet uni-axial biréfringent; Ordonnées : intensité de la lumière polarisée transmise en sortie d'analyseur; Abscisse : angle de rotation du couple polariseur analyseur croisés.

La figure 4-4, permet d'observer l'intensité de la lumière polarisée transmise, quand le polariseur et analyseur sont croisés et sans interposition d'un objet uni-axial biréfringent. Selon la figure 4-4, la

variation observée dans l'intervalle de 0 à 90 degrés est inférieure à 1 niveau de gris (cercle vert). Par contre, l'accumulation des erreurs d'angles dans l'intervalle de 200 à 360 degrés (courbe rouge) permet d'observer une plus grande variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise en sortie d'analyseur. Cependant, ces erreurs d'angles n'influencent pas les mesures faites dans le banc optique. Pour mieux expliquer pourquoi ces erreurs n'influencent pas les mesures, il faut anticiper sur le chapitre suivant (chapitre 5 : Simulation : figure 5-4). Il est démontré que : Pour une rotation du couple polariseur et analyseur croisés avec l'insertion d'un objet uni-axial biréfringent avec son axe optique orienté à 0 degré par rapport à l'axe de sélection du polariseur, il existe deux minima (amplitude de la lumière nulle) et un maximum (amplitude de la lumière maximale). Les minima sont obtenus quand l'axe de sélection du polariseur est parallèle avec l'axe optique de l'objet uni-axial biréfringent, ce qui provoque une extinction complète de la lumière à 0, et 90 degrés. Quand l'axe de sélection du polariseur est orienté à 45 degrés par rapport à l'axe optique de l'objet uni-axial biréfringent, l'amplitude de la lumière est maximale en ce point (45 degrés).

Dans la figure 4-5, les axes de sélection du polariseur et de l'analyseur sont positionnés parallèlement l'un par rapport à l'autre, et l'intensité de la lumière polarisée transmise dans le banc optique est au maximum. Puis le couple polariseur et analyseur parallèle tourne ensemble de 0 à 360 degrés par pas de 1 degré sans l'insertion d'un objet biréfringent uni-axial entre eux. La mesure de la distribution de l'intensité lumineuse permet d'évaluer l'accumulation des petites erreurs d'angles qui sont dues à l'imprécision des moteurs de rotation, et se manifeste par un déplacement optique dans les images. Les pas de rotation des moteurs ne sont pas linéaires (voir sous-section, Rotation des moteurs).

Dans la figure 4-5 une rotation du couple polariseur et analyseur parallèle de 0 à 360 degrés, montre que la variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise en sortie d'analyseur est toujours inférieure à 1 niveau de gris dans l'intervalle de 0 à 90 degrés. Cependant, dans l'intervalle de 95 à 360 degrés (cercle rouge), cette variation est due à l'accumulation des erreurs d'angles dans la rotation des moteurs.

En résumé, Pour une rotation du couple polariseur et analyseur croisés dans l'intervalle  $[0^\circ, 90^\circ]$  il existe un maximum et deux minima. Ce domaine est largement suffisant pour déterminer les paramètres du modèle (voir chapitre 5 et 6) et la variation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume entre polariseur et analyseur croisés. La variation de la distribution de l'intensité lumineuse observée dans l'intervalle de  $[0^\circ, 90^\circ]$  est inférieure à 1 niveau de gris et est donc négligeable, figure 4-5.

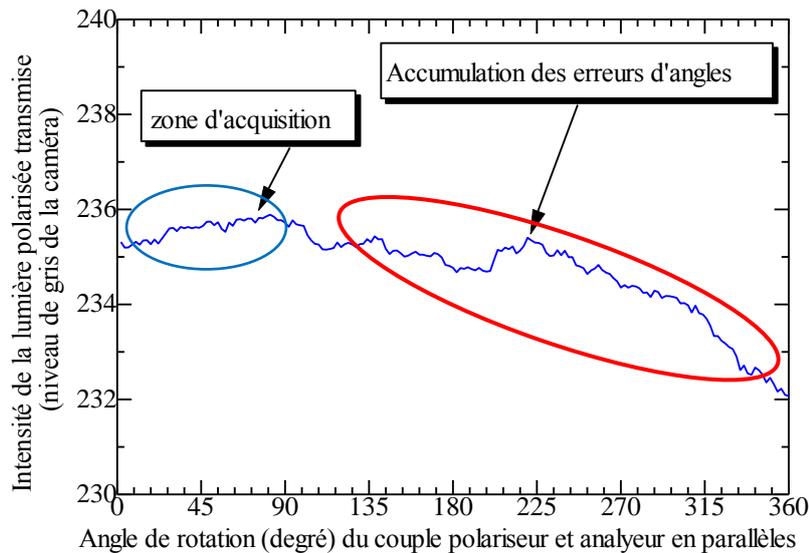


Figure 4-5 : Représentation de la distribution de l'intensité moyenne pixel par pixel de la lumière transmise en fonction du couple polariseur analyseur parallèles. Les variations observées sont dues à des petites erreurs d'angle de rotation des moteurs. Ordonnées : Intensité de la lumière polarisée transmise ; Abscisses : angle de rotation du couple polariseur et analyseur parallèles.

### 4.2.3 Rotation des moteurs

Le polariseur et analyseur sont entraînés chacun par un moteur pas à pas (le pas d'une rotation est de 7,5 degrés) avec une puissance moyenne de 5 watts et une résistance interne de 9 ohms pour une tension nominale de 4,7V, et l'intensité moyenne par phase est 0,52 A. Pour une rotation complète de 0 à 360 degrés, les moteurs dans le banc optique doivent effectuer 48 pas (sans démultiplication).

Dans la gamme des moteurs pas à pas, les pas par tour peuvent varier de 12, 24, 48, 100, et 200 selon le type de moteur choisi. Ce type de moteur sans balais fonctionne en courant continu (fréquence nulle) ; leur rotor avance d'un seul pas lorsque le sens du courant dans une bobine change de sens. L'avantage majeur de ce moteur, c'est qu'aucun dispositif supplémentaire n'est nécessaire pour connaître la position du rotor, parce que chaque impulsion électrique le fait avancer d'un pas.

Pour contrôler, mesurer, et calibrer les pas de rotations des moteurs avec le programme d'acquisition, deux potentiomètres ont été placés dans la chaîne de mesure.

Pour actionner les polariseurs et la platine porte-objet, la rotation des moteurs est gérée par un système d'engrenage et de poulie. La combinaison du système permet la démultiplication des pas de rotation des moteurs. Ainsi, chaque élément peut positionner à une résolution finale de 0,1 degrés.

Pour vérifier la précision des pas de rotation et le repositionnement des moteurs, nous avons choisi d'effectuer une série d'acquisitions avec le polariseur de 0 à 360 degrés (analyseur fixé à 0 degré, et sans interposition d'objet). Ainsi, nous avons capturé une image pour chaque angle de rotation du polariseur. Les acquisitions se font par pas de 2 degrés (180 images), 5 degrés (60 images), 10 degrés (30 images), et 20 degrés (15 images). Puis, nous avons sélectionné un point de mesure dans chaque pile d'images pour tracer et comparer les mesures de l'intensité de la lumière polarisée transmise obtenues dans chaque pile d'images.

D'après la loi de Malus (chapitre 3, équation 3.11), si l'angle  $\alpha$  (rotation du polariseur) et l'intensité de la lumière de la source sont connus, il est possible de mesurer la valeur de l'intensité de la lumière polarisée transmise en sortie de l'analyseur. Pour analyser cette intensité, nous avons comparé le profil d'intensité de la lumière polarisée transmise obtenue dans les piles d'images avec un modèle prédictif basé sur le théorème de Malus, équation 4.5.

$$I_{\alpha_i} = G_{min} + (G_{max} - G_{min})\cos^2(\alpha_i - \alpha_0) \quad (4.4)$$

$G_{min}$ : Niveau de gris minimale dans l'image

$G_{max}$ : Niveau de gris maximale dans l'image

$\alpha_0$  : Facteur correcteur de l'origine du polariseur

$\alpha_i$  : Angles de rotation du polariseur.

La différence du niveau de gris ( $G_{max} - G_{min}$ ) correspond à l'amplitude.

Dans la figure 4-6, la courbe en rouge (triangle rouge) représente le profil d'intensité qu'on obtient avec le théorème de Malus (courbe rouge), tandis que les autres courbes (2, 5, 10, 20 degrés) représentent les différentes intensités obtenues avec chaque pile d'images. De plus, ce modèle permet d'observer les petites erreurs d'angles introduites dans le banc optique lors d'une série d'acquisitions, ainsi que la rotation et la précision de repositionnement des moteurs. Les erreurs d'angles observées

sont inférieures à 2 degrés, ce qui est négligeable. A cause de petites erreurs d'angles dues à la rotation des moteurs, il a été nécessaire d'introduire le facteur correcteur  $\alpha_0$ .

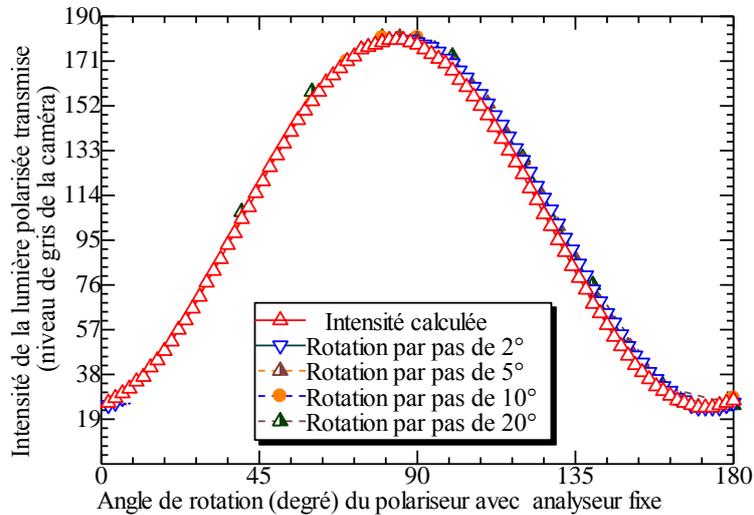


Figure 4-6: Vérification du repositionnement des moteurs après une rotation de 180 degrés. Une pile d'images est capturée pour chaque angle de rotation du polariseur par pas 2, 5, 10, 20 degrés avec analyseur fixe à 0 degré. Pour la mesure de l'intensité de la lumière polarisée transmise, nous avons sélectionné un point de mesure dans chaque pile d'images puis tracer dans un tableur. L'erreur totale observée est inférieure à 2 degrés. La courbe en rouge est le modèle prédictif basé sur le théorème de Malus.

#### 4.2.4 Lames quart d'onde

Les lames quart onde ou  $\lambda/4$  sont des lames destinées à créer un déphasage de 90 degrés, c'est-à-dire un retard d'un quart de longueur d'onde pour une longueur d'onde de 450 à 750 nm. Elles permettent de passer d'une polarisation rectiligne vers une polarisation circulaire et vice versa par modification des valeurs des deux composantes du vecteur champ électrique  $\vec{E}$ , et selon le montage optique considéré. Par abus de langage, les lames quart d'onde sont souvent appelées des polariseurs circulaires à cause de leur état de polarisation (polarisation circulaire). Cependant, la plupart des polariseurs circulaires vendues sur le marché sont constituées, d'un filtre polaroïd accolés avec une lame  $\lambda/4$  orientée à 45 degrés par rapport à l'axe de sélection du polaroïd. Ce montage optique ( $\lambda/4$  + polariseur) permet d'avoir une polarisation circulaire. Ce polariseur circulaire à la propriété troublante pour le non initié, de se comporter différemment quand on le retourne face pour face ; il est recommandé de l'attaquer par le côté polaroid (Sextant, 1997). De plus, selon la littérature (Francois Brehat, 2003), un polariseur circulaire est constitué d'un polariseur idéal avec son axe de sélection orienté à 45 degrés par rapport à l'axe  $Ox$  et suivi d'une lame quart d'onde avec son axe rapide parallèle à l'axe  $Ox$ . Ces deux éléments (polariseur linéaire, lame quart d'onde) sont fixés rigide l'un par rapport à l'autre, de façon que leurs axes restent fixes l'un par rapport à l'autre. On a :

$$Polc = LQD(0^\circ) \times P(45^\circ) = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 0 \end{bmatrix} \quad (4.5)$$

en multipliant 4.6 par le vecteur de Stokes, on a :

$$Polc = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = \frac{1}{2} (S_0 + S_2) \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix} \quad (4.6)$$

L'intensité de la lumière polarisée transmise est fonction de  $S_0$  et  $S_2$ , le faisceau transmis est toujours circulaire droite. L'état de polarisation fourni par le polariseur *Polc* est dite circulaire, si le faisceau lumineux le pénètre sur la face contenant le polariseur linéaire.

Le collage du filtre polaroid à la lame  $\lambda/4$  permet d'éliminer le reflet des ondes parasites sur les surfaces des objets, et d'avoir un meilleur contraste sur l'image. Ce type de filtre est utilisé dans la photographie comme filtre antireflet pour avoir un beau ciel bleu saturé. En général, une lame quart d'onde possède quatre angles d'atténuation qui sont 90, 180, 270, 360 degrés à condition qu'il y ait un objet biréfringent inséré entre les deux lames quart d'onde.

Pour tester les lames quart d'onde et les polariseurs circulaires nous avons réalisé le montage de la figure 4-7.

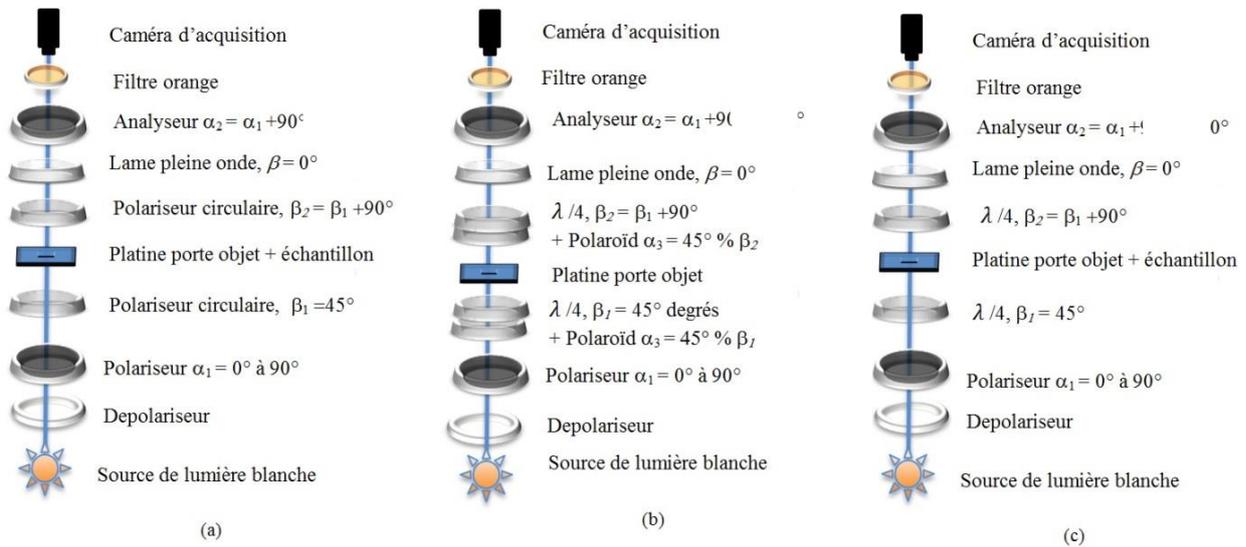
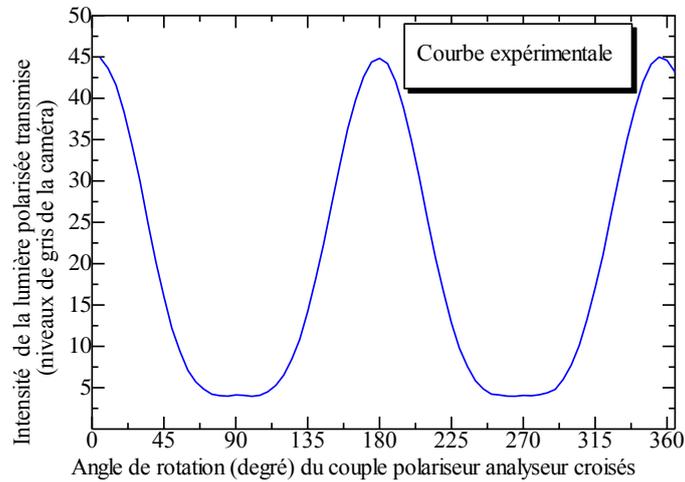


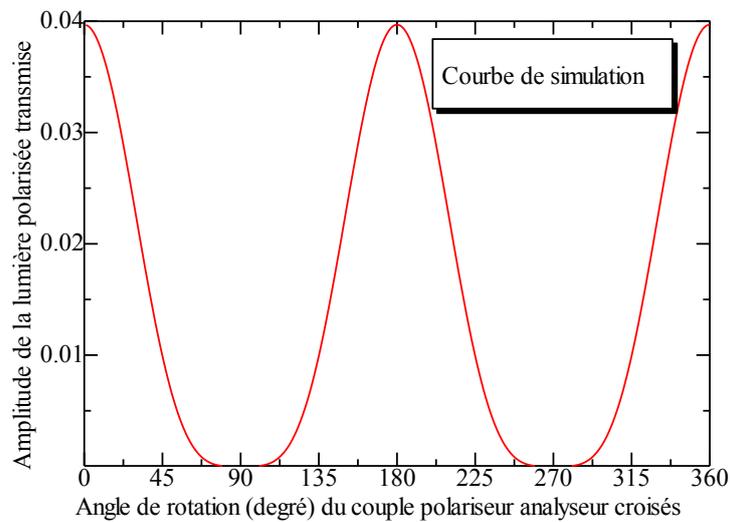
Figure 4-7: Montage optique de vérification des lames quart d'onde et des polariseurs circulaires. (a) polariseurs circulaires ; (b) lames quart d'onde plus les polaroids ; (c) lames quart d'ondes ; % = par rapport à.

Dans la figure 4-7a, Les deux polariseurs circulaires sont placés respectivement entre le couple polariseur et analyseur croisés à 45 et 135 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur. Puis,

l'échantillon de cœur est inséré entre les deux polariseurs circulaires. Pour une rotation complète du couple polariseur et analyseur croisés, les deux polariseurs circulaires se révèlent inappropriées à nos mesures, car ils ne possèdent que deux angles d'extinction complète qui sont 90 et 270 degrés, figure 4-8a.



(a)



(b)

Figure 4-8: Mesures expérimentales confrontées à la simulation. (a) l'utilisation des deux polariseurs circulaires du laboratoire placés respectivement à 45 et 90 degrés entre polariseur et analyseur croisés avec un objet biréfringent entre les deux polariseurs circulaires, a permis d'observer deux angles d'extinction complète de la lumière, ce qui révèle que ces polariseurs circulaires sont inappropriées. (b) représentation de la simulation du comportement des polariseurs circulaires dans les mêmes conditions de travail que dans la phase expérimentale. Ordonnées : le niveau de gris de la caméra ou l'intensité de la lumière; Abscisses : angle de rotation du couple polariseur analyseur croisés.

Pour comprendre, vérifier, et interpréter le résultat obtenu dans la phase expérimentale, la simulation de la même configuration de la phase expérimentale est nécessaire, mais cette fois avec des lames

quart d'onde plus des polaroïds orientés à +45 degrés de chacune des deux lames quart d'onde, figure 4-7b. En simulant cette configuration, on obtient les mêmes angles d'extinction, figure. 4-8b. Ceci prouve bel et bien que les polariseurs circulaires n'étaient pas destinés à faire des mesures optiques. Le filtre polaroid orienté à +45 degrés par rapport aux lames quartes d'onde a permis de converger vers des angles d'extinction complète.

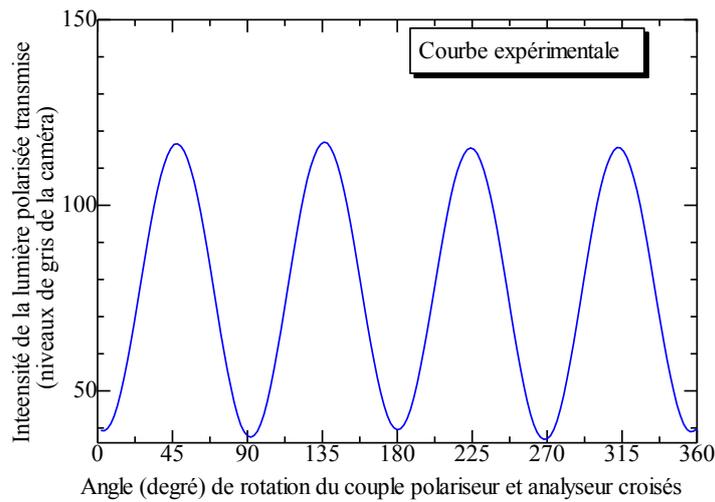
Dans la figure 4-7a et 4-8a, la lame polaroid absorbe une grande partie de l'intensité de la lumière polarisée transmise.

Pour vérifier le comportement des lames quart d'onde (absence de tout filtre polaroïd) entre polariseur et analyseur croisés, nous avons adopté la configuration de la figure 4-7c. Puis, nous avons repris les mêmes manipulations décrites précédemment. Ainsi, les résultats obtenus dans la phase expérimentale, figure 4-9a, sont cohérents avec ceux de la simulation de la figure 4-9b, car nous avons trouvé quatre angles d'atténuation.

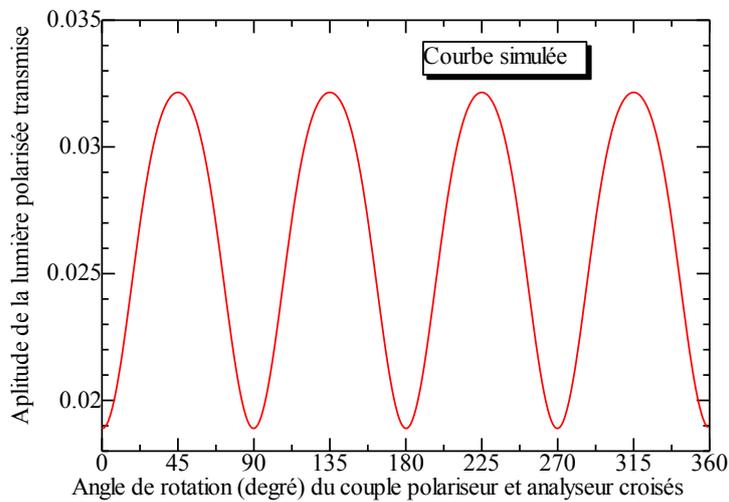
Dans la figure 4-8a, la courbe expérimentale n'atteint pas le zéro, tandis que dans la simulation la courbe passe par zéro. Cette différence de comportement vient de l'objet uni-axial biréfringent. La courbe dans la simulation a été obtenue avec un objet uni-axial biréfringent totalement homogène, tandis que dans la phase expérimentale c'est un échantillon biologique (qui possède une certaine variabilité) qui n'est pas parfaitement homogène.

Pour une seconde vérification sur les lames quart d'onde, nous avons introduit une certaine variabilité dans le volume uni-axial biréfringent et on a observé que les toutes les courbes ne passent pas par zéro, figure 4-9.

Pour rappel, dans la phase de simulation (chapitre 5 : Simulations Numériques), il est possible de calculer ou de mesurer l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers un volume uni-axial biréfringent. Cependant, nous ne sommes pas capables de mesurer expérimentalement cette amplitude dans le banc optique. Par contre, on peut mesurer son intensité (niveau de gris de l'image). De ce fait, dans la phase de simulation, on utilise l'amplitude de la lumière polarisée transmise, tandis que dans la phase expérimentale on utilise l'intensité de la lumière polarisée transmise. La forme des courbes restent identiques



(a)



(b)

Figure 4-9: Confrontation de la courbe simulée aux mesures expérimentales. (a) mesures expérimentales avec des lames quart d'onde entre polariseur et analyseur croisés et avec l'insertion d'un objet uni-axial biréfringent entre les deux lames quart d'onde. Les petites variations d'intensité observées sont à l'accumulation des erreurs d'angle des moteurs de rotation. (b) simulation numérique. Il y a quatre angles d'atténuation. Ordonnées : amplitude de la lumière comprise entre 0 et 1; Abscisses : angle de rotation du couple polariseur analyseur croisés.

#### 4.2.5 Caméras d'acquisitions

Parmi les caméras numériques dont nous disposons, il faut trouver celle qui offre la meilleure linéarité et qui donne un meilleur rapport signal sur bruit. C'est pourquoi la linéarité de chaque caméra est vérifiée, puis nous avons choisi la caméra la plus linéaire.

Une série d'acquisitions est effectuée avec chaque caméra dans les mêmes conditions de mesure. Au total trois piles d'images sont enregistrées, c'est-à-dire autant de caméras testées.

La caméra Sony XC-77/77CE est une caméra monochromatique de 768×493 pixels, la caméra JAI CV-M91 est une caméra RGB de 768×494 pixels, et la caméra Pulnix 6E-TM est une caméra noir et blanc de 1024×1024 pixel. Elles sont toutes basées sur la Technologie de CCD.

Pour une rotation complète du polariseur avec analyseur fixé à 0 degré (sans objet), nous avons capturé séparément une pile d'images avec chaque caméra pour tester leur linéarité (tous les paramètres auto métriques du menu de la caméra sont désactivés : balance, gamma, etc...). Puis, par comparaison avec le modèle descriptif basé sur le théorème de Malus (équation 4.4), on mesure l'intensité de la lumière polarisée transmise en sortie d'analyseur.

Pour une confrontation des mesures expérimentales avec celles de l'équation 4.4, nous avons sélectionné un point de mesure dans chaque pile d'images, puis celui-ci est tracé dans un tableur. Dans la figure 4-10, les courbes en bleu représentent l'intensité de la lumière polarisée transmise mesurées avec chacune des caméras, tandis que la courbe en rouge représente le modèle prédictif basé sur le théorème de Malus (équation 4.4). Dans la figure 4-10a et 4.10b, les mesures obtenues respectivement avec la caméra Sony et JAI, permet d'observer un écart maximum entre la courbe simulé et la courbe expérimentale. Car la caméra Sony et JAI montrent un défaut de linéarité. Cependant, dans la figure 4-10c, on observe une superposition de la courbe théorique avec la courbe expérimentale, celle-ci permet de dire que la caméra Pulnix ne présente aucun défaut de linéarité.

Pour une meilleure observation, nous avons choisi de tracer les courbes expérimentales obtenues en fonctions des valeurs calculées (modèle de Malus). Les figures 4-11a et 4-11b ont confirmé le défaut de linéarité de la caméra Sony et celle de JAI, c'est-à-dire que les mesures expérimentales ne sont pas alignées autour d'une droite. La figure 4-10c confirme que la caméra Pulnix est bien linéaire car les mesures expérimentales et celles simulées sont toutes alignées autour d'une droite.

En résumé, la confrontation des mesures simulées avec les mesures expérimentales obtenues avec les caméras Sony et JAI permet de dire que ces deux caméras présente un défaut de linéarité, tandis que la caméra Pulnix se révèle plus adaptée pour continuer avec les acquisitions de images entre polariseur et analyseur. De plus, les polariseurs linéaires et les deux lames quart d'onde se révèlent efficaces. Pour la suite des travaux présentés dans ce manuscrit, toutes les acquisitions et toutes les mesures seront faites avec les instruments que nous avons ainsi qualifiés.

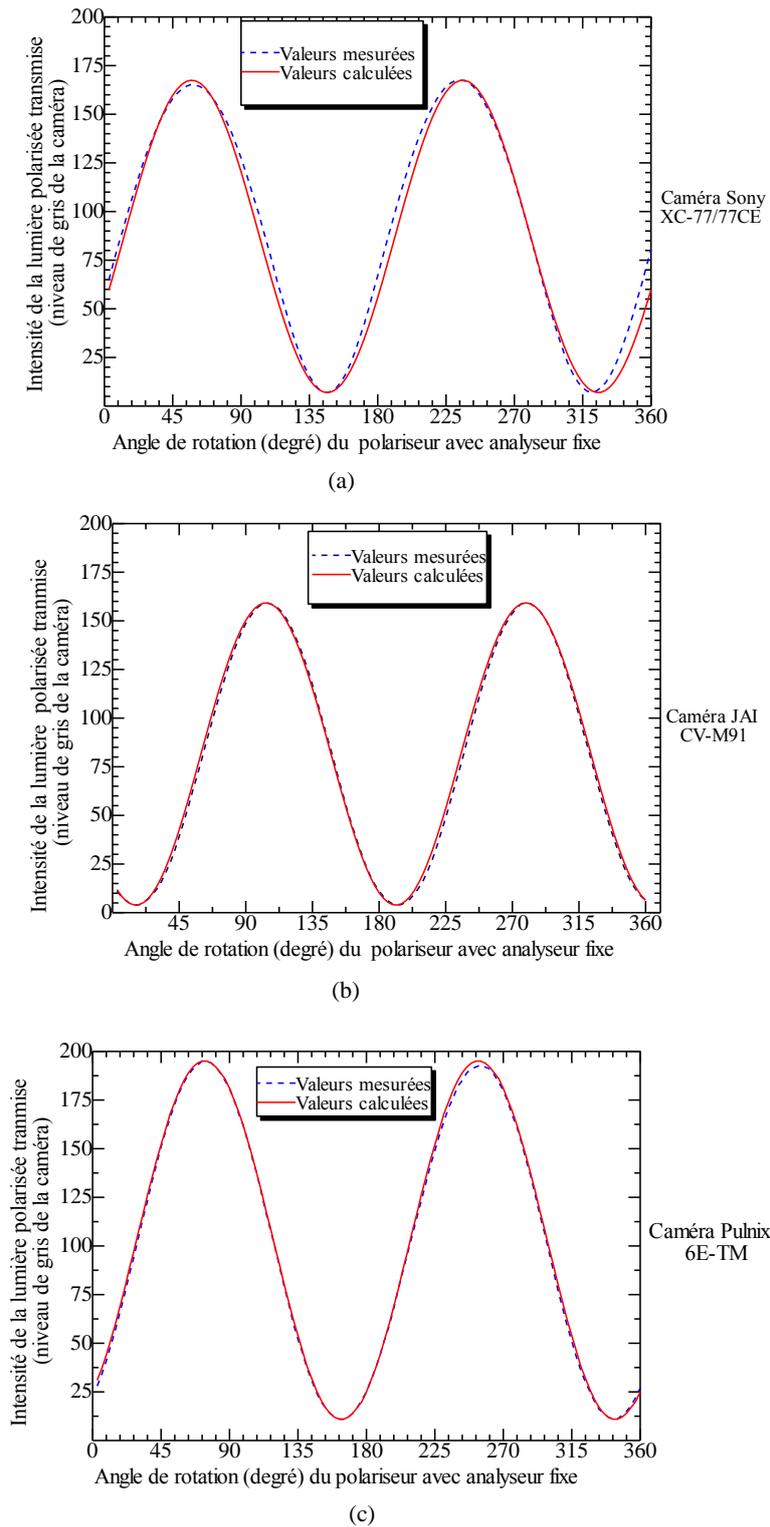
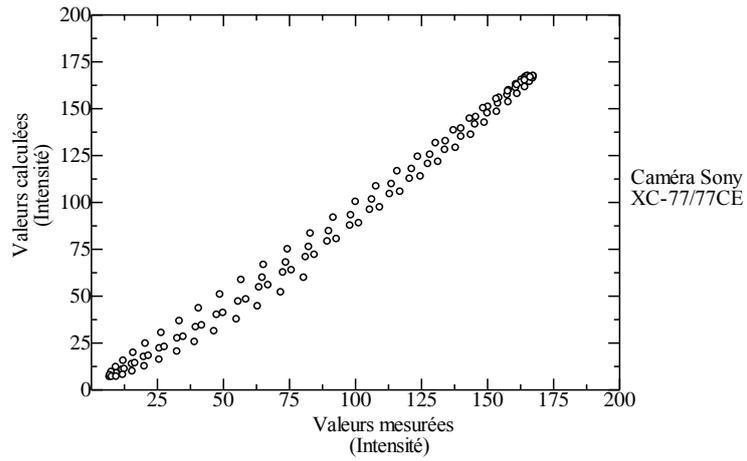
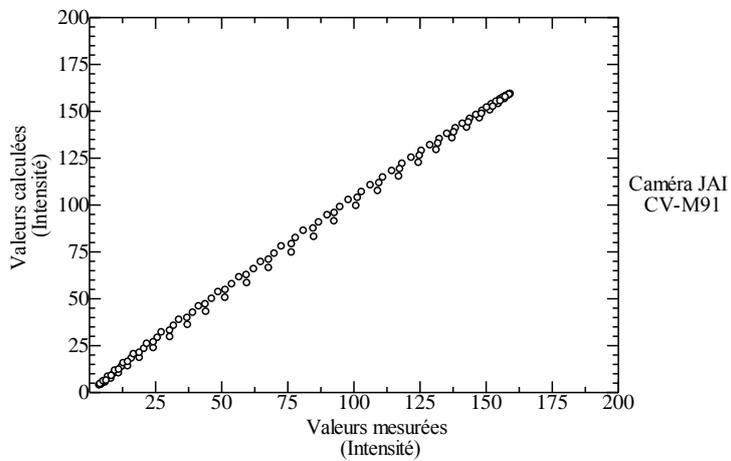


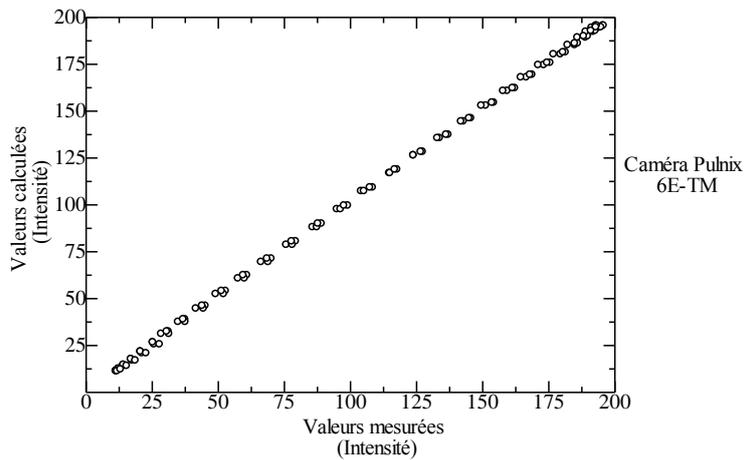
Figure 4-10 : Confrontation des mesures expérimentales avec la loi de Malus. Ajustement du modèle (rouge) avec les données de la caméra Sony (a), Pulnix (b), JAI (c). Le modèle (rouge) s'ajuste très bien avec les acquisitions (bleu) faites avec la caméra Pulnix  
 Ordonnées : Intensité de la lumière polarisée transmise ;  
 Abscisses : angle de rotation du polariseur avec analyseur fixe.



(a)



(b)



(c)

Figure 4-11: Mesures expérimentales confrontées aux mesures calculées (loi de Malus). (a) la caméra Sony présente un défaut de linéarité. (b) même remarque précédent pour la caméra JAI. (c) Confirme la linéarité de la caméra Pulnix. Cette caméra a été retenue pour faire les acquisitions des images entre polariseur et analyseur croisés

# Chapitre 5

## Simulations Numériques

<b>Chapitre 5</b> .....	73
<b>5.1 Objet uni-axial biréfringent entre le couple polariseur et analyseur croisés</b> .....	74
<b>5.2 Méthode analytique</b> .....	77
<b>5.3 Introduction d'un volume de <math>100 \times 100 \times 500 \mu\text{m}^3</math></b> .....	80
5.3.1 Volume homogène : fibre de myosine parallèle.....	80
5.3.2 Variation de l'angle d'azimut du volume de 0 à 90 degrés entre le couple polariseurs et analyseurs croisés. ....	80
5.3.3 Découplage de la mesure de l'angle d'azimut de celle de l'angle d'élévation dans le banc optique.....	84
5.3.4 Mesure entre polariseurs linéaires et circulaires, mesure de l'azimut à élévation constante. ....	85
5.3.5 Mesure entre polariseurs linéaires et circulaires, mesure de l'angle d'élévation à azimut constant. ....	87
5.3.6 Simulation d'un volume hétérogène : Angle solide de dispersion.....	88
5.3.7 Simulation d'un volume hétérogène : croisement de deux populations de fibres	93
<b>5.4 Présentation d'un modèle analytique pour extraire l'orientation des cardiomyocytes en lumière polarisée</b> .....	100
5.4.1 Ajustement du modèle avec le volume homogène simulé .....	100
5.4.2 Ajustement du modèle avec le volume non homogène simulé .....	101
5.4.3 Extraction des paramètres du modèle ( $A, B, \theta$ ) .....	102

## 5.1 Objet uni-axial biréfringent entre le couple polariseur et analyseur croisés

Le but de ce chapitre est d'étudier, d'analyser, et de modéliser le comportement d'un volume uni-axial biréfringent de  $100 \times 100 \times 500 \mu\text{m}^3$  en lumière polarisée. Le choix de la taille de ce volume est lié à la résolution des informations qui seront collectées dans un voxel dans la phase expérimentale. Ce volume de base ( $100 \times 100 \times 500 \mu\text{m}^3$ ) est décomposé en plusieurs éléments cubiques qui représentent l'équivalent de l'intersection des cellules de diamètre de  $20 \mu\text{m}$  chacune. La modélisation passe par deux étapes :

- 1) Etape 1 : Au départ, on suppose que le contenu du volume est parfaitement homogène (cardiomyocytes parallèles = volume homogène), c'est-à-dire que l'arrangement spatial des cardiomyocytes à l'intérieur du volume est le même ; la distribution des cardiomyocytes est totalement régulière et parfaitement parallèles les unes aux autres.
- 2) Etape 2 : On suppose que le volume  $100 \times 100 \times 500 \mu\text{m}^3$  est hétérogène par addition d'une variabilité de manière stochastique entre les cardiomyocytes à l'intérieur du volume avec deux modalités :
  - a) Variabilité de la direction dans un angle solide
  - b) Populations de cardiomyocytes se croisent.

Une analyse du comportement du volume dans les différentes configurations en lumière polarisée permet de comprendre, de modéliser, et de développer des algorithmes adéquats qui par la suite permettront d'analyser le comportement des vraies cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire.

L'orientation des cardiomyocytes à l'intérieur du volume est définie par deux angles : azimut ( $\theta$ ), et d'élévation ( $\Phi$ ). L'angle d'azimut est l'angle que fait un objet avec une référence, tandis que l'angle d'élévation est défini comme l'angle que fait un objet avec le plan  $xy$ , figure 5-1.

Pour modéliser le comportement du volume uni-axial biréfringent totalement homogène en lumière polarisée, il faut simuler un montage optique adéquat. Nous avons choisi le montage de la figure 5-2 parce qu'il permet d'avoir des informations pertinentes sur le comportement du volume uni-axial biréfringent.

La disposition géométrique des éléments optiques dans figure 5-2a permet de découpler la mesure de l'angle d'azimut de celle de l'angle d'élévation dans le système optique, c'est-à-dire la valeur pour laquelle l'angle d'azimut est indépendant du reste du système optique.

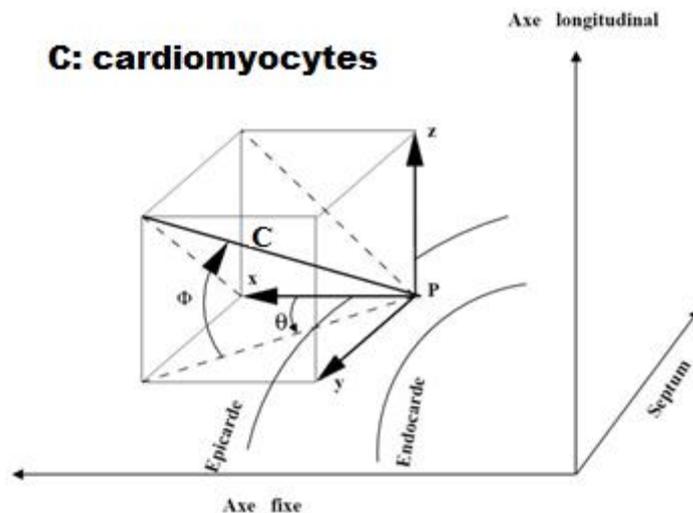


Figure 5-1: Représentation de l'angle d'azimut ( $\theta$ ) et l'angle d'élévation ( $\Phi$ ) modifié, d'après (Mourad, 2003).

Dans notre cas, l'angle d'azimut se définit comme l'angle que fait le plan des cardiomyocytes avec l'axe  $Ox$ .

La figure 5-2b permet de découpler la mesure de l'angle d'élévation de l'effet de l'angle d'azimut dans le système optique, en cherchant les positions optimales des lames quart d'onde. Ainsi, l'angle d'élévation est défini comme l'angle que fait le plan des cardiomyocytes avec l'axe  $xy$ .

Nous avons choisi le montage de la figure 5-2a pour différencier l'effet de l'angle d'azimut de l'angle d'élévation. Ce montage est composé d'un polariseur linéaire avec son axe de sélection orienté selon l'axe  $Ox$ , avec son angle de rotation  $\alpha_1 = 0$  degré, et l'axe de sélection du second polariseur où l'analyseur est suivant l'axe  $Oy$ , avec son angle de rotation  $\alpha_2 = 90$  degrés. Pour débiter la simulation, le polariseur et l'analyseur sont croisés, c'est-à-dire que l'axe de sélection du polariseur ( $\alpha_1 = 0$  degré) est perpendiculaire à l'axe de sélection de l'analyseur ( $\alpha_2 = \alpha_1 + 90$  degrés). Lorsque l'axe de sélection du polariseur est orienté à 0 degré suivant l'axe  $Ox$ , la composante  $E_y$  du vecteur champ électrique  $\vec{E}$  suivant l'axe  $Oy$  est nulle, et il reste que la composante  $E_x$  du vecteur champ électrique  $\vec{E}$ . Pour l'analyseur c'est l'action inverse qui est produite, il reste que la composante  $E_y$  du champ électrique, ce qui revient à écrire :

$$E = E_x - E_y = 0, \text{ avec } A_x = A_y$$

Pour rappel, dans le cas des polariseurs linéaires, les deux composantes  $E_x, E_y$  du vecteur champ électrique  $\vec{E}$  sont en phase. Tout au long de la simulation, le polariseur et analyseur sont restés croisés afin de conserver la même référence.

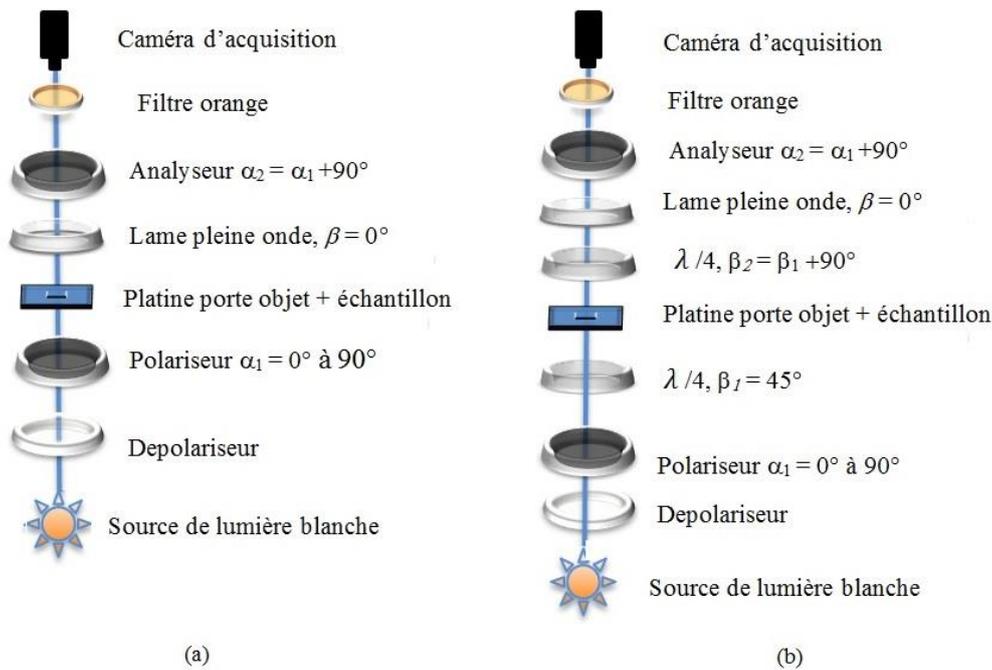


Figure 5-2 : Banc Optique. (a) mesure de l'angle d'azimut découplée de celle de l'angle d'élévation; (b) mesure de l'effet de l'angle d'élévation et de l'azimut dans le banc optique.

Le polariseur linéaire positionné à l'entrée du système a pour but de polariser linéairement le faisceau lumineux. Celui-ci perd plus de 50% de son intensité totale (Francois Brehat, 2003). Ce faisceau lumineux traverse le volume uni-axial biréfringent qui engendre un retard de phase  $\varphi$  de la lumière polarisée. Cependant, il est possible que le faisceau lumineux reste toujours polarisé après avoir traversé le volume, à condition que ce volume soit totalement homogène (le formalisme de Jones ou Mueller est applicable). Dans le cas contraire, la polarisation est partielle ou nulle (seulement le formalisme de Mueller est applicable). Toutefois, si le faisceau incident pénètre dans le volume uni-axial biréfringent le long de son axe optique, l'effet de la biréfringence est nulle (chapitre 3 : Méthodes Optiques, figure 3-4c), il n'y a pas de division de faisceau. L'angle que fait l'axe optique du volume uni-axial biréfringent avec l'axe de sélection du polariseur définit son angle d'azimut, tandis que l'angle que fait l'axe optique du volume avec le plan de l'axe de sélection du polariseur définit son angle d'élévation.

L'équation 5.2 permet de simuler, modéliser le comportement du volume uni-axial biréfringent entre le couple polariseur et analyseur croisés, et de discerner l'effet de l'angle d'azimut du volume de celui de l'angle d'élévation comme le permet le montage optique de la figure 5-2a. Pour rappel, dans un banc optique où les éléments du système sont montés en cascade, la matrice de Mueller du système est le produit des matrices de Mueller de chaque élément, tel que :

$$M_{\text{sortie}} = M_n M_{n-1} \dots M_2 M_1 \quad (5.1)$$

Ce qui permet de traduire la figure 5-2a suivant l'équation ci-dessous :

$$M_{sortie} = P_{(\alpha_2)} \times O_{(2\theta, \phi(\Phi))} \times P_{(\alpha_1)} \times D \quad (5.2)$$

$m_{00}$  : représente le premier élément de la matrice  $M_{sortie}$  c'est-à-dire l'amplitude du faisceau lumineux en sortie d'analyseur.

Dans la phase expérimentale (chapitre 6 : expérimentations), les mesures se font entre 0 et 90 degrés. Dans cet intervalle, nos mesures ne sont pas perturbées par l'effet de l'ellipticité  $\varepsilon$  du volume ou du pilier des valves auriculo-ventriculaire. Ainsi, la valeur de cette ellipticité est fixée à 0,0002 dans toute la simulation (système linéaire).

Avant d'entrer directement dans la simulation et la modélisation, il est nécessaire d'établir un modèle analytique basé sur l'exploitation du formalisme Mueller. Ce formalisme est basé sur l'exploitation de l'intensité de la lumière. Dans le banc optique réel, nous sommes capables de mesurer expérimentalement l'intensité de la lumière transmise. Grâce au modèle analytique qui sera développé dans ce chapitre, il est possible d'extraire les paramètres ( $A, B, \theta, \Phi$ ) ci-dessous, tel que :

- a) l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume ( $B$ )
- b) l'angle d'élévation ( $\Phi$ )
- c) l'angle d'azimut ( $\theta$ )
- d) la valeur de l'angle de décalage des courbes par rapports à l'axe des abscisses ( $A$ )

Après élaboration, et vérification du modèle analytique, ce dernier est utilisé à travers un greffon sur ImageJ qui permet d'extraire dans un vrai cœur humain, la cartographie de :

- a) l'amplitude de la lumière polarisée transmise dans chaque voxel ( $B$ )
- b) l'angle d'élévation de chaque voxel ( $\Phi$ )
- c) l'angle d'azimut de chaque voxel ( $\theta$ )
- d) l'angle de décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses dans chaque voxel ( $A$ ).

L'étude des différentes configurations des cardiomyocytes à l'intérieur du volume a pour but d'approcher le mieux que possible de la réalité des cardiomyocytes, c'est-à-dire l'orientation 3D des vraies cardiomyocytes à l'intérieur du myocarde humain.

## 5.2 Méthode analytique

La biréfringence maximale d'un matériau optique est donnée par :

$$\Delta_n = n_e - n_o \quad (5.3)$$

Lorsqu'un matériau biréfringent est traversé par un faisceau lumineux, le retard de phase engendré dans ce matériau dépend de sa biréfringence, de son épaisseur et de la longueur d'onde de la lumière. Le retard de phase s'écrit :

$$\varphi = \frac{2\pi\Delta_n e}{\lambda}, \text{ avec } \lambda \text{ toujours } \neq 0 \quad (5.4)$$

Au fur et à mesure que l'épaisseur du matériau augmente, le retard de phase  $\varphi$  devient de plus en plus important. Pour minimiser  $\varphi$  il faut tailler le matériau biréfringent à la bonne épaisseur. Ainsi, la différence de chemin optique est nulle si la biréfringence du matériau est nulle. Cette différence n'est pas défini si la longueur d'onde la lumière est nulle. La longueur d'onde de la lumière est l'un des paramètres le plus important dans un milieu optique. Elle est défini comme le chemin parcouru par l'onde au cours d'une période  $T$ , ou le rapport de la vitesse de la lumière dans le vide sur sa fréquence  $f$ , la longueur d'onde s'exprime par :

$$\lambda = vT = \frac{v}{f}, \text{ avec } f \text{ toujours } \neq 0 \quad (5.5)$$

La longueur d'onde du spectre visible est comprise entre 400 nm et 700 nm. Au-delà de 780 nm on passe de l'infrarouge aux ondes radio, et en dessous de 400 nm, on passe de l'ultra-violet aux ondes gamma. La charte d'interférence de Newton Michel-Levy est une charte qui permet d'observer les couleurs d'interférence produites par un matériau biréfringent en fonction de son épaisseur et de la différence de chemin optique dans ce matériau. Grâce à la charte de Michel Levy, il est possible d'interpréter les différentes couleurs d'interférences observées dans un milieu optique.

La biréfringence maximale d'un matériau biréfringent peut être représentée en fonction de son angle de l'élévation, et s'exprime par :

$$\Delta_{max} = n_e - n_o = \left( \frac{1,5}{\sqrt{(1 - 2\Delta_{max} \cos^2(\Phi)) / 1,5}} - 1,5 \right) \quad (5.6)$$

La biréfringence maximale d'un matériau uni-axial (matériau avec un seul axe optique) biréfringent dépend de la valeur de son angle d'élévation  $\Phi$ . Quand l'angle d'élévation  $\Phi = 0$  degré, la biréfringence du matériau uni-axial est au maximum car la fonction cosinus varie entre  $[-1, 1]$ . Au fur et à mesure que  $\Phi$  s'éloigne de zéro, la biréfringence maximale du volume diminue progressivement. Cependant, pour  $\Phi = 90$  degrés, la biréfringence maximale est nulle et la lumière se propage de façon isotrope à travers le matériau biréfringent.

Pour les tissus biologiques, par exemple le myocarde humain ou le pilier des valves auriculo-ventriculaires, la biréfringence maximale est de l'ordre de  $10^{-4}$ , et l'épaisseur des coupes sériées est

de 500  $\mu\text{m}$  (chapitre 2 : Matériels et Méthodes : préparation du cœur entier). Le résultat des simulations présentées dans ce chapitre est un compromis avec les mesures expérimentales faites sur le myocarde humain. Les valeurs ci-dessous sont adoptées dans la simulation en fonction des paramètres physique de l'échantillon biologique, tel que :

- a) la biréfringence maximale du volume est de  $10^{-4}$
- b) l'épaisseur du volume est de  $500\mu\text{m}$
- c) la longueur d'onde moyenne de la lumière est de  $550\text{ nm}$
- d) le diamètre d'une cellule  $20\ \mu\text{m}$
- e) le nombre de cellule empilées 25

L'équation 5.2 permet de simuler le comportement du volume en lumière polarisée. Avec l'utilisation de GNU/Maxima (logiciel de calcul formel), il est possible de calculer de façon formelle l'expression analytique du terme  $m_{00}$  de la matrice de Mueller. Ce terme représente la variation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume en sortie d'analyseur.

L'amplitude d'une onde électromagnétique plane et transversale s'écrit toujours en fonction de son amplitude initiale multipliée soit par un sinus ou un cosinus (forme générale), et avec une pulsation  $\omega = 2\pi f$ , un déphasage  $\varphi$  qui peut être égal ou différent de zéro. Pour rester cohérent avec cette écriture, le choix est porté sur le calcul de l'amplitude de la lumière polarisée transmise dans toute la simulation au lieu de son intensité. Par contre, dans les phases expérimentales (chapitre 6), le banc optique ne permet pas de mesurer l'amplitude de la lumière polarisée transmise, seulement son intensité qui sera mesurée, et cette intensité est le niveau de gris de l'image. Pour rappel, le carré de l'amplitude de la lumière est proportionnel à son intensité.

Après des développements simplifiés sur GNU/Maxima (développement présenté en annexe) le terme  $m_{00}$  est fonction de  $\alpha$  et s'exprime par :

$$m_{00(\alpha)} = \frac{(1-\cos\varphi)-(1-\cos\varphi)\cos(-4\theta+\pi+4\alpha)}{8} \quad (5.7)$$

avec

$$k = \frac{(1-\cos\varphi)}{8} \quad (5.8)$$

l'équation 5.7 devient :

$$m_{00(\alpha)} = k \left( 1 - \cos \left( 4 \left( -\theta + \frac{\pi}{4} + \alpha \right) \right) \right) \quad (5.9)$$

L'équation 5.9 représente l'expression analytique du terme  $m_{00}$  de la matrice de Mueller, qui est fonction de l'angle de rotation  $\alpha$  du couple polariseur et analyseur croisés et de l'angle d'azimut  $\theta$ .

Il est possible d'extraire analytiquement l'angle d'élévation du matériau uni-axial biréfringent entre le couple polariseur et analyseur croisés (démonstration analytique en annexe). Dans l'équation 5.4, le retard de phase peut s'écrire :

$$\varphi = \frac{2\pi e}{\lambda} \times 1,5 \left( \frac{1}{\sqrt{u}} - 1 \right), \text{ avec } \lambda \text{ toujours } \neq 0 \quad (5.10)$$

Après simplification, on a

$$\varphi = \frac{3\pi e}{2\lambda} \varepsilon_1 \cos^2 \Phi, \text{ avec } \varphi_0 = \frac{3\pi e}{2\lambda} \varepsilon_1 \quad (5.11)$$

$$\varphi = \varphi_0 \cos^2 \Phi \quad (5.12)$$

En faisant intervenir l'intensité de la lumière polarisée transmise dans les calculs, l'angle d'élévation du volume peut être écrit en fonction de l'intensité ou de l'amplitude de la lumière polarisée transmise, on peut écrire :

$$\Phi = \cos^{-1} \left( \left( \frac{I}{I_{max}} \right)^{1/4} \right) \text{ ou } \Phi = \cos^{-1} \left( \left( \frac{A}{A_{max}} \right)^{1/2} \right) \quad (5.13)$$

L'équation 5.13 permettra d'extraire la valeur de l'angle d'élévation dans les acquisitions des images expérimentales pixel par pixel, c'est-à-dire pour chaque pixel donné, il est possible d'extraire son angle d'élévation et de dresser la cartographie des angles d'élévation dans le myocarde.

En résumé, le volume de  $100 \times 100 \times 500 \mu\text{m}^3$  sera simulé entre polariseur et analyseur croisés, et les équations décrites ci-dessus seront utilisées pour extraire les informations dans le volume voxel par voxel.

## 5.3 Introduction d'un volume de $100 \times 100 \times 500 \mu\text{m}^3$

### 5.3.1 Volume homogène : cardiomyocytes parallèles

### 5.3.2 Variation de l'angle d'azimut du volume de 0 à 90 degrés entre le couple polariseurs et analyseurs croisés.

Pour débiter la phase de simulation avec l'étude du comportement du volume uni-axial biréfringent entre polariseur et analyseur croisés, nous avons choisi la configuration de la figure 5-2a. Pour que le volume soit homogène, on suppose que les cardiomyocytes à l'intérieur de ce dernier soient totalement parallèles, réguliers, périodiques et définissent une géométrie parfaite, sans aucune

variabilité, figure 5-3. De ce fait, le volume uni-axial biréfringent est inséré entre le couple polariseur et analyseur croisés. L'angle d'élévation  $\Phi$  du volume est fixé à 0 degré. Une rotation du couple polariseur et analyseur croisés de 0 à 90 degrés permet d'observer des extinctions complètes de la lumière polarisée transmise quand l'axe de sélection du polariseur est parallèle à l'axe optique du volume uni-axial biréfringent.

Pour un azimut du volume à 0 ou à 90 degrés, on observe deux minima. Pour chaque angle d'extinction, la polarisation obtenue est une polarisation linéaire, car tout se passe comme si le volume était absent dans le banc optique. Pour les azimuts de 0 et de 90 degrés, l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume est au maximum (un maxima) quand le couple polariseur et analyseur croisés a tourné de 45 degrés. L'état de polarisation obtenu à la sortie de l'analyseur est elliptique car le déphasage induit par les deux rayons varie dans l'intervalle  $\{-45, -135, 45, 135\}$  degrés.

Le choix de limiter la rotation du couple polariseur et analyseur croisés de 0 à 90 degrés n'est pas fait au hasard. En effet, dans l'intervalle de 0 à 90 degrés on obtient deux minima et un maximum. Ceci est suffisant pour analyser le comportement du volume uni-axial biréfringent car toutes les courbes sont périodiques modulo 90 degrés. Ainsi, dans la figure 5-4, toutes les courbes obtenues avec l'équation 5.2 ont une même forme, même angle d'élévation, et une même amplitude. Cependant, elles sont décalées l'une par rapport à l'autre en fonction de l'angle d'azimut défini.

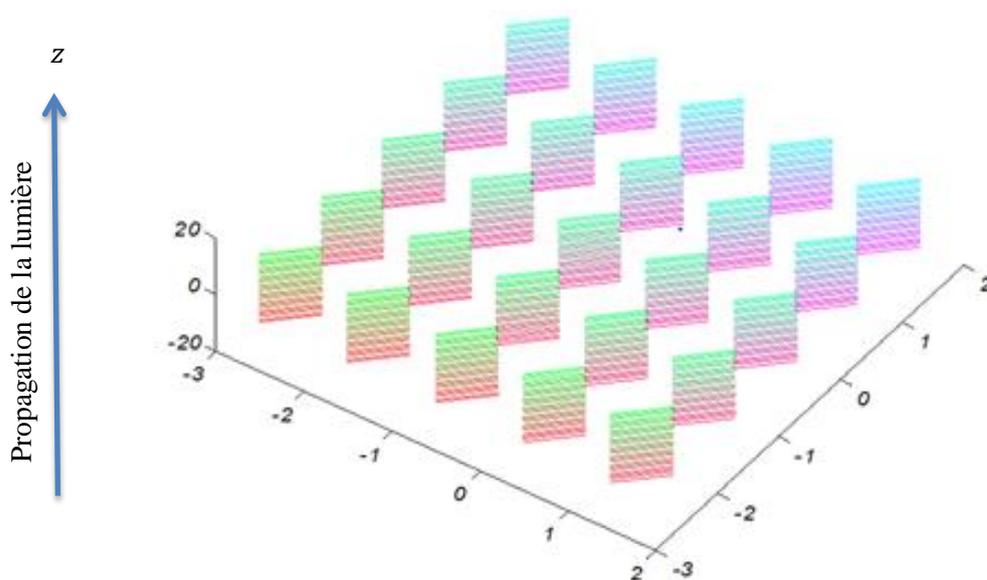


Figure 5-3: Volume homogène simulé. Toutes les cardiomyocytes à l'intérieur du volume sont totalement parallèles, réguliers, périodiques. Chaque cardiomyocyte est représenté par sa propre couleur. La taille du volume est  $5 \times 5$ , et chaque bloc est composé de 25 cardiomyocytes, au totale il existe 625 cardiomyocytes dans ce volume.

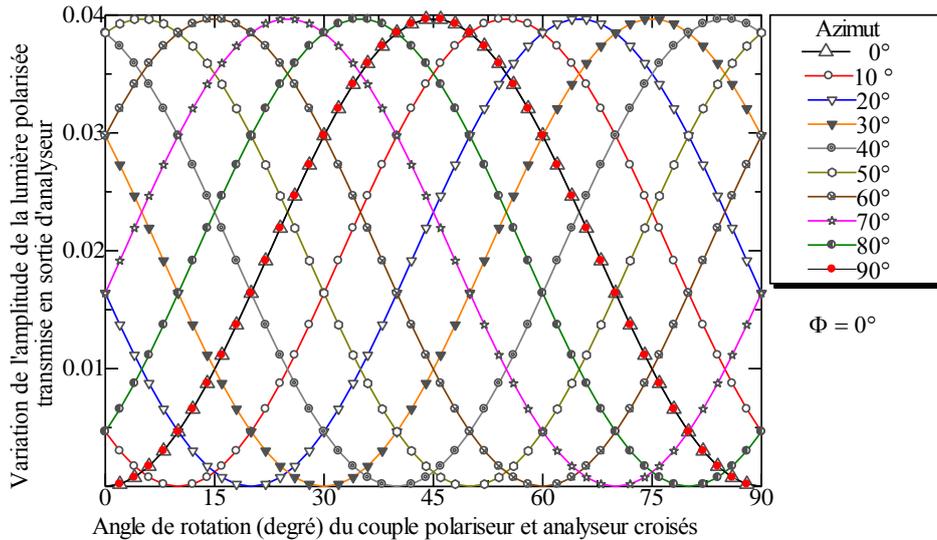


Figure 5-4: Variation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise en fonction de la rotation du couple polariseur et analyseur croisés pour des angles d'azimut variables. Chaque courbe représente la variation de l'amplitude de la lumière polarisée à travers le volume pour un azimut donné (0 à 90 degrés). Quand l'axe de sélection du polariseur est parallèle à l'axe optique du volume, il y a une extinction complète de la lumière. Nous avons choisi la rotation du couple polariseur et analyseur croisés de 0 à 90 degrés, car toutes les courbes sont périodiques modulo 90. De plus, dans l'intervalle de 0 à 90 degrés, il existe deux minima et un maximum, donc ceci est suffisant pour analyser le comportement du volume en lumière polarisée.

L'angle d'élévation du volume dépend de sa biréfringence maximum, et ce dernier est fonction du retard de phase induit dans le volume. Quand l'angle d'élévation  $\Phi = 0$  degré la valeur de l'amplitude de la lumière polarisée à travers le volume est au maximum selon l'équation 5.6. La même simulation qui a permis d'obtenir les courbes de la figure 5-4 est reprise, mais avec un angle d'élévation  $\Phi = 45$  degrés, figure 5-5 et  $\Phi = 67$  degrés, figure 5-6. Chaque courbe de la figure 5-5 et 5.6 représente la variation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise dans le volume et en sortie d'analyseur pour des azimuts différents. Cependant, la différence d'amplitude entre les deux figures est due à leurs angles d'élévation.

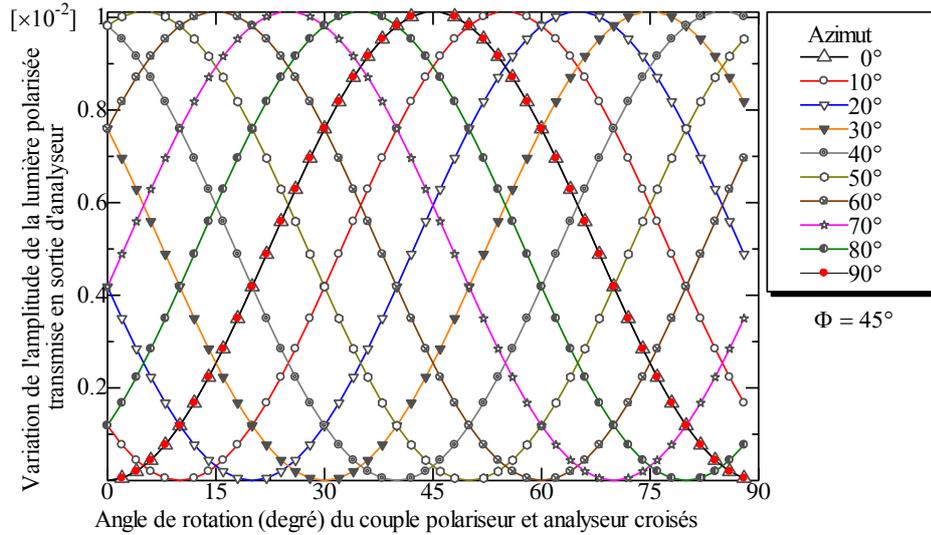


Figure 5-5: Variation de l'amplitude la lumière polarisée transmise pour un angle azimut variable et un angle d'élévation  $\Phi = 45$  degrés. L'amplitude maximale de la lumière polarisée transmise diminue considérablement en fonction de  $\Phi$ . Ordonnées : amplitude de la lumière polarisée transmise. Abscisses : angle de rotation du couple polariseur et analyseur croisés.

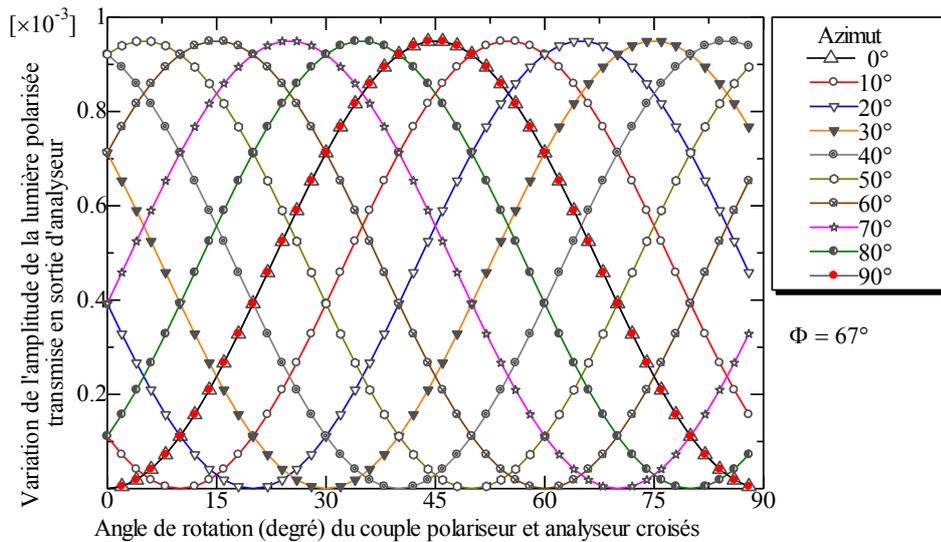


Figure 5-6 : Variation de l'amplitude la lumière polarisée pour un azimut variable et un angle d'élévation  $\Phi = 67$  degrés. Comme dans les deux figures précédentes, l'amplitude de la lumière décroît.

De la figure 5-4 à 5-6, l'amplitude maximale de la lumière polarisée transmise à travers le volume passe de  $0,04$  à  $1 \times 10^{-3}$ . Cette amplitude est au maximum quand l'axe optique du volume est orienté à un angle d'azimut égal à  $0$  ou  $90$  degrés lorsque l'axe de sélection du polariseur est à  $45$  degrés par rapport à l'axe  $Ox$ .

Selon l'équation 5.6, la biréfringence du volume uni-axial est au maximum, quand la valeur de son angle d'élévation tend vers 0 degré. Celle-ci entraîne que l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume et en sortie de l'analyseur est au maximum. Pour  $\Phi = 0$  degré, toutes les courbes de la figure 5-4 sont au maximum avec une amplitude égale à 0,04, tandis qu'une variation de  $\Phi = 45$  degrés (figure 5-5), et  $\Phi = 67$  (figure 5-6), les courbes passent respectivement d'une amplitude de  $1 \times 10^{-2}$  à  $1 \times 10^{-3}$ .

En résumé, l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume est au maximum quand la valeur de son angle d'élévation est au minimum, figure 5-4. De plus, Nous avons observé une modulation en l'amplitude de la lumière polarisée transmise par l'angle d'élévation.

### 5.3.3 Découplage de la mesure de l'angle d'azimut de celle de l'angle d'élévation dans le banc optique

Pour découpler la mesure de l'angle d'azimut de celle de l'angle d'élévation dans le système optique, nous avons choisi le montage de la figure 5-2a, il est composé de deux polariseurs linéaires avec leur axe de sélection orthogonal l'un par rapport à l'autre. Comme on l'a déjà observé dans la figure 5-4 à 5.6, dans l'intervalle de 0 à 90 degrés il existe un seul maximum à 45 degrés quand l'axe optique du volume est orienté à un azimut fixé à 0 ou 90 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur, c'est à ce point que la polarisation est elliptique (chapitre 3 : Méthodes Optiques : lumière polarisée). Pour rappel, la polarisation est dite elliptique quand le retard de phase  $\varphi$  se trouve dans l'intervalle  $\{-45, -135, 45, 135\}$  degrés, et de plus les deux composantes orthogonales  $(E_x, E_y)$  du champ électrique sont déphasées l'une par rapport à l'autres.

L'axe optique du volume est fixé à un azimut de 45 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur. Puis, pour une variation du couple polariseur et analyseur croisés de 0 à 90 degrés, avec l'insertion du volume dont l'angle d'élévation varie de 0 à 90 degrés permet d'observer une extinction complète de la lumière polarisée à 45 degrés, quand l'axe de sélection du polariseur est parallèle à l'axe optique du volume, ce qui entraîne que toutes les courbes passent par leur minimum à 45 degrés. C'est à ce point-là, que la mesure de l'angle d'azimut est indépendante de celle de l'angle d'élévation et du reste du système optique, figure 5-7.

L'extinction de l'amplitude de la lumière polarisée transmise à 45 degrés, signifie que le volume est parfaitement homogène, ses structures géométriques sont celles d'un cristal uni-axial biréfringent. La figure 5-7, nous servira de référence pour déterminer le niveau d'homogénéité des tissus biologiques qui sera décrit plus tard dans les chapitres 6 et 7. Grâce à ce résultat, il nous sera possible d'interpréter les mesures expérimentales qui seront présentées dans le chapitre 6 (Expérimentations) avec les piliers des valves auriculo-ventriculaire, et le chapitre 8 (étude d'un cœur entier).

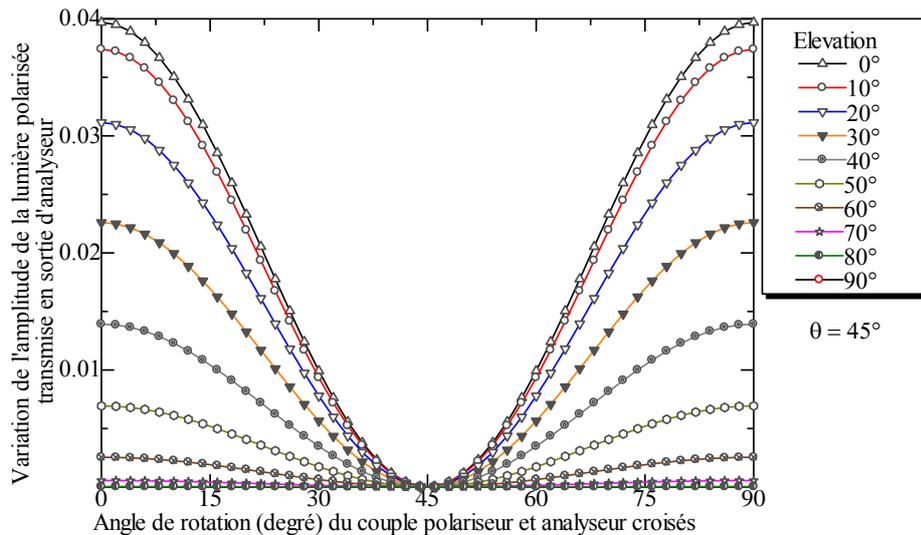


Figure 5-7: Variation de l'amplitude de la lumière polarisée en fonction du couple polariseur et analyseur croisés pour des angles d'élevation variables. L'axe optique du volume est fixé à un azimut de 45 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur. Une rotation du couple polariseur et analyseur croisés avec l'insertion du volume permet d'observer une variation de l'amplitude de la lumière polarisée pour chaque valeur de l'angle d'élevation (0, 10, 20, ..., 90 degrés). Toutes les courbes passent par leur minimum à 45 degrés et l'amplitude de la lumière est nulle en ce point. Ordonnées : amplitude de la lumière polarisée transmise comprise entre 0 et 0,04 (relativement à une source d'amplitude égale à 1). Abscisses : angle de rotation du couple polariseur et analyseur croisés.

### 5.3.4 Mesure entre polariseurs linéaires et lames quart d'onde, mesure de l'azimut à élévation constante.

L'insertion de deux lames quart d'onde dans le montage optique de la figure 5-2a, permet de transformer une polarisation purement linéaire ou elliptique en une polarisation circulaire comme dans la figure 5-2b. Les deux lames quart d'onde produisent un retard de phase d'un quart de longueur d'onde chacun. Ils sont insérés entre les deux polariseurs linéaires et l'axe neutre de la première lame quart d'onde est orientée à 45 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur, puis l'axe neutre de la deuxième lame quart d'onde est positionnée à 90 degrés par rapport à l'axe de sélection de la première lame quart d'onde, donc à 135 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur. Ce montage permet de discerner le comportement de l'angle d'élevation du volume dans le système optique, lorsque l'angle d'azimut du volume varie de 0 à 90 degrés. Quand l'axe neutre de la première lame quart d'onde tourne de  $\beta_1 + 45$  degrés et l'axe neutre de la deuxième lame quart d'onde tourne de  $\beta_2 + 90$  degrés, et que le couple de polariseur et analyseur est fixé respectivement à 0 et 90 degré. Toutes les courbes obtenues passent par leur maximum à 45 degrés quel que soit la valeur de l'angle d'azimut du volume, figure 5-8. Ceci indique que l'état de polarisation obtenu est purement circulaire. Pour  $\Phi = 0$  degré figure 5-8a, et  $\Phi = 45$  degrés figure 5-8b.

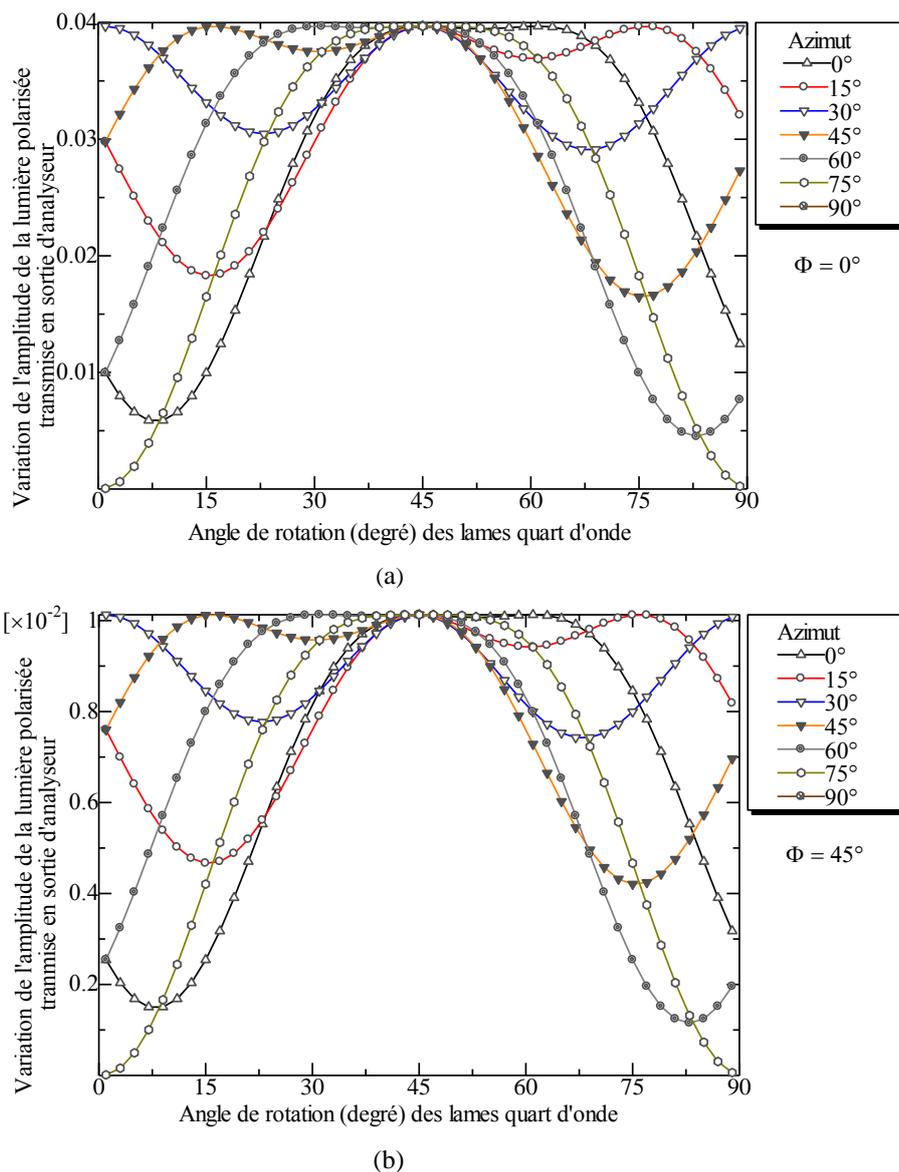


Figure 5-8: Variation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise en fonction des lames quart d'onde. L'axe neutre de la première lame quart d'onde tourne de  $\beta_1 + 45$  degrés, tandis que l'axe neutre de la deuxième lame quart d'onde tourne de  $\beta_2 + 90$  degrés, et le couple polariseur et analyseur est fixé respectivement à 0 et 90 degrés. (a) l'angle d'élévation du volume est fixé à 0 degré, l'amplitude de la lumière est au maximum. Puis, l'angle d'élévation du volume est fixé à 45 degrés, figure (b), l'amplitude de la lumière est au minimum. L'angle d'azimut du volume varie de 0 à 90 degrés entre les deux lames quart d'onde. Toutes les courbes passent par 45 degrés quel que soit la valeur de l'angle d'azimut, ainsi que pour les deux valeurs  $\Phi$ . Une augmentation de  $\Phi$  entraîne une diminution de l'amplitude de la lumière polarisée à travers le volume.

Chaque courbe de la figure 5-8a ( $\Phi = 45$  degrés) et 5-8b ( $\Phi = 67$  degrés), représente la variation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume et en sortie d'analyseur pour un angle d'azimut donné. Quel que soit la valeur de l'angle d'azimut, il existe un iso point à 45 degrés. Cette configuration nous a permis de trouver un iso point avec les lames quart d'onde pour la mesure de l'angle d'élévation.

### 5.3.5 Mesure entre polariseurs linéaires et lames quart d'onde, mesure de l'angle d'élévation à azimut constant.

Dans la figure 5-2b le volume est fixé à un angle azimut de 45 degrés entre les deux lames quart d'onde et par rapport à l'axe de sélection du polariseur. La même simulation de la section précédente est reprise, mais avec l'angle d'azimut du volume fixé à 45 degrés, et son angle d'élévation varie de 0 à 90 degrés. Pour une variation de l'angle d'élévation et une rotation des lames quart d'onde, l'amplitude de la lumière polarisée transmise diminue au fur et à mesure que l'angle d'élévation augmente (figure 5-9). Cependant, l'amplitude de la lumière polarisée transmise est toujours au maximum à 45 degrés quelle que soit la valeur de l'angle d'élévation. De plus, toutes les courbes passent par leur maximum à ce même point. Ceci explique que l'effet de l'angle d'élévation du volume dans le montage de la figure 5-2b, n'est rien d'autre qu'une diminution de l'amplitude de la lumière polarisée transmise pour chaque valeur  $\Phi$ . Ainsi, toute autre variation de l'amplitude de la lumière polarisée à travers le volume qui ne dépend pas de l'angle d'élévation, peut être imputée à la présence d'une variabilité dans le volume de mesure. Chaque courbe de la figure 5-9 représente la variation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume et en sortie d'analyseur pour un angle d'élévation donné, et avec un angle d'azimut du volume fixé à 45 degrés.

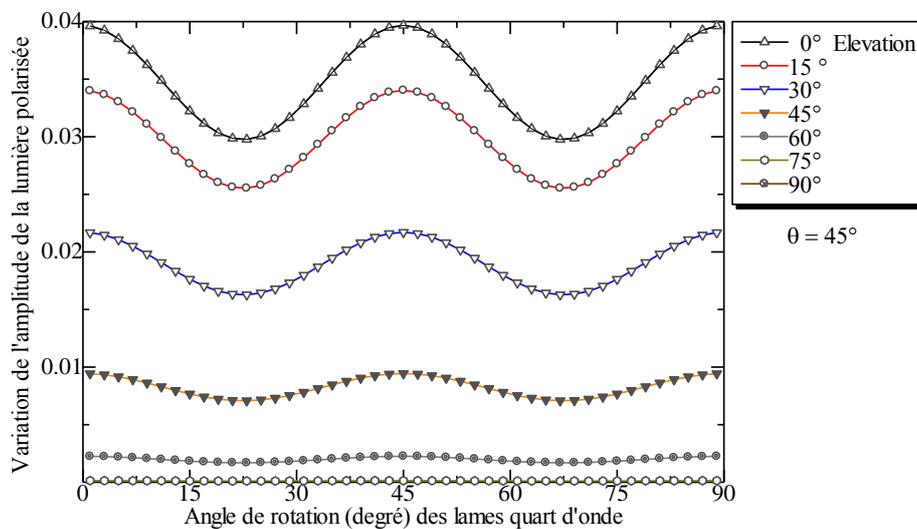


Figure 5-9: Variation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise en fonction des lames quart d'onde, du couple polariseur et analyseur croisés, et de l'angle d'élévation du volume. La même simulation qui a permis d'obtenir la figure 5-8 est reprise. Par contre, l'angle d'azimut du volume est fixé à 45 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur, et l'angle d'élévation du volume varie de 0 à 90 degrés. Pour chaque angle de l'élévation, toutes les courbes passent par leur maximum à 45 degrés. Ce point-là, représente le point de découplage de l'angle d'élévation dans le système optique.

En résumé, l'angle d'élévation du volume entraîne une diminution de l'amplitude de la lumière polarisée transmise. Grâce à ces résultats, il est possible de discerner sans aucun doute, l'effet de l'angle d'élévation de celle de l'azimut et vice versa.

### 5.3.6 Simulation d'un volume hétérogène : Angle solide de dispersion

Pour comprendre l'effet de l'hétérogénéité des orientations des cardiomyocytes observées avec un microscope confocale par Usson et al. (Y. Usson, 1994), il est nécessaire de simuler cette dispersion. L'introduction de stochastiques est obtenue en distribuant l'orientation des cardiomyocytes dans un angle solide de dispersion. Les cardiomyocytes à l'intérieur du nouveau volume ne sont plus parallèles, mais orientés à un angle bruité par rapport à une direction principale figure 5-10, 5-19a. Donc, au fur et à mesure que la variabilité augmente, le niveau d'homogénéité des cardiomyocytes devient de plus en plus faible. La variabilité de la direction peut être caractérisée par un angle solide de dispersion centré sur une direction principale (moyenne).

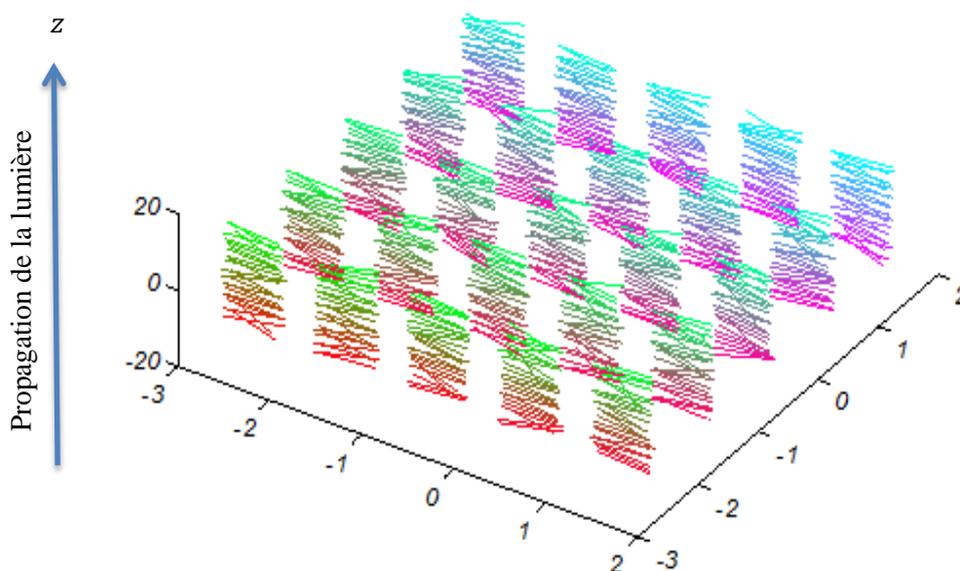


Figure 5-10: volume hétérogène. Ce volume est obtenu par l'ajout d'un angle solide de dispersion de 15 degrés dans le volume de la figure 5-3.

Pour analyser un tel comportement des cardiomyocytes avec l'introduction d'un angle solide de dispersion de 15 degrés dans le volume, nous avons choisi le montage de la figure 5-2a. Ainsi, le volume est inséré entre le couple polariseur et analyseur croisés avec un angle d'azimut fixé à 45 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur. L'angle d'élévation du volume est fixé à 0 degré afin que l'amplitude de la lumière est au maximale, comme nous l'avons montré dans les figures 5-8 et 5-9. Une variation de l'angle solide de dispersion des cardiomyocytes de 0 à 40 degrés à l'intérieur du volume, permet d'observer une variation de l'amplitude ( $B$ ) de la lumière polarisée transmise pour chaque valeur de l'angle solide de dispersion, un décalage ( $A$ ) des courbes par rapport à l'axe des

abscisses qui caractérise l'homogénéité du volume, et une variation de l'angle d'azimut  $\theta$ , figure 5-11. Dans la figure 5-11, chaque courbe représente la variation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume pour un angle solide de dispersion donné. L'amplitude maximale de la première courbe est égale à 0,04 (pour une amplitude maximale de la source égale à 1). Figure 5-11b, représente un agrandissement de la figure 5-11a.

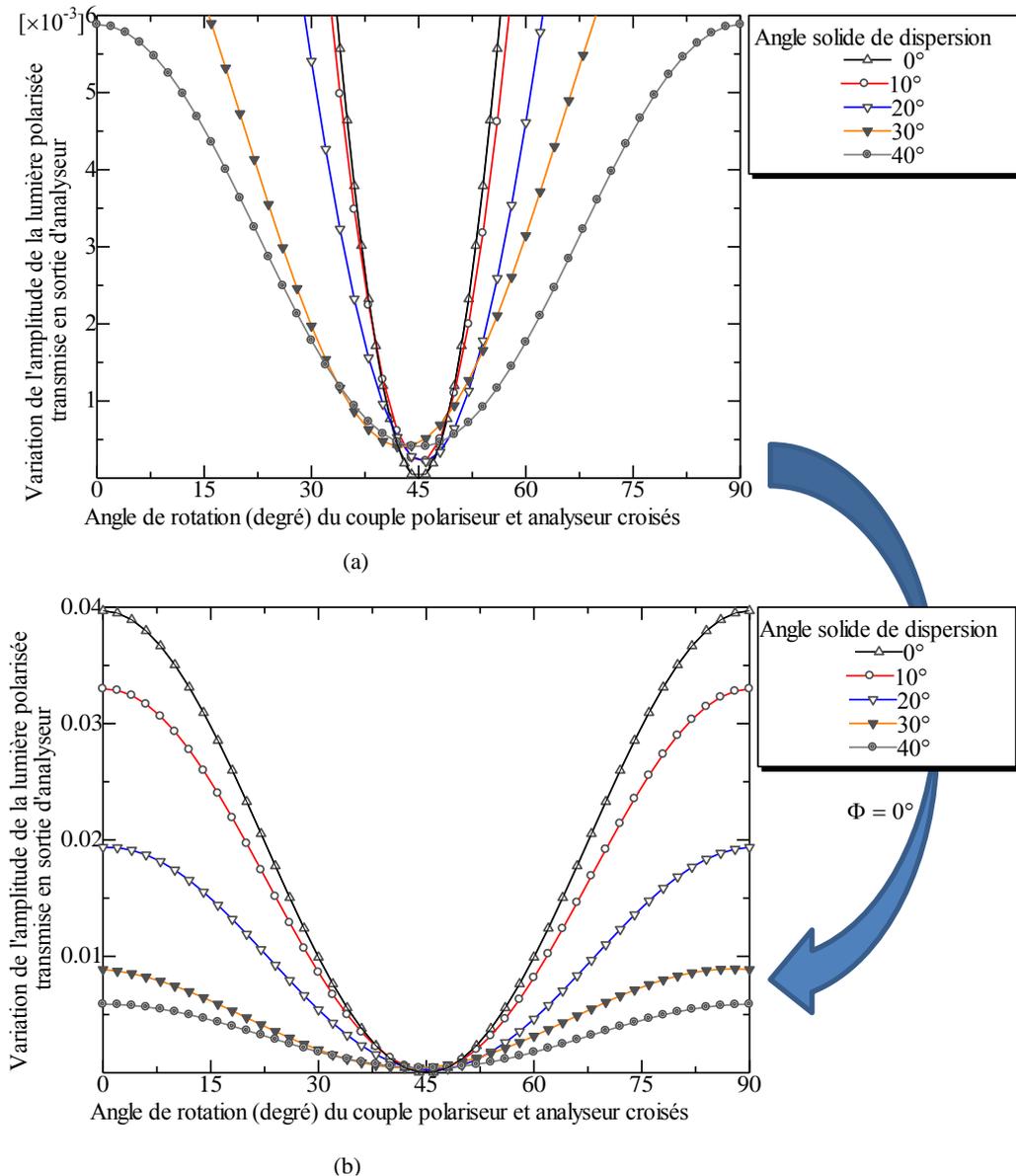


Figure 5-11: Variation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise en fonction du couple polariseur et analyseur croisés avec un angle solide de dispersion de 15 degrés dans le volume. (a) ajout de manière stochastique d'une variabilité d'un angle solide de dispersion qui varie de 0 à 40 degrés. (b) Agrandissement de (a). Les courbes commencent à se détacher de l'axe des abscisses au fur et à mesure que la variabilité augmente. Donc à 45 degrés, l'amplitude de la lumière n'est pas nulle. Ordonnées : amplitude de la lumière. Abscisses : angle de rotation du couple polariseur et analyseur croisés.

L'angle solide de dispersion et l'angle d'élévation du volume entraînent tous deux une diminution de l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume. Cependant, l'angle d'élévation ne

produit aucun décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses (figure 5-7), alors que l'ajout d'une variabilité entraîne un décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses, ceci est bien visible dans la figure 5-11b.

En présence d'hétérogénéité, les courbes commencent à se détacher progressivement par rapport à l'axe des abscisses, donc l'amplitude de la lumière n'est plus nulle quand l'axe de sélection du polariseur est parallèle à l'axe optique du volume. Puisque cette amplitude diminue pour chaque valeur de l'angle solide de dispersion, il est nécessaire d'étudier sa variation, figure 5-12.

Dans la figure 5-11, seule la courbe avec un angle de dispersion égal à zéro degré passe exactement à 45 degrés, et les autres courbes sont au voisinage de 45 degrés. Il est nécessaire d'analyser la variation de l'angle moyen d'azimut du volume en fonction de l'angle solide de dispersion, figure 5-13.

La mesure du décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses (amplitude minimale) permet d'estimer le niveau d'homogénéité des cardiomyocytes à l'intérieur du volume, figure 5-14. Une augmentation de l'angle solide de dispersion provoque un plus grand décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses. De plus, il y a une atténuation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume, cette atténuation est due à des fuites du faisceau lumineux à travers le volume car les cardiomyocytes ne sont pas exactement parallèles. L'état de polarisation de la lumière à travers un volume hétérogène est inconnu, car un volume avec un faible niveau d'homogénéité peut forcément modifier l'état de polarisation de la lumière polarisée transmise, la polarisation obtenue peut être totale, partielle ou nulle. Grâce à la matrice de Mueller qui prend en compte tous les états de polarisation de la lumière, nos résultats ne sont pas perturbés par l'état de polarisation à travers le volume. Pour connaître cet état de polarisation, il y a deux méthodes:

- a) Utilisation des paramètres de Stokes pour calculer le degré de polarisation de la lumière à travers le volume, (chapitre 3 : Méthodes Optiques, équation 3.23, 3.71)

$$DP = \frac{I_{pol}}{I_{totale}} = \frac{\sqrt{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2}}{S_0} \quad (5.14)$$

- b) La décomposition de la matrice de Mueller en utilisant l'algorithme de Lu et Chipman (S. Y. Lu, 1996),

$$M = M_{\Delta} M_R M_D \quad (5.15)$$

$$[M] = \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{P}_{\Delta} & (M_{\Delta}) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{0} & (M_R) \end{bmatrix} T_o \begin{bmatrix} 1 & \vec{D}^T \\ \vec{D} & (M_{\Delta}) \end{bmatrix} \quad (5.16)$$

Selon l'équation 5.6, la biréfringence maximale du volume dépend du retard de phase et de l'angle de l'élévation. Une augmentation de la variabilité (rapport signal sur bruit) des cardiomyocytes dans le volume entraîne une diminution de la biréfringence, et du retard de phase.

Une approche statistique (comportement stochastique) permet une meilleure estimation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise, de l'angle d'azimut et du décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses. Cinq jeux de données de 10 populations chacun, sont simulés respectivement avec un angle solide de dispersion de 0, 10, 20, 30, 40 degrés. Dans la figure 5-12 la courbe représente la moyenne des amplitudes maximales des valeurs mesurées, la barre de haut est + écart-type et celle de bas est - écart-type. Pour chaque valeur de l'angle solide de dispersion, l'amplitude maximum de la lumière polarisée transmise à travers le volume décroît, figure 5-12.

Dans la figure 5-13 il est possible d'observer la variation de l'angle d'azimut moyen du volume en fonction de la variation de l'angle solide, et la figure 5-14 est la variation du décalage des courbes (amplitude minimale) par rapport à l'axe des abscisses en fonction de l'angle solide de dispersion.

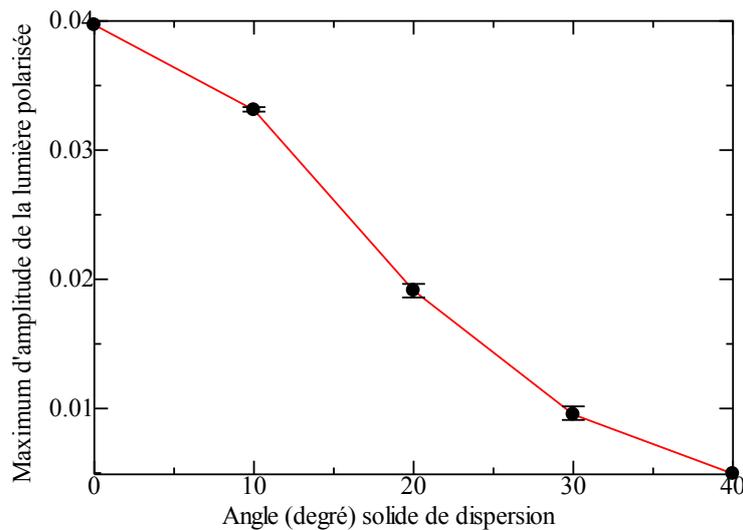


Figure 5-12: Courbe maximum d'amplitude de la lumière polarisée en fonction de l'angle solide de dispersion. Chaque point correspond à une valeur moyenne de l'amplitude de la lumière polarisée transmise, la barre de haut est + écart-type et celle de bas - écart-type. Ordonnées : amplitude de la lumière compris entre 0 et 1. Abscisses: Angle solide de dispersion.

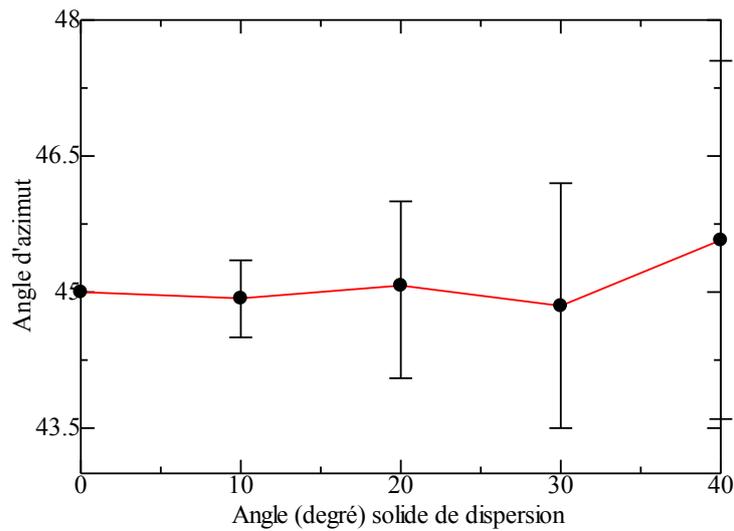


Figure 5-13: Variation de l'angle d'azimut en fonction de l'angle solide de dispersion. L'introduction de l'angle solide de dispersion dans le volume de manière stochastique entraîne une variation de l'angle d'azimut. Selon cette figure, l'angle d'azimut varie entre 43 et 47 degrés. . Ordonnées : variation de l'angle d'azimut. Abscisses : angle solide de dispersion.

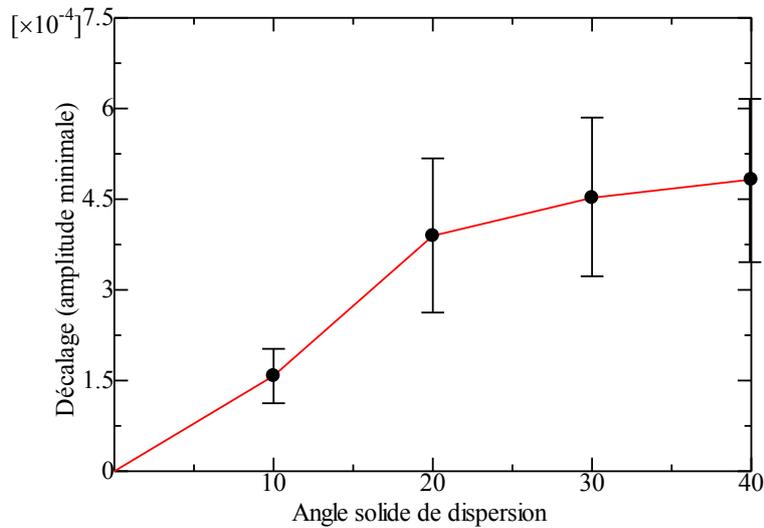


Figure 5-14: Variation du décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses (amplitude minimale) en fonction de l'angle solide de dispersion. Le décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses est l'un des paramètres le plus important dans les jeux de données simulées. En effet, il permet de caractériser le niveau d'homogénéité du volume. Au fur et à mesure que le décalage par rapport à l'axe des abscisses augmente, cela traduit le niveau d'homogénéité du volume qui devient de plus en plus faible.

### 5.3.7 Simulation d'un volume hétérogène : croisement de deux populations de cardiomyocytes

Pour simuler le croisement des cardiomyocytes à l'intérieur du volume, il est nécessaire de diviser les cardiomyocytes en deux populations, figure 5-15. L'axe optique de la première population de cardiomyocytes est fixé à un angle d'azimut de 0 degré par rapport à l'axe de sélection du polariseur, et l'axe optique de la seconde population de cardiomyocytes est positionné à un angle d'azimut qui varie de 0 à 90 degrés par rapport à la première population de cardiomyocytes.

Une rotation du couple polariseur et analyseur croisés de 0 à 90 degrés, avec l'insertion du volume avec un angle élévation 0 degré permet de voir que l'amplitude maximale de la lumière est toujours égale à 0,04 quand les deux populations des cardiomyocytes sont superposées l'un sur l'autre. Dans ce cas, le volume se comporte comme un volume parfaitement homogène, avec des cardiomyocytes parfaitement alignées et parallèles entre elles, et la même courbe de la figure 5-4 a été retrouvé (azimut 0 ou 90 degrés).

Par contre, au fur et à mesure que l'angle de croisement des deux populations de cardiomyocytes augmente, le volume devient de moins en moins homogène, et l'amplitude de la lumière diminue progressivement, figure 5-15 et figure 5-16.

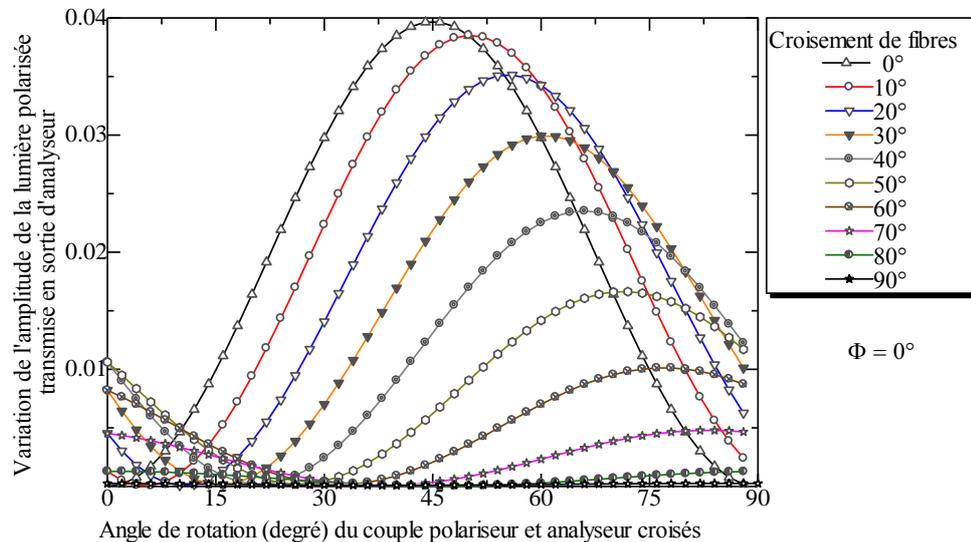


Figure 5-15: Variation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise en fonction de l'angle de croisements des deux populations de cardiomyocytes. Figure (a) volume simulé avec croisement de cardiomyocytes. Figure (b) chaque courbe représente la variation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise dans le volume quand deux populations de cardiomyocytes sont croisées à un angle de 0, 10, 20, ..., 90 degrés. L'amplitude de la lumière est au maximum quand les deux populations de cardiomyocytes sont superposées. Au fur et à mesure que le croisement des cardiomyocytes augment l'intensité de la lumière diminue. Ordonnées : amplitude de la lumière polarisée transmise. Abscisses : angle de rotation du couple polariseur et analyseurs croisés.

Le croisement des cardiomyocytes perturbe la structure géométrique du volume, et cette perturbation entraîne une diminution de la biréfringence du volume, et une diminution du retard de phase. La longueur d'onde la lumière reste inchangée.

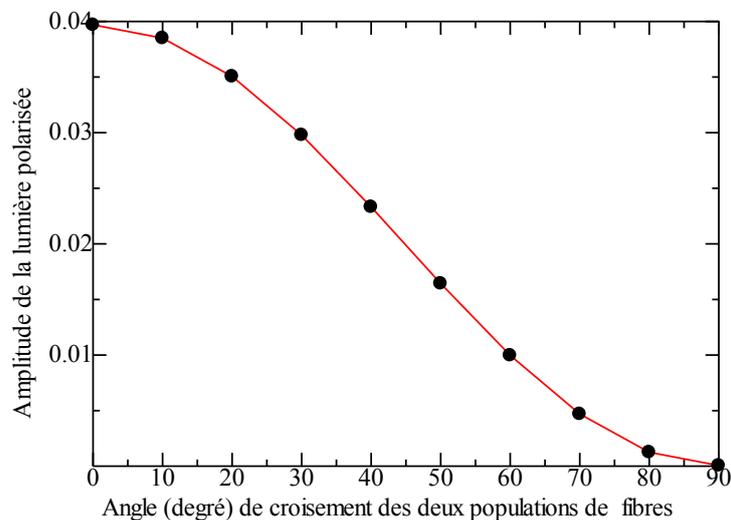


Figure 5-16: Variation de l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume en fonction de l'angle des croisements des cardiomyocytes. Chaque point représente un croisement de cardiomyocytes. Ordonnées : amplitude de la lumière comprise entre 0 et 1. Abscisses : angle de croisement des deux populations de cardiomyocytes.

En absence de tout angle solide de dispersion, et pour chacune des deux populations de cardiomyocytes et sans-croisement de celle-ci, l'amplitude maximale de la lumière est 0,04.

La figure 5-16 permet d'observer la variation de l'amplitude de la lumière polarisée en fonction de l'angle de croisement des deux populations de cardiomyocytes. Pour chaque augmentation de l'angle de croisement des deux populations de cardiomyocytes, l'amplitude maximale de la lumière polarisée transmise diminue.

La figure 5-17 représente la variation de l'angle d'azimut en fonction de l'angle de croisement des deux populations de cardiomyocytes. L'angle d'azimut moyen est la bissectrice des deux directions des faisceaux de cardiomyocytes, par exemple si une population des cardiomyocytes est orientée à 20 degrés par rapport à la première population, l'angle d'azimut résultant est de 10 degrés.

La figure 5-18 montre la variation du décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses en fonction de l'angle de croisement des deux populations de cardiomyocytes. En absence de tout angle solide de dispersion des cardiomyocytes, le décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses

(amplitude minimum) commence à croître à partir de zéro. Puis continue à augmenter au fur et à mesure que le croisement des cardiomyocytes augmente et commence à décroître progressivement à partir de 45 degrés.

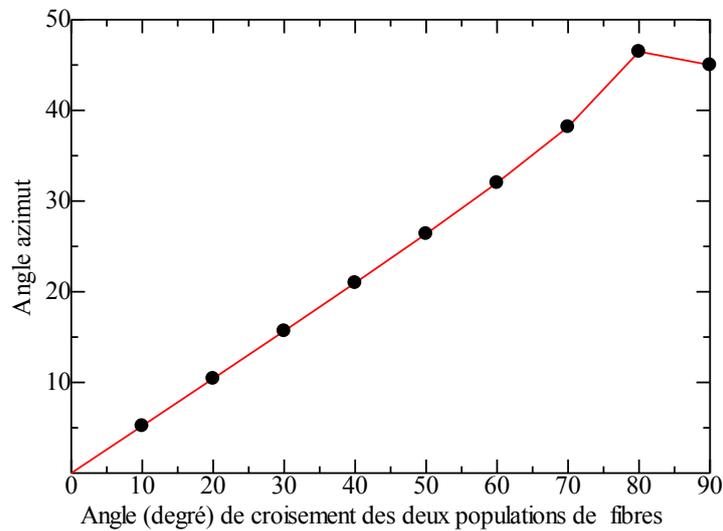


Figure 5-17: Variation de l'angle d'azimut du volume en fonction de l'angle de croisement des cardiomyocytes. La bissectrice des deux directions de croisement des cardiomyocytes définit l'angle d'azimut. Ordonnées : angle d'azimut. Abscisses : angle croisements des deux populations de cardiomyocytes.

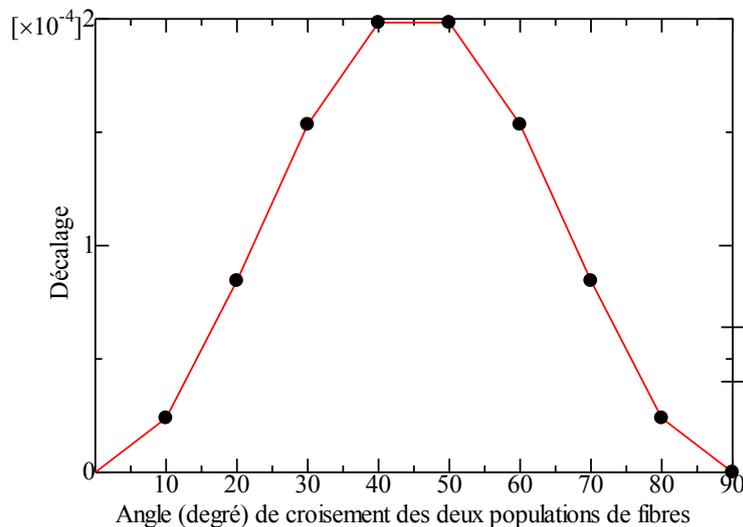
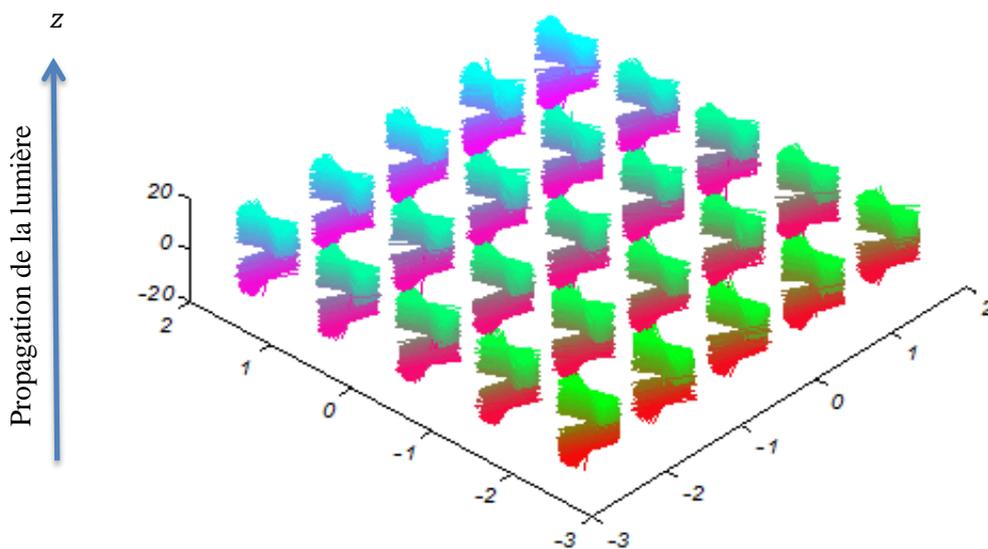


Figure 5-18: Variation du décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses en fonction de l'angle de croisement des fibres. La variation de ce décalage commence à zéro pour continuer à augmenter au fur et à mesure que l'angle de croisement des cardiomyocytes augmente, puis commence à décroître à partir de 45 degrés. Pour rappel, ce décalage permet de caractériser le niveau d'homogénéité des cardiomyocytes à l'intérieur du volume. Ordonnées : décalage. Abscisses : angle croisements des deux populations de cardiomyocytes

En absence de tout angle solide de dispersion dans le volume, la première courbe passe par son maximum à 0,04 quand les deux populations de cardiomyocytes sont superposées et parallèles.

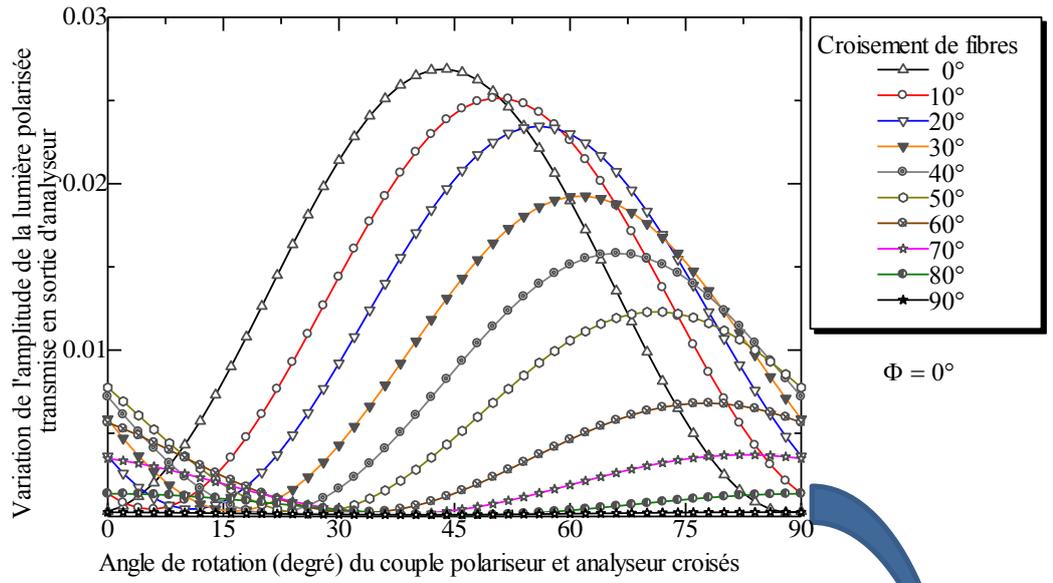
Cependant, avec l'insertion d'un angle solide de dispersion de 15 degrés au sein des deux populations de fibre, l'amplitude maximale de la lumière polarisée transmise est inférieure à 0,04, même quand les deux populations de cardiomyocytes sont parallèles et superposées figure 5-19. La présence de l'angle solide de dispersion diminue fortement l'amplitude de la lumière transmise à travers le volume.

Dans la figure 5-19a les faisceaux de cardiomyocytes ne sont pas totalement alignés les uns par rapport aux autres, mais ils sont bruités par rapport à la direction principale. La dispersion au sein des deux populations de cardiomyocytes, ne permet pas d'avoir un faisceau de cardiomyocytes aligné, mais des croisements au sein d'un même faisceau de cardiomyocytes. Un agrandissement de la figure 5-19 permet d'observer le détachement des courbes par rapport à l'axe des abscisses, figure 5-19c.

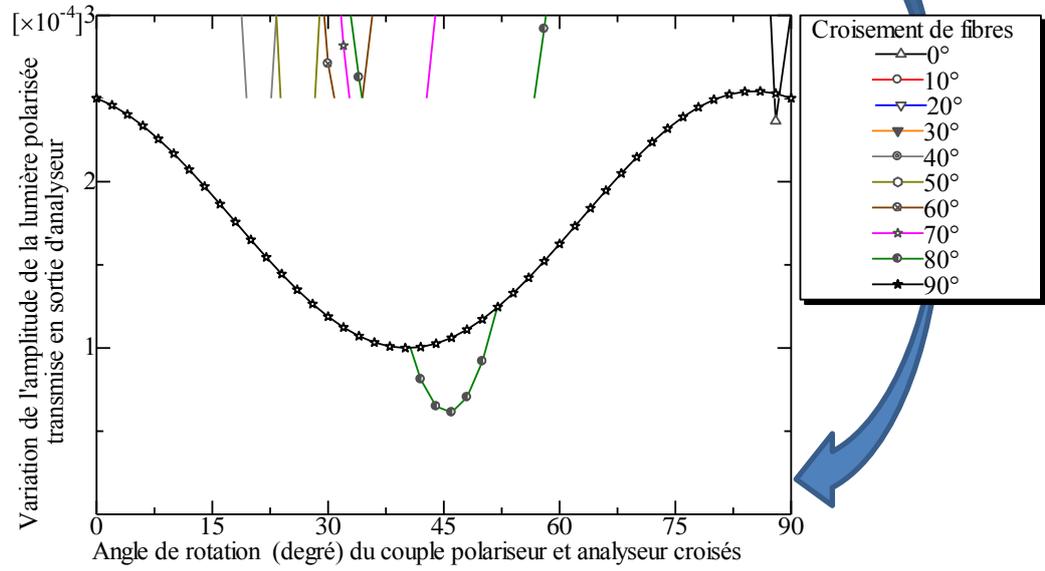


Volume hétérogène simulé. Croisement de deux populations de cardiomyocytes à l'intérieur du volume avec un angle solide de dispersion de 15 degrés.

(a)



(b)



(c)

Figure 5-19: Croisement de deux populations de cardiomyocytes avec angle solide de dispersion. Pour une augmentation de l'angle de croisement des deux populations de cardiomyocytes, l'amplitude de la lumière polarisée transmise diminue progressivement. Un grandissement de (b), permet d'observer le décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses. Ordonnées : Amplitude de la lumière polarisée transmise. Abscisses : angle de rotation du couple polariseur et analyseur croisés.

Une approche statistique permet de mieux interpréter les résultats trouvés, car il est nécessaire d'analyser le comportement de l'amplitude de la lumière ( $B$ ), de l'angle d'azimut ( $\theta$ ), et le décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses ( $A$ ). Ainsi, un jeu de données de 50 populations est simulé avec un angle solide de dispersion de 15 degrés. La courbe représente la valeur moyenne mesurée, barre supérieur est + écart-type, et barre inférieur est - écart-type.

La figure 5-20 montre la variation de l'amplitude maximale de la lumière polarisée transmise en fonction de l'angle de croisement des deux populations de cardiomyocytes. Comme il a été déjà dit, l'angle d'azimut du système est la bissectrice des deux directions des cardiomyocytes figure 5-21. En raison de présence de variabilité au sein des deux populations de cardiomyocytes (angle solide de dispersion 15 degrés), l'amplitude minimale ne commence pas à zéro, mais à une valeur quelconque parce que le volume n'est pas homogène figure 5-22.

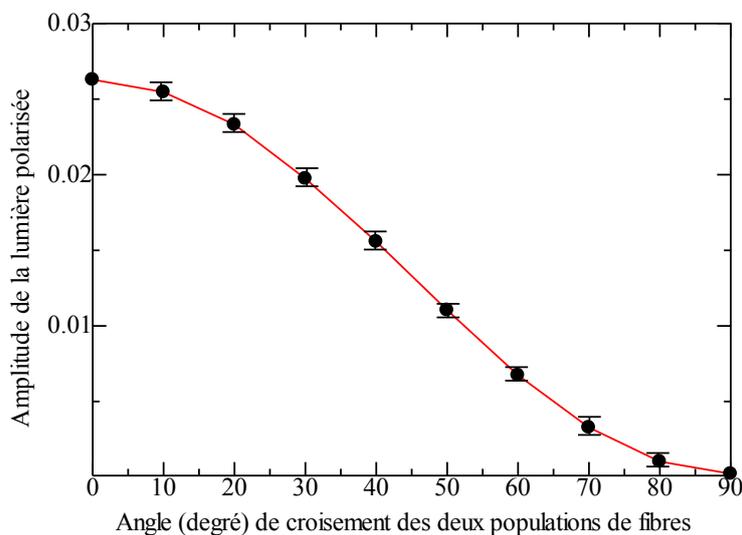


Figure 5-20: Variation de l'amplitude de la lumière de polarisée transmise en fonction du croisement des cardiomyocytes avec un angle solide de dispersion de 15 degrés. Ordonnées : amplitude de la lumière. Abscisses : angle de croisement des deux populations de cardiomyocytes.

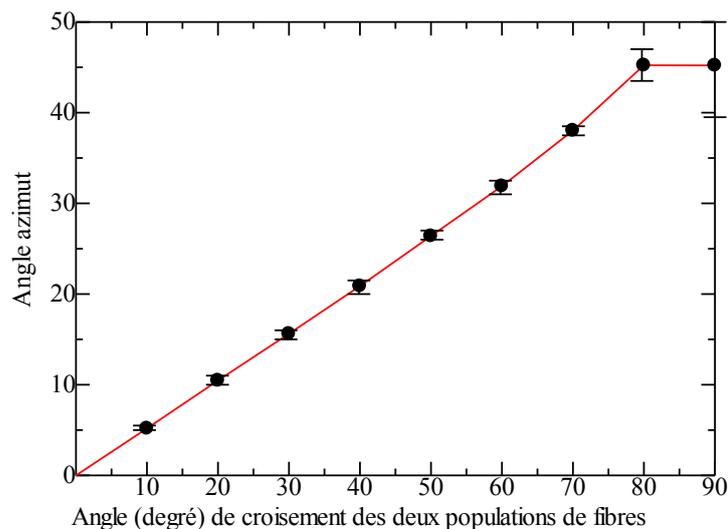


Figure 5-21: Variation de l'angle d'azimut du volume en fonction de l'angle de croisement des deux populations de cardiomyocytes avec un angle solide de dispersion de 15 degrés. La bissectrice des deux directions des cardiomyocytes définit l'angle d'azimut du volume. Ordonnées : angle d'azimut. Abscisses : angle croisement des deux populations de cardiomyocytes.

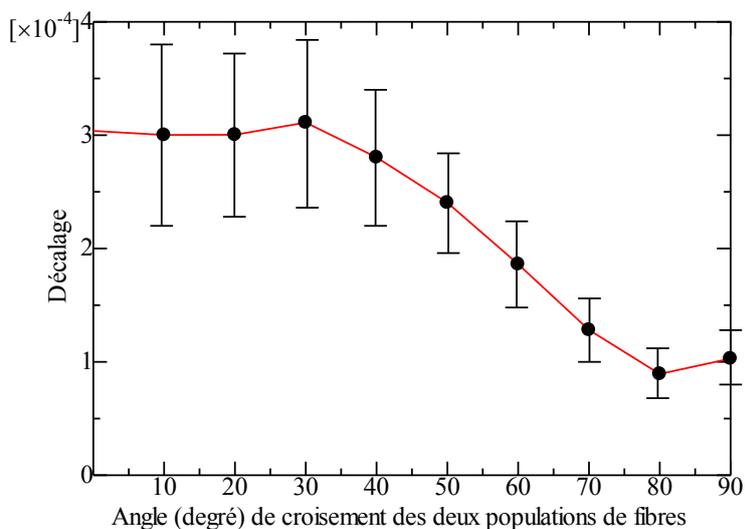


Figure 5-22: Variation du décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses (amplitude minimale) en fonction de l'angle de croisement des deux populations de cardiomyocytes avec un angle solide de dispersion de 15 degrés. A cause de l'angle solide de dispersion le décalage des courbes commence à une valeur qui est différente de 0. Ordonnées : Décalage. Abscisses : croisement des deux populations de cardiomyocytes.

Les figures 5-16 et 5-20 ont la même forme de courbe, par contre elles sont différentes en amplitude. La figure 5-16 à une amplitude de 0,04 tandis que celle de la figure 5-20 est de 0.026. Il est déjà démontré que cette différence est due à l'introduction d'un angle solide de dispersion.

La mesure de l'angle d'azimut dépend de la direction des croisements des deux populations de cardiomyocytes. La faible variation de cette mesure avec l'insertion de l'angle solide de dispersion de 15 degrés, n'influence pas les résultats de la figure 5-17 et 5-21. Les courbes ont mêmes formes.

Cependant, les figures 5-18 et 5-22 représentent le décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses. Ces deux figures n'ont pas les mêmes formes de courbes. La figure 5-18 est non bruitée, ce qui entraîne que le décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses commence à croître partir de zéro, et augmente progressivement. En effet, à 45 degrés, l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume en ce point, commence à décroître ce qui entraîne une diminution du décalage à partir de ce point. Par contre, l'introduction de l'angle solide de dispersion de 15 degrés dans le volume, figure 5-22, perturbe fortement le décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses. De plus, le décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses commence à une valeur différente de zéro. Ce résultat nous servira dans la phase expérimentale pour avoir une estimation sur le niveau d'homogénéité dans le myocarde.

## **5.4 Présentation d'un modèle analytique pour extraire l'orientation des cardiomyocytes en lumière polarisée**

Le but du modèle analytique est de fournir un outil facilitant l'extraction des mesure des cartographies du myocarde humain en lumière polarisée, telle que :

- a) la cartographie de l'amplitude de la lumière polarisée qui permet d'en déduire la cartographie de l'angle de l'élévation
- b) la cartographie de l'angle d'azimut
- c) la cartographie du décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses.

### **5.4.1 Ajustement du modèle avec le volume homogène simulé**

L'équation 5.2 est utilisée pour générer une famille de courbes qui permet d'observer la variation de l'amplitude de lumière polarisée transmise à travers le volume quand ce dernier est placé entre le couple polariseur et analyseur croisés (figure 5-2a), ou entre le couple des polariseurs circulaires (figure 5-2b). A partir des courbes générées, il est aussi possible d'en déduire un modèle expérimental, car l'amplitude de la lumière polarisée transmise à travers le volume varie comme le carré du cosinus. Le modèle expérimental dépend de l'amplitude de la lumière polarisée transmise, de l'angle de rotation du couple polariseur et analyseur croisés, et de l'angle d'azimut du volume. Cependant, avec le formalisme de Mueller il est possible de déduire mathématiquement l'expression analytique de ce modèle, équation 5.17.

$$m_{00}(\alpha) = B \cos^2 \left( 2 \left( \alpha + \frac{\pi}{4} - \theta \right) \right) \quad (5.17)$$

La courbe en rouge provient de simulation avec l'équation 5.2, et les croix en bleu représentent l'ajustement du modèle obtenue avec l'équation 5.17, figure 5-23. Cette équation est démontrée analytiquement grâce à la matrice Mueller, équation (5.7), qui représente l'amplitude de la lumière polarisée (démonstration en annexe). Ce modèle est valable dans le cas où le volume est parfaitement homogène ou dans le cas d'un cristal uni-axial biréfringent totalement homogène. Pour rappel, un cristal est parfaitement homogène si ses structures moléculaires, et atomiques ont une répétition régulière, périodique qui définit sa perfection géométrique.

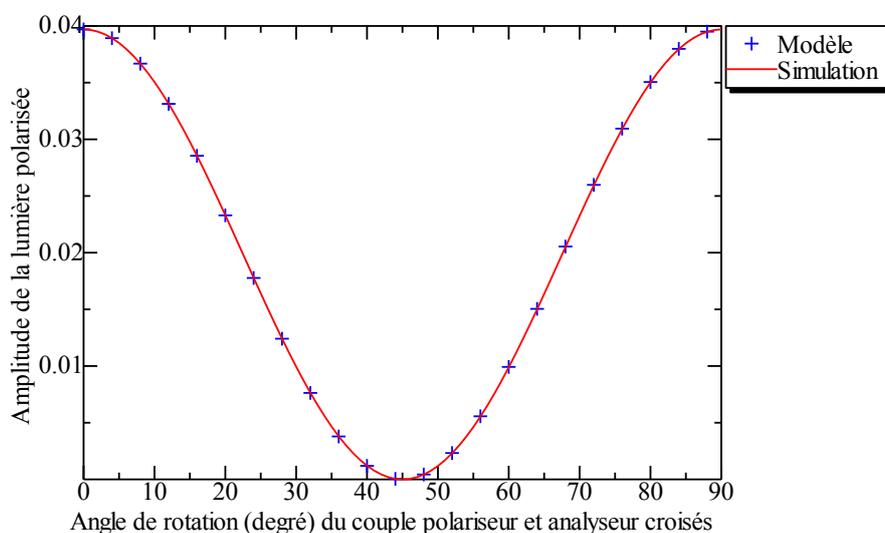


Figure 5-23: Ajustement du modèle avec une courbe simulée. La courbe en rouge représente la variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise à travers le volume homogène, lorsque l'axe optique du volume est positionné à 45 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur, et les croix en bleu représentent le modèle analytique. Ordonnées : amplitude de la lumière transmise. Abscisses : angle de rotation du couple polariseur et analyseur croisés.

Avec un coefficient d'ajustement de 99%, le modèle de l'équation 5.17 permet d'exprimer l'amplitude de la lumière polarisée transmise en sortie d'analyseur.

#### 5.4.2 Ajustement du modèle avec le volume non homogène simulé

Le modèle permettant d'extraire l'orientation des cardiomyocytes dans le volume hétérogène est basé sur le même modèle de l'équation 5.17, mais avec un paramètre additionnel ( $A$ ) qui représente le décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses. Pour un volume totalement homogène, l'amplitude minimale est égale à zéro puisqu'il n'y a aucune variabilité dans le volume et on retrouve le modèle analytique de la figure 5-23. Cependant, en présence d'une certaine variabilité à l'intérieur du volume (volume hétérogène), la valeur de ce décalage est différente de zéro. Grâce à ce paramètre,

il est possible de caractériser ou de mesurer le niveau d'homogénéité à l'intérieur du volume. Le modèle analytique a pour expression :

$$y(\alpha) = A + m_{00}(\alpha) \quad (5.18)$$

Pour ajuster la courbe simulée pour volume non homogène au modèle analytique de l'équation 5.18, il est nécessaire de les présenter dans un seul graphique. En ce sens, la courbe de la figure 5-23 est reprise mais avec un angle solide de dispersion de 15 degrés.

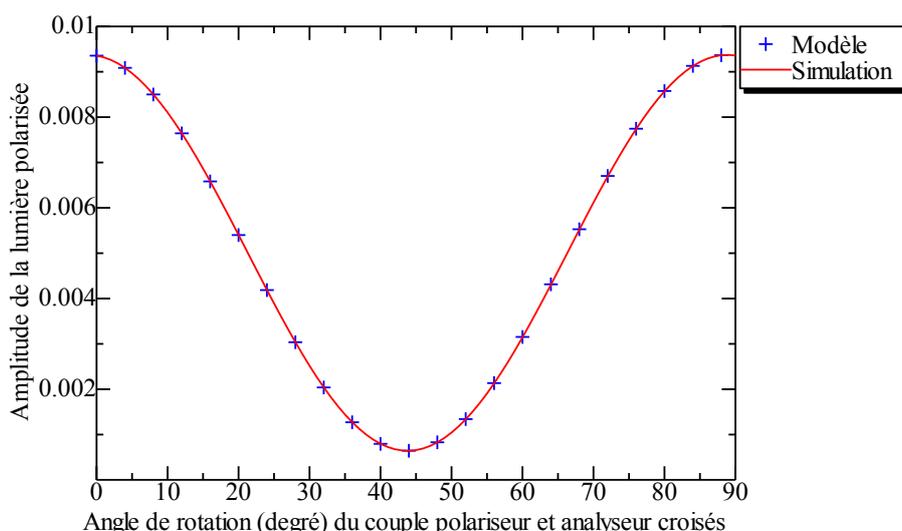


Figure 5-24: Ajustement du modèle avec une courbe simulée et un angle solide de 15 degrés. La courbe en rouge représente les données simulées (volume hétérogène), et les croix en bleu représentent l'ajustement du modèle avec la présence d'un angle solide de 15 degrés. Ordonnées : amplitude de la lumière ; Abscisse : angle de rotation du couple polariseur et analyseur croisés.

Pour calculer le paramètre  $A$ , qui caractérise le niveau d'homogénéité à l'intérieur du volume, il faut connaître :

- l'angle d'azimut des cardiomyocytes au sein du volume, paramètre ( $\theta$ )
- l'amplitude de la lumière polarisée transmise, paramètre ( $B$ )
- l'angle de rotation du couple polariseur et analyseur croisés, paramètre ( $\alpha$ ).

### 5.4.3 Extraction des paramètres du modèle ( $A, B, \theta$ )

Par une approche des moindres carrés non linéaire (Levenberg-Marquardt), il est possible d'ajuster le modèle analytique de l'équation 5.17, avec les courbes simulées pour extraire l'orientation de l'angle d'azimut  $\theta$  du volume et l'amplitude de la lumière polarisée transmise

$$m_{00}(\alpha) = B \cos^2 \left( 2 \left( \alpha + \frac{\pi}{4} - \theta \right) \right) \quad (5.19)$$

$m_{00}(\alpha)$  représente l'intensité de la lumière polarisée transmise dans le banc optique dans le cas d'un volume totalement homogène. Cependant, dans le cas d'un volume avec un niveau d'homogénéité, l'équation 5.17 devient

$$y(\alpha) = A + m_{00}(\alpha) \quad (5.20)$$

Pour  $A = 0$ , le volume est parfaitement homogène (équation 5.17). La présence d'une certaine variabilité entre les cardiomyocytes à l'intérieur du volume entraîne que la valeur de  $A \neq 0$ .

Le modèle de l'équation 5.19 est un modèle empirique déjà observé dans les acquisitions des images (phase expérimentale) faites en lumière polarisée c'est-à-dire entre le couple polariseur et analyseur croisés. Grâce au formalisme de Mueller, nous avons pu démontrer analytiquement ce modèle qui est la clé primordiale de la simulation, équation 5.7. Ce modèle sera utilisé dans la phase expérimentale pour extraire les paramètres fondamentaux ( $A, B, \theta$ ) de l'équation 5.20. Ainsi, les paramètres,  $A, B$  et  $\theta$  sont des éléments pertinents qui caractérisent le comportement du volume uni-axial biréfringent entre le couple de polariseur et analyseur croisés. Pour extraire ces paramètres, il faut générer une famille de courbe avec l'équation 5.2, puis à partir des courbes obtenues, il est possible d'extraire les paramètres exacts du modèle par une méthode d'ajustement non linéaire.

Dans ce manuscrit, les données calculées ou simulées ne sont pas alignées autour d'une droite ou ne sont pas linéaires, il n'est pas possible d'utiliser la méthode des moindres carrés classique pour extraire les paramètres fondamentaux du modèle. Pour faire cette ajustement, le choix est porté sur l'algorithme de Levenberg-Marquardt pour un ajustement non linéaire, car la stabilité de cet algorithme permet de trouver une solution même s'il est démarré très loin d'un minimum.

Cependant, le but principal de notre ajustement du modèle est de fournir un outil de traitement d'image pour faciliter l'extraction des mesures des cartographies du myocarde humain en lumière polarisée (banc optique). Dans notre cas, il est nécessaire que cet ajustement du modèle se fasse pixel par pixel. Cependant, avec l'algorithme de Levenberg-Marquardt, il faut au minimum un temps moyen de 3 minutes par images (dimension des images  $762 \times 570$ ), c'est trop couteux en temps de calcul, et en stockage. De ce fait, il fallait trouver des simplifications robustes permettant quand même d'ajuster le modèle de l'équation 5.19 par les moindres carrés pour réduire ce temps de calcul (développement en annexe GNU/Maxima). Les simplifications développées, ont permis de réduire le temps de calcul à une fraction de seconde par image.

En reprenant l'équation 5.9,

$$m_{00} = \frac{(1-\cos\varphi)-(1-\cos\varphi)\cos(-4\theta+\pi+4\alpha)}{8}$$

Posons :

$$X = \cos(4(-\theta + \frac{\pi}{4} + \alpha))$$

on a :

$$y = -kX + k \quad (5.21)$$

Avec :  $k = \frac{(1-\cos\varphi)}{8}$ , et  $a=-k$ ,  $b=k$

$$Y = aX + b \quad (5.22)$$

Quand on dispose de deux ensembles de données de tailles  $n$   $\{y_1, y_2, y_3, \dots, y_n\}$   $\{x_1, x_2, x_3, \dots, x_n\}$  obtenus expérimentalement ou mesurés sur une population, il faut trouver une méthode statistique permettant d'observer la relation existante entre ces deux variables. En ce sens, la méthode des moindres carrés est la plus adaptée pour cette tâche. L'avantage majeur de cette méthode est de minimiser la somme des carrés des écarts entre les deux vecteurs  $\vec{Y}$  et  $\vec{X}$ . Le modèle usuel des moindres carrés est un modèle linéaire exprimé par :

$$y = ax_i + b \quad (5.23)$$

Tenant compte des erreurs observées  $\varepsilon$  dans le modèle, les données en  $\{y_1, y_2, y_3, \dots, y_n\}$  sont considérées comme autant de réalisations d'une variable aléatoire  $Y$ , et les données  $\{x_1, x_2, x_3, \dots, x_n\}$  comme autant de réalisation d'une variable  $X$ . La variable  $Y$  est appelée variable expliquée ou dépendante, et la variable  $X$  est la variable expliquant.

Si  $\varepsilon_i$  représente cet écart appelé résidu, le principe des moindres carrés consiste à choisir les valeurs de a, et b qui minimise :

$$E = \sum_{i=0}^n \varepsilon_i^2 = \sum_{i=0}^n (y_i - (ax_i + b))^2 \quad (5.24)$$

Un simple calcul montre que :

$$\hat{a} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (5.25)$$

Et

$$\hat{b} = \bar{y} - \hat{a}\bar{x} \quad (5.26)$$

$\hat{a}$  s'exprime souvent au moyen des variances :

$$\hat{a} = cov_{xy}/s_x^2 \text{ avec } s_x^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (5.27)$$

Et la covariance s'exprime par

$$cov_{xy} = (1/n) \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) \quad (5.28)$$

En utilisant GNU/Maxima, les paramètres fondamentaux du modèle sont :

$$\begin{cases} \theta : \frac{\tan^{-1}(\frac{sk}{ck})}{4} \\ b : \frac{-2ck}{\cos 4\theta} \\ a : c - \frac{b}{2}; \end{cases} = \begin{cases} azimuth = \frac{\tan^{-1}(sk/ck)}{4} \\ amplitude = \frac{-2ck}{\cos 4\theta} \\ Décalage = c - \frac{b}{2}; \end{cases} \quad (5.29)$$

avec :

$$\begin{cases} sk = \left(\frac{-b}{2}\right) \sin 4\theta \\ ck = \left(\frac{-b}{2}\right) \cos 4\theta \\ c = \left(\frac{-b}{2}\right) + a \end{cases} \quad (5.30)$$

Grâce à la simulation, les paramètres  $(A, B, \theta)$  du modèle présenté dans l'équation 5.20 sont vérifiés sur le volume simulé, ce qui permet d'appliquer directement ce modèle sur l'acquisition d'un échantillon de vrai cœur humain faite en lumière polarisée, c'est-à-dire entre polariseur et analyseur croisés. L'extraction des cartographies de chacun des paramètres du modèle sont extraits un à un.

Par exemple, nous avons utilisé l'équation 5.30 pour extraire les paramètres de l'équation 5.19 (figure 5-23) et 5.20 (figure 5-24), ce qui revient à écrire respectivement ces deux équations sous la forme:

$$y = 0,04 \cos^2(2\alpha) \quad (5.31)$$

et :

$$y = 6,4 \times 10^{-4} + 9,36 \times 10^{-3} \cos^2(2\alpha) \quad (5.32)$$

Il est montré que la mesure de l'angle d'azimut du volume est indépendant du système quand  $\theta = \pi/4$  ou 45 degrés, et la valeur de  $y$  dépend seulement de  $\alpha$  (axe de sélection des polariseurs linéaires).

La simulation numérique présentée ici permet d'établir un outil mathématique très robuste pour exploiter le comportement du myocarde humain en lumière polarisée, à savoir de déterminer

pertinemment l'orientation 3D des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire, et de prédire le niveau d'homogénéité de ces cardiomyocytes à l'intérieur du myocarde.

Le chapitre suivant présente la validation du modèle analytique sur un vrai tissu biologique, le pilier de la valve auriculo ventriculaire.

# Chapitre 6

## Expérimentations

---

<b>Chapitre 6</b> .....	107
<b>6.1 Validation du modèle mathématique par une étude des muscles papillaires des valves auriculoventriculaires</b> .....	108
6.1.1 Etude de l'orientation des cardiomyocytes de myosine dans chaque voxel .....	108
6.1.2 Variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise dans un voxel pour un azimut de 0 degré .....	108
6.1.3 Intensité de la lumière polarisée transmise dans le pilier orienté à un angle d'azimut de 45 degrés par rapport au polariseur .....	110
6.1.4 Extension de l'angle d'azimut du pilier jusqu'à 180 degrés.....	113
6.1.5 Analyse de la différence de chemin optique dans les piliers des valves auriculo-ventriculaires .....	115
6.1.6 Cartographies des piliers .....	117
<b>6.2 Croisement des cardiomyocytes par superposition de deux piliers</b> .....	120

## **6.1 Validation du modèle mathématique par une étude des muscles papillaires des valves auriculo-ventriculaires**

### **6.1.1 Etude de l'orientation des cardiomyocytes dans chaque voxel**

Dans le chapitre précédent, un modèle analytique a été développé permettant l'extraction des trois paramètres. ( $B$ ) l'intensité de la lumière polarisée transmise dans un voxel, ( $\theta$ ) l'angle d'azimut de l'objet uni-axial biréfringent dans un voxel, ( $A$ ) la mesure de décalage de la courbe par rapport à l'axe des abscisses pour caractériser le niveau d'homogénéité dans le voxel.

Pour valider le modèle proposé, il est nécessaire d'utiliser un vrai objet uni-axial biréfringent afin de vérifier si les données simulées sont cohérentes avec les données expérimentales. Sans aucun doute, le modèle fonctionnera très bien avec un vrai objet uni-axial biréfringent si ses structures atomiques dans l'espace considéré sont régulières et périodiques. Aussi, les piliers des valves auriculo-ventriculaires ont-ils été sélectionnés en raison de leurs caractéristiques. En effet, Jouk et al. (Jouk, 1994), dans leurs travaux utilisent les piliers des valves auriculo-ventriculaires (chapitre 2, préparation du pilier) pour deux raisons importantes:

- a) ils possèdent le plus grand niveau d'homogénéité parmi les autres régions morphologiques du myocarde humain
- b) l'orientation des cardiomyocytes dans les piliers est bien maîtrisée.

Pour rappel, les résultats exposés dans le chapitre 5 ont été obtenus avec un volume simulé de  $500 \mu\text{m}^3$ , pour une biréfringence maximale de  $10^{-4}$ .

Une section de pilier d'une épaisseur de  $500 \mu\text{m}$  (soit 2 sections superposées de  $250 \mu\text{m}$  chacune) est utilisée dans toute cette phase expérimentale. Sa biréfringence est identique à celle du volume simulé et ce qui va nous permettre d'évaluer le modèle analytique proposé.

Toutes les conditions étant réunies, nous pouvons analyser l'intensité de la lumière polarisée transmise à travers le pilier pixel par pixel.

### **6.1.2 Variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise dans un voxel pour un azimut de 0 degré**

Pour commencer le polariseur et l'analyseur sont réinitialisés de telle sorte qu'ils soient croisés. L'axe de sélection du polariseur est fixé à 0 degré par rapport à l'axe Est-Ouest (référentiel du système optique), et l'axe de sélection de l'analyseur est orienté à 90 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur.

Ensuite, une mire  $10 \times 10$  cm de côté dite mire de calibrage, calculée géométriquement et imprimée sur du mylar est placée sur la platine porte-objet. Le but est de bien centrer la caméra sur l'axe optique. Cela permet aussi de mesurer le grandissement optique de l'image (en pixel/millimètre).

Après ce calibrage, la mire est enlevée et laisse la place à l'échantillon biologique qui est positionné sur la platine porte-objet dans le champ de vue de la caméra. La première acquisition de l'échantillon est en lumière seulement polarisée (axe de sélection du polariseur à 0 degré, pas d'analyseur).

Puis, l'échantillon biologique est enlevé de la platine porte-objet, et l'image du fond est capturée. L'image du fond de la platine est définie comme l'intensité lumineuse du fond en absence de l'échantillon biologique. La soustraction de l'image du fond dans l'image de l'échantillon de cœur permet de corriger l'hétérogénéité du champ illumination. Puis, l'échantillon biologique est replacé sur la platine pour une série d'acquisitions en lumière polarisée. L'image binaire de l'échantillon est obtenue par seuillage d'intensité

Pour débiter la phase expérimentale, le pilier est inséré entre le couple polariseur et analyseur croisés, et orienté à un angle d'azimut de 0 degré par rapport à l'axe de sélection du polariseur, c'est à dire que l'axe optique du pilier est parallèle à l'axe de sélection Est-Ouest du polariseur. Pour la capture de huit images (12 bits), nous avons réalisé une rotation du couple polariseur et analyseur croisés de 0 à 78,75 degrés par pas de 11,25 degrés.

Pour rappel, il a été démontré dans le chapitre 5 (figure 5-4), que dans l'intervalle de 0 à 90 degrés, il existe un maximum et deux minima, ceci est suffisant pour étudier le comportement de volume simulé. De plus, l'ajustement d'un modèle qui passe par huit points de mesures expérimentales est suffisamment robuste. La pile d'images obtenues dans le banc optique est ensuite traitée sous ImageJ.

En se référant à la phase de simulation du chapitre 5, il est démontré que quand l'axe optique d'un objet uni-axial biréfringent est parallèle avec l'axe de sélection du polariseur, il y a une extinction complète de la lumière (chapitre 5, figure 5-7), (P. A. Desrosiers, 2012). La figure 6-1a confirme bien cette prédiction. Cependant, la nature anatomique et biologique du pilier ne permet pas d'avoir cette extinction complète, à cause de la variabilité biologique minimale des cardiomyocytes à l'intérieur du pilier. Seulement, une atténuation de l'intensité de la lumière polarisée transmise est observée (chapitre 5, figure 5-11)

La figure 6-1b représente l'image brute de ce même pilier avec son axe optique orienté à un azimut de 0 degré quand l'axe de sélection du polariseur est orienté à 45 degrés. L'intensité de la lumière transmise est au maximum. Ce résultat confirme bien ce qui est déjà trouvé dans la phase de simulation.

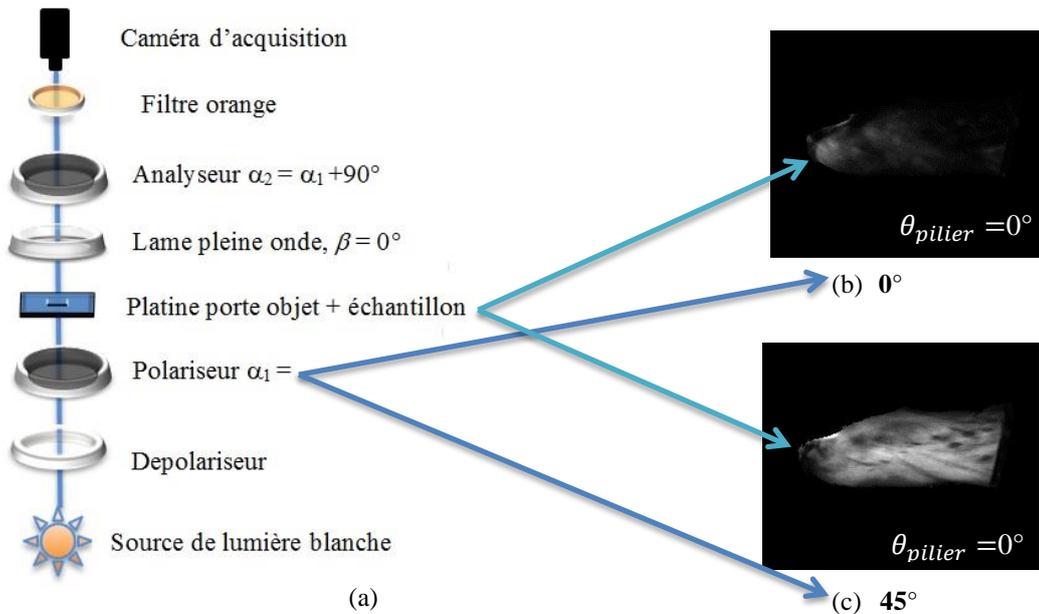


Figure 6-1 : Piliers des valves auriculo-ventriculaires entre polariseur et analyseur croisés. (a) montage optique; (b) pilier avec son axe optique orienté à un azimuth de 0 degré et parallèle à l'axe de sélection du polariseur. Donc l'intensité de la lumière polarisée transmise à travers le pilier est au minimum; (c) le même pilier avec son axe optique orienté à un angle azimuth de 0 degré, et l'axe de sélection du polariseur est à 45 degrés par rapport au référentiel. L'intensité de la lumière polarisée transmise est au maximum.

### 6.1.3 Intensité de la lumière polarisée transmise dans le pilier orienté à un angle d'azimut de 45 degrés par rapport au polariseur

Pour ne pas alourdir la présentation, seulement deux configurations seront présentées ci-après : pilier avec un azimuth de 0 et 45 degrés.

Quand l'axe optique du volume simulé est orienté à un azimuth de 45 degrés et parallèle à l'axe de sélection du polariseur, l'amplitude de la lumière polarisée est nulle en sortie d'analyseur, et c'est à ce point d'extinction que l'angle d'azimut du volume simulé est indépendant du système optique (P. A. Desrosiers, 2012). Pour vérifier cette simulation, le même pilier est utilisé, mais cette fois avec son axe optique orienté avec un angle d'azimut de 45 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur.

Pour tracer le profil d'intensité en fonction de l'angle de rotation  $\alpha$  du couple polariseur et analyseur croisés, un point de mesure est sélectionné dans la pile image de la figure 6-2b, puis analysé sous ImageJ. Ce point de mesure correspond à huit valeurs d'intensités de la lumière polarisée transmise dans un pixel donné, comme le montre la figure 6-2d (croix rouge). Avec le modèle analytique du chapitre 5 (équation 5.29), il est possible d'ajuster le modèle aux mesures faites dans la phase expérimentale de la figure 6-2d (courbe en bleu). Pour rappel, l'intensité de la lumière polarisée transmise dans le pilier représente le niveau de gris de l'image.

Dans la figure 6-2b l'axe optique du pilier est parallèle à l'axe de sélection du polariseur et orienté à 45 degrés, nous avons observé une atténuation de l'intensité de la lumière polarisée (chapitre 5, figure 5-11). Cependant, il n'y a pas une extinction complète de la lumière polarisée transmise comme dans la simulation (chapitre 5, figure 5-7). Au point de vue microscopique, les structures anatomiques et physico-chimiques des filaments de myosine ne sont pas aussi homogènes, régulières et périodiques que celles des cristaux uni-axiaux biréfringents. Par contre, les filaments de myosine possèdent des structures parallèles, périodiques, qui se rapprochent au mieux d'une structure cristalline. Ceci explique mieux son plus grand niveau d'homogénéité que dans les autres zones anatomiques du myocarde humain, sans toutefois atteindre la perfection d'un vrai cristal.

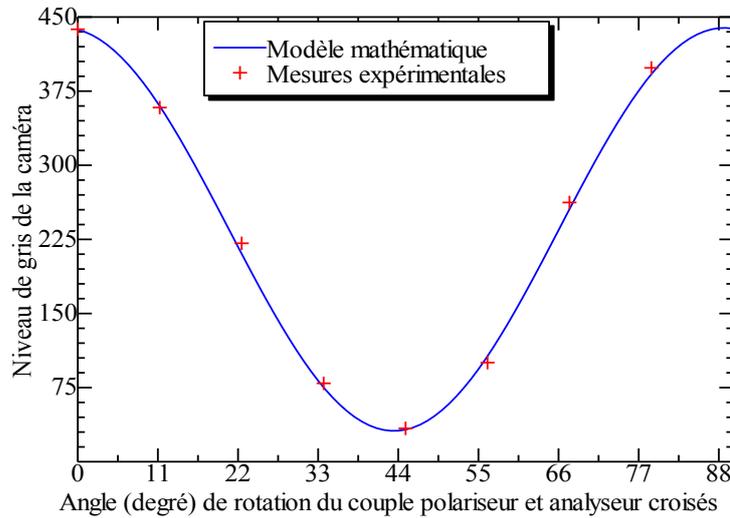
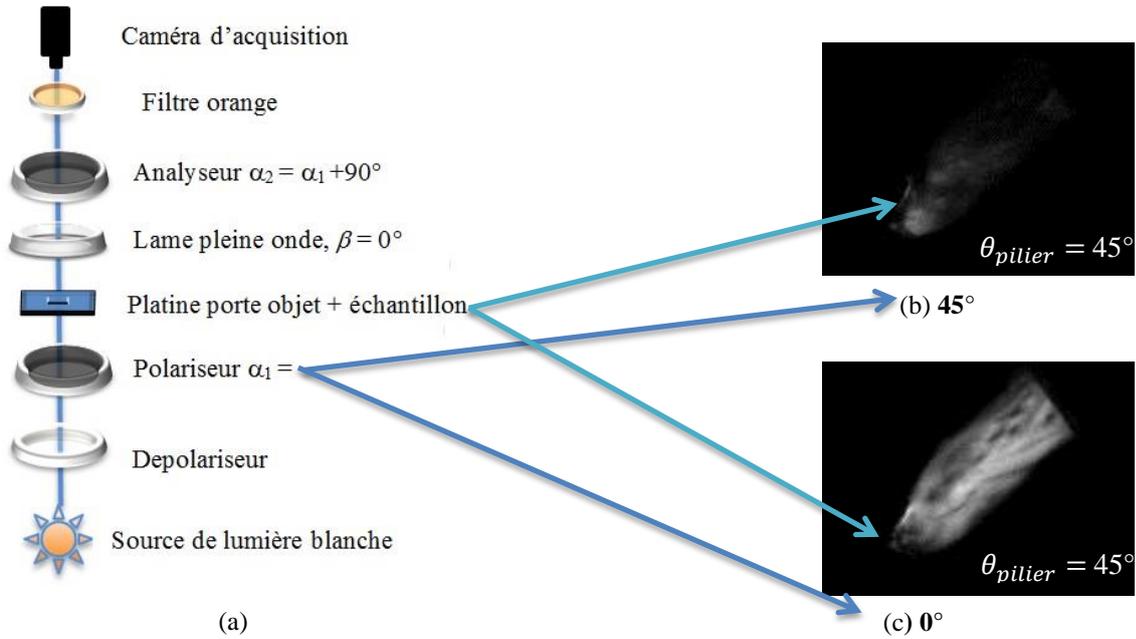
Dans la figure 6-2c l'axe de sélection du polariseur est orienté à 0 degré par rapport à l'axe optique du pilier qui est toujours à 45 degrés (chapitre 5, figure 5-7 et 5-11), ce qui entraîne que l'intensité de la lumière polarisée transmise est au maximum à 0 et à 90 degrés. Il est aussi possible d'observer directement la valeur de l'intensité de la lumière ( $I_{max} = 437,60$  u.a) dans la figure 6-2d.

Dans la figure 6-2d les croix en rouges représentent les mesures expérimentales qui ont été faites en fonction de la rotation  $\alpha$  du couple polariseur et analyseur croisés, tandis que la courbe en bleu est l'ajustement du modèle analytique lié aux mesures expérimentales. Dans cette figure, il est possible d'observer toutes les valeurs des intensités de la lumière polarisée transmise en fonction de l'angle de rotation  $\alpha$ .

L'ajustement du modèle analytique aux mesures expérimentales permet de mesurer l'orientation des cardiomyocytes dans chaque voxel donné, ainsi que le niveau d'homogénéité ( $A = I_{min} = 33,73$  u. a) du pilier, figure 6-2b (chapitre 5, équation 5.29).

Il est possible de mesurer expérimentalement la variation de l'intensité de la lumière polarisée ( $B$ ) à travers un voxel considéré, l'angle d'azimut ( $\theta$ ), et le décalage de la courbe par rapport à l'axe des abscisses (intensité minimale), ce qui revient à écrire le modèle analytique (chapitre 5, équation 5.18) en tenant compte de la figure 6-2d sous la forme de:

$$y(\alpha) = 33,73 (u. a) + 437,60 \cos^2(2\alpha) \text{ avec } \alpha \text{ en radian, u.a : unité arbitraire}$$



(d)

Figure 6-2: Mesures expérimentales confrontées aux simulations numériques. (a) montage optique; (b) axe optique du pilier est parallèle à l'axe de sélection du polariseur (45 degrés). D'après les simulations, l'intensité de la lumière polarisée transmise est au minimum; (c) l'axe de sélection du polariseur est orienté à 0 degré par rapport à l'axe optique du pilier (45 degrés), l'intensité de la lumière transmise est au maximum; (d) variation de l'intensité de la lumière transmise à travers le pilier. Les croix en rouge représentent les valeurs mesurées dans la phase expérimentale, tandis que la courbe en bleu c'est l'ajustement du modèle par les moindres carrés non linéaire. Ordonnées : niveau de gris de la caméra en u.a ; Abscisses : rotation du couple polariseur et analyseur croisés.

Les mesures photométriques faites sur les piliers sont conformes aux données théoriques obtenues par la simulation. Ce modèle permet d'extraire l'orientation des cardiomyocytes dans un pixel, car l'intensité numérisée (niveau de gris) de la lumière polarisée transmise est fonction de la biréfringence des piliers et de ses angles d'azimut et d'élévation. Pour analyser, mesurer l'amplitude de la lumière polarisée transmise, l'orientation des cardiomyocytes, et le niveau d'homogénéité de tout le pilier,

nous avons écrit un greffon logiciel pour ImageJ qui prend en compte les techniques d'extractions des paramètres du modèle élaboré dans le chapitre 5 (chapitre 5, équation 5.29). Ce greffon logiciel permet ajuster le modèle pixel par pixel dans les acquisitions des images faites entre polariseur et analyseur croisés.

Arrivé à ce point, la méthode de mesure et le modèle nous limite une étendue de 0 à 90 degrés pour les mesures des angles azimut et d'élévation, soit un domaine couvrant  $1/8$  de la sphère. Il nous faut donc définir une approche pour étendre le domaine de mesure au  $1/4$  de sphère, c'est le propos du paragraphe suivant.

### 6.1.4 Extension de l'angle d'azimut du pilier jusqu'à 180 degrés

Dans les montages optiques précédents (phase expérimentale), l'angle d'azimut du pilier est défini de 0 à 90 degrés soit sur un  $1/8$  de sphère.

Il est possible qu'un objet uni-axial biréfringent positif avec un azimut orienté à 45 degrés entre polariseur et analyseur croisés (référentiel) ait un angle d'extinction nul (figure 6-2b). L'angle d'extinction nul est défini comme l'angle que fait l'axe optique de l'objet uni-axial biréfringent avec l'axe de sélection du polariseur, et elle est différent de zéro. La luminosité de cet objet (pilier) est identique que l'azimut soit à +45 ou à +135 degrés. Pour lever cette ambiguïté, il est nécessaire d'étendre l'angle d'azimut à 180 degrés. L'adjonction d'une lame pleine onde orientée à +45(ou +135) degrés entre le pilier et l'analyseur va nous permettre de définir cet angle d'azimut périodique modulo 180 et d'enlever cette ambiguïté, figure 6-4. Comme nous utilisons une source de lumière « blanche », le retarde de phase est constant et de l'ordre de la longueur d'onde moyenne du spectre. De ce fait, des interférences diverses (additives, soustractives) vont se produire aboutissant à des couleurs interférence. La lame pleine onde sert à créer un retard de phase supplémentaire. Celles-ci peuvent être interprétées grâce à des tables dites table de Newton Michel-Levy. Ces tables sont fournies par les fabricants de matériel microscopique. (Table Newton Michel-Levy en annexe).

Pour mieux détailler ce qui se passe dans le banc optique, expliquons et interprétons les phénomènes observés. Quand un faisceau de lumière non polarisée traverse un polariseur linéaire un angle  $\alpha_1$ , les deux composantes ( $E_{ox}, E_{oy}$ ) du vecteur champ électriques  $\vec{E}$  vibrent à angle droit l'un par rapport à l'autre. L'orientation de l'axe de sélection du polariseur à 0 degré par rapport l'axe Est-Ouest ou  $ox$  permet d'atténuer totalement la composante verticale du champ électrique ( $E_{oy} = 0$ ). Seulement, la composante horizontale ( $E_{ox} \neq 0$ ) est présente dans le banc optique. Puis, ce faisceau de lumière déjà polarisée traverse le pilier, qui à son tour décompose ce même faisceau en deux autres faisceaux dont les champs électriques ( $E_{ox(pilier)}, E_{oy(pilier)}$ ) vibrent orthogonalement l'un par rapport à l'autre.

L'introduction de la lame pleine onde dans le trajet du faisceau lumineux engendre une différence de chemin optique sur les deux rayons ( $n_{e(pilier)}, n_{o(pilier)}$ ). Ceci met en évidence la nature biréfringente du pilier, figure 6-5, car elle dépend totalement de l'angle d'élévation, et ce dernier dépend du retard de phase (chapitre 5, équation 5.6), Jouk et al (Jouk P.-S. , 1994). L'orientation de l'axe de sélection de l'analyseur à 90 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur permet d'atténuer totalement la composante horizontale du vecteur champ électrique ( $E_{ox(pilier \pm \lambda)} = 0$ ). L'interaction des différences de chemin optique entre les deux rayons ( $n_{e(pilier)}, n_{o(pilier)}$ ) et ( $n_{e(\lambda)}, n_{o(\lambda)}$ ) de la lame pleine onde a pour effet d'étendre l'angle d'azimut du pilier jusqu'à 180 degrés. Pour mettre en évidence les couleurs d'interférences observées, la caméra noir et blanc est remplacée par une caméra couleur. La couleur magenta du fond, figure 6-3b est une couleur d'interférence qui correspond à une longueur d'onde moyenne de 550 nm et sert de référence pour détecter l'azimut modulo 180.

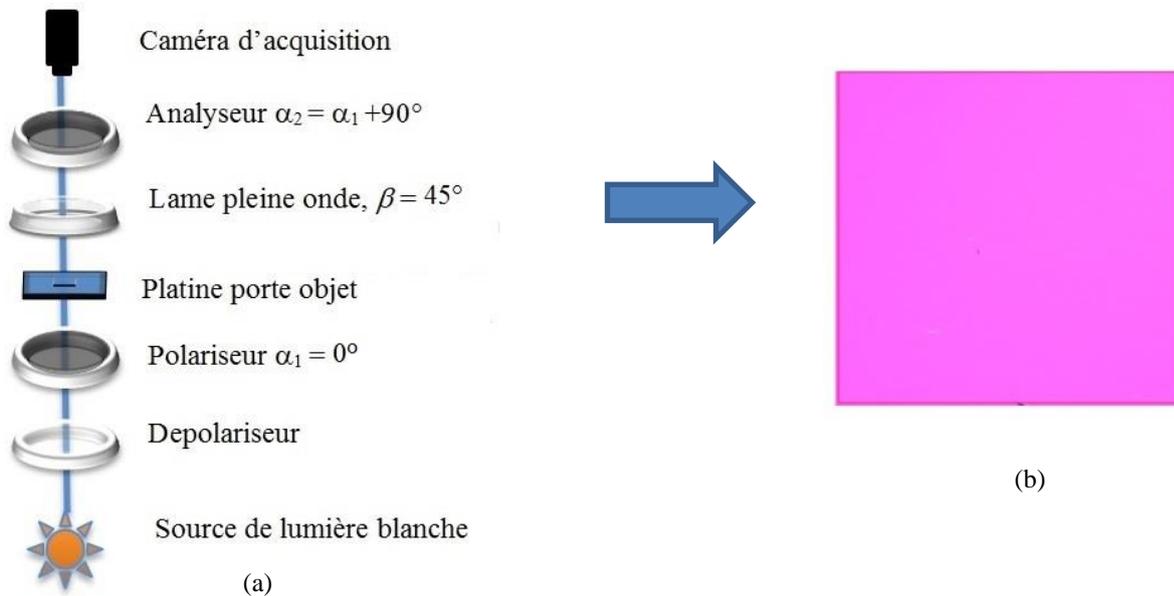


Figure 6-3: Montage optique pour étendre l'angle d'azimut du pilier à 180 degrés. (a) la présence de la lame pleine onde de 550 nm dans le banc optique, permet de retarder la différence de marche des deux rayons (ordinaire, extraordinaire). La lame pleine onde permet de : a) mesurer la différence de chemin optique dans le pilier; b) étendre l'angle d'azimut 180 degrés; (c) rester dans le premier ordres des longueurs d'onde d'interférence. (b) le fond magenta est une couleur d'interférence qui permet de déterminer le modulo 180.

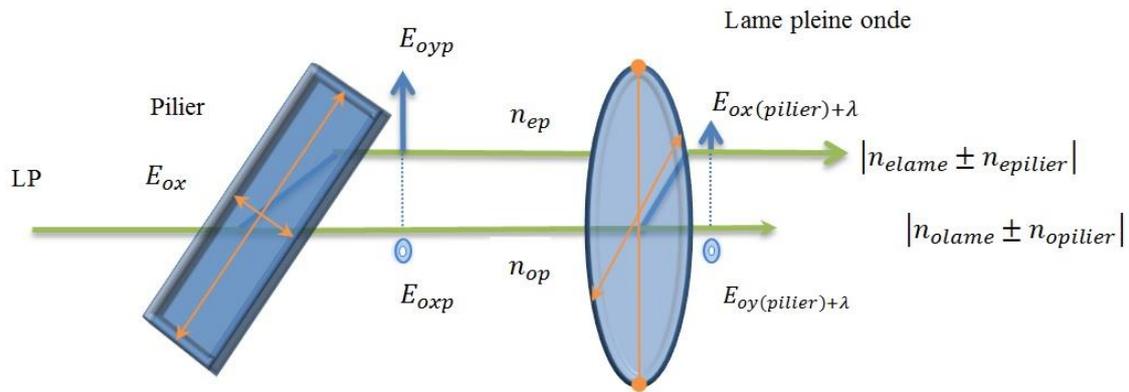


Figure 6-4 : Interaction du pilier avec la lame pleine onde (lame  $\lambda$ ). Le positionnement du pilier à un angle de +45 ou +135 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur entraîne que les indices de réfraction des deux  $n_{epilier}$  et  $n_{opilier}$  engendrent des couleurs d'interférences de 640 ou 440 nm.

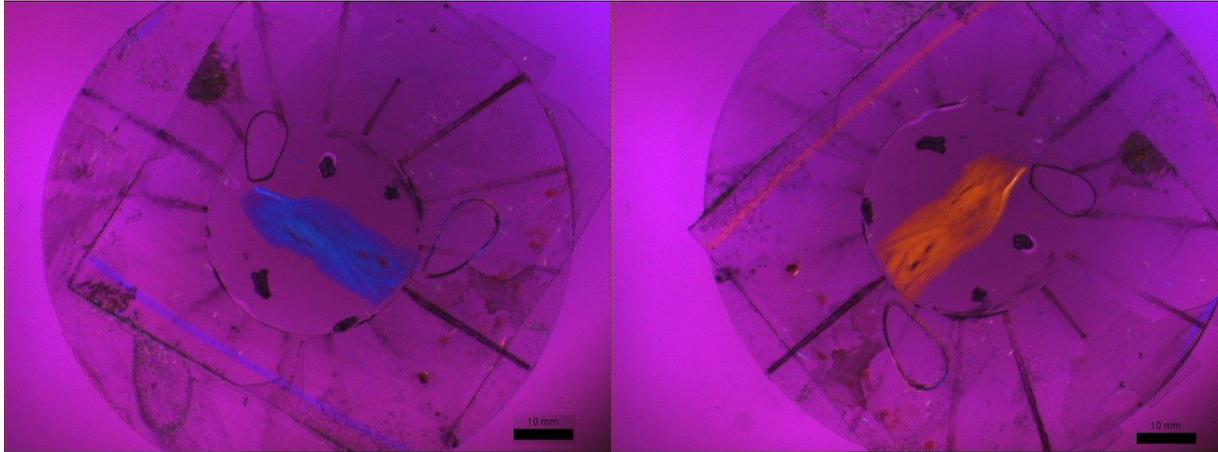
L'angle d'azimut peut être ainsi mesuré de 0 à 180 degrés grâce à l'acquisition des images avec une lame pleine onde.

### 6.1.5 Analyse de la différence de chemin optique dans les piliers des valves auriculo-ventriculaires

Pour mesurer la différence de chemin optique induit dans le pilier nous avons choisi le montage de la figure 6-3a. La présence de la lame pleine onde avec un retard de phase 550 nm permet de différencier le pilier à +45 et +135 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur. L'exploitation de ces deux angles d'azimut permet de mesurer la différence de chemin optique des rayons extraordinaire  $n_e$  et ordinaire  $n_o$  du pilier. En se référant à la charte des interférences de Michel Levy, il est possible d'interpréter les résultats trouvés.

Dans la figure 6-5a le pilier avec la couleur d'interférence bleu correspond à un angle azimut de 135 degrés, pour une longueur d'onde de ~640 nm. Tandis que la figure 6-5b représente le même pilier avec une couleur d'interférence orange pour un angle azimut de +45 degrés. Cette couleur d'interférence répond à une longueur d'onde de ~440 nm.

Il devient possible de mesurer la différence de chemin optique  $\Delta_{(pilier)_{(135)}}$  et  $\Delta_{(pilier)_{(+45)}}$  du pilier. Quand l'axe neutre de la lame pleine onde est parallèle avec l'axe optique du pilier, la différence de chemin optique résultante est la somme des chemins optiques du pilier et de la lame pleine onde. Dans le cas contraire, si leurs deux axes optiques sont perpendiculaires, la différence de chemin optique du pilier se retranche de celui de la lame pleine onde, figure 6-5.



(a)

(b)

Figure 6-5: Pilier orienté à +45 et +135 degrés entre polariseur et analyseur croisés, avec une lame pleine onde orienté à +45 degrés. (a) pilier orienté à +135 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur. (b) pilier à 45 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur. Pour exploiter et interpréter les couleurs d'interférences observées, il est nécessaire d'utiliser la charte des interférences de Newton Michel-Levy.

Avec la charte de Newton Michel-Levy, il est possible de mesurer la différence de chemin optique dans pilier, en tenant compte de la figure 6-6. Il est possible d'écrire :

$$\begin{aligned} \Delta_{(pilier)} &= \left| \Delta_{(pilier)}_{(135)} - \Delta_{(pilier)}_{(+45)} \right| \\ \Delta_{(pilier)} &= |(n_{elame} + n_{epilier}) - (n_{olame} - n_{opilier})| \\ \Delta_{(pilier)} &= |(550nm + (\sim 90)nm) - (550nm - (\sim 110)nm)| \\ \Delta_{(pilier)} &= |\sim 640nm - \sim 440nm| \\ \Delta_{(pilier)} &= |\sim 210 nm| \end{aligned}$$

La différence de chemin optique des deux rayons dans le pilier est environ 210 nm. Avec la charte de Newton Michel-Levy les premières couleurs d'interférences débutent aux environs de 250 nm. De 0 à 230 nm, on obtient une gradation de gris allant du noir au blanc. Puis les premières couleurs d'interférences apparaissent aux environs de 250 nm (jaune pâle), puis 330 nm (orange), 540 nm (rouge), 640 nm (bleu), 720 nm (vert), puis de nouveaux cycles des mêmes couleurs, mais de plus en plus désaturées pour des valeurs supérieures du retard de phase. Le premier ordre des interférences va de 0 à 550 nm, puis le second ordre de 551 nm à 1101 nm, le troisième ordre de 1101 nm à 1552 nm (charte de Newton Michel Levy, version ZEISS, en annexe)

L'intérêt majeur de rester dans le premier ordre des couleurs d'interférences, permet de résoudre les problèmes liés à l'information colorimétrique, en utilisant une simple caméra noir et blanc avec un filtre orange monté sur son objectif (chapitre 4, Source Lumineuse). La caméra noir et blanc utilise un seul canal de transmission ce qui diminue considérablement le coût du signal à traiter. Ainsi, il devient

possible de lever l'ambiguïté des angles avec un azimut de +45 et 135 degrés, car la différence de chemin optique de ces deux angles est différente.

Dans la pratique, comme nous utilisons une caméra noir et blanc, l'ajout d'un filtre passe long orange (560 nm) permet d'enregistrer sélectivement les longueurs d'ondes et ainsi de discriminer  $\Delta_{(pilier)_{(135)}}$ , et  $\Delta_{(pilier)_{(+45)}}$  par des régions claires et des régions sombres.

### 6.1.6 Cartographies des piliers

Pour extraire les cartographies des trois paramètres fondamentaux du modèle (décalage des courbes A, amplitude B, azimut), et celle de l'élévation du pilier, il nous faut :

- a) Huit acquisitions entre polariseur et analyseur croisés de 0 à 78,75 degrés par pas de 11,25 degrés (figure 6-2b)
- b) Quatre autres acquisitions entre polariseur et analyseurs croisés de 0 à 67 par pas 22 degrés (0, 22, 45 et 67 degrés) mais avec l'insertion de la lame pleine onde orienté à +45 degrés entre le pilier et l'analyseur.

Ainsi, l'algorithme est traduit en un greffon logiciel « plugin » sous ImageJ, et permet d'extraire la cartographie de l'amplitude de la lumière polarisée transmise dans chaque pixel, figure 6- 6.

Dans la figure 6-6a les deux cartographies (pilier orienté à un azimut de 0, et 45 degrés ; images en contraste inversé) permettent d'observer la variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise en fonction du retard de phase induit dans le pilier. Chaque variation du niveau de gris de l'image, est fonction du retard de phase induit dans le pilier, et de sa biréfringence. De plus, il est aussi possible de calculer la longueur d'onde de la lumière à travers le pilier (chapitre 5, équation 5.4).

La mesure du niveau d'homogénéité des piliers est déterminée par la cartographie du décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses, figure 6- 6b (images en contraste inversé).

Cependant, si les piliers étaient totalement homogènes, la cartographie de ce décalage (A) serait confondue avec le fond de l'image, et l'image résultante serait plutôt une image totalement atténuée dont tous les valeurs des pixels seraient proches de zéro (paramètre  $A \sim 0$ ). Puisque ce n'est pas le cas, on arrive bien à distinguer les deux images pour des niveaux de gris différents de zéros.

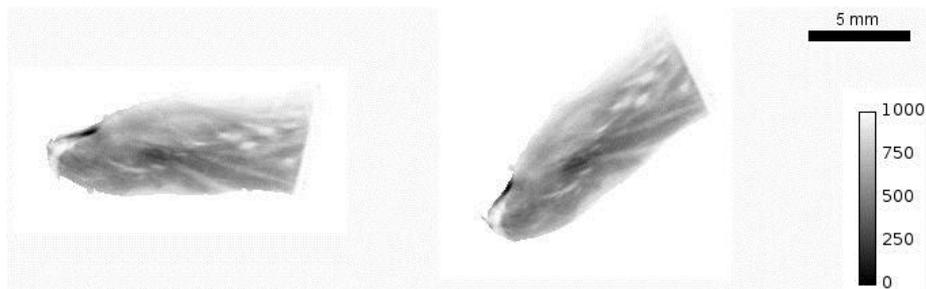
La figure 6- 6c permet de connaître l'orientation moyenne des angles d'azimut des cardiomyocytes du piler dans chaque pixel. Premièrement, le pilier est orienté à 0 degré, et nous avons ajouté une table fausse couleur pour une meilleure observation des faisceaux de cardiomyocytes orientés à des azimuts différents. Les cardiomyocytes sont orientés à un angle d'azimut moyen de 0 degrés (rouge), 10 degrés

(orange), 60 degrés (bleu), 85 degrés (magenta). La plupart des cardiomyocytes ont un angle azimut moyen de 85 degrés (magenta). Deuxièmement, le pilier est orienté à 45 degrés, la majorité des faisceaux de cardiomyocytes ont un angle d'azimut moyen de 45 degrés (vert). Puis quelques des faisceaux de orientés à un azimut moyen de 50 degrés.

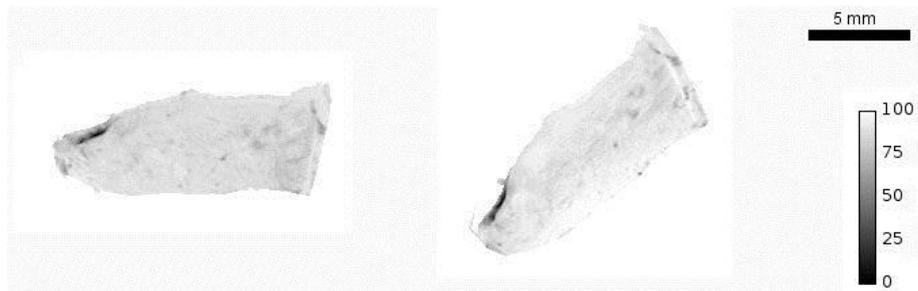
Comme il a été déjà démontré dans le chapitre 5 (figure 5-7), l'angle d'azimut du volume simulé est indépendant du système optique, quand cet objet est orienté à 45 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur. Dans ce cas, l'orientation d'un cardiomyocyte ou d'un faisceau de cardiomyocyte est déterminée par l'axe de sélection du polariseur. Puis, nous avons vérifié cette prédiction dans la figure 6- 6c, et on observe que la majorité des faisceaux ont une orientation moyenne de 45 degrés. Puisque le pilier est orienté suivant deux directions (0 et 45 degrés), il n'est pas nécessaire de définir la palette des couleurs à 180 degrés.

Il a été démontré dans le chapitre 5 (équation 5.15), que l'angle d'élévation du volume simulé est fonction de l'intensité de la lumière polarisée. Nous avons implémenté ce code dans le greffon logiciel pour ImageJ afin d'extraire l'orientation moyenne de l'angle d'élévation d'un faisceau de cardiomyocytes dans le pilier pixel par pixel.

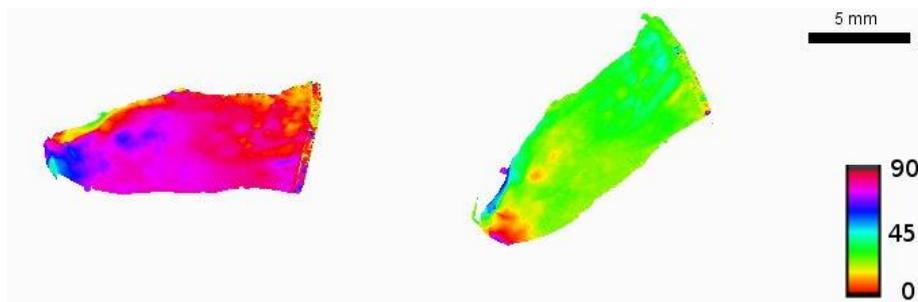
La figure 6-6d permet d'observer l'orientation moyenne des angles d'élévation des faisceaux quand l'axe optique du pilier est orienté à 0 et 45 degrés. Puis, nous avons observé des faisceaux avec un angle d'élévation de 30 degrés quand l'axe optique du pilier est orienté à 0 degrés et à 45 degrés. Normalement, on ne devrait observer que des cardiomyocytes avec un angle d'élévation moyen proche de zéro degré. Ceci montre que l'angle de découpage du pilier dans la résine n'était pas parfaitement aligné à 0 degré.



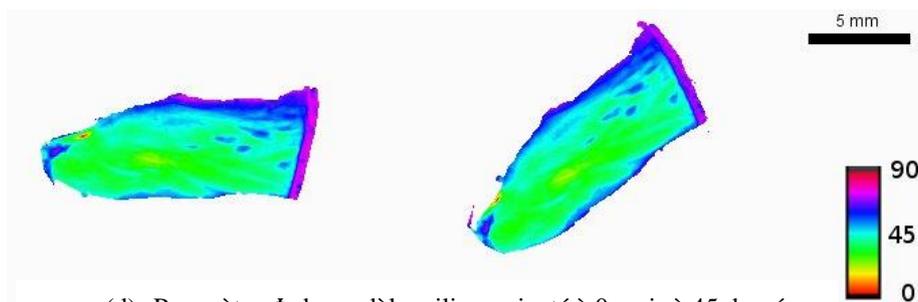
(a) Paramètre *A* du modèle, piliers orienté à 0, puis à 45 degrés (image en contraste inversé).



(b) Paramètre  $B$  du modèle, piliers orienté à 0, puis à 45 degrés (image en contraste inversé).



(c) Paramètre  $\theta$  du modèle, piliers orienté à 0, puis à 45 degrés.



(d) Paramètre  $\Phi$  du modèle, piliers orienté à 0, puis à 45 degrés

Figure 6-6: Ajustement du modèle et extraction des paramètre ( $A, B, \theta$ ) du modèle. L'axe optique des piliers sont orientés à 0 puis à 45 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur ; (a) cartographie de l'amplitude de la lumière polarisée transmise (image en contraste inversé); (b) cartographie du décalage ; (c) cartographie de l'angle d'azimut du pilier ; (d) cartographie de l'angle d'élévation du pilier.

Un niveau de gris très élevé du décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses, traduit un faible niveau homogénéité des piliers, et signifie que la valeur  $A$  tend vers des grandes valeurs. De plus, il est aussi possible d'observer dans ces cartographies, quand l'intensité de la lumière polarisée transmise augmente (voir niveau de gris de l'échelle de mesure), le niveau de gris de la cartographie du décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses est toujours au minimum (voir échelle des niveaux de gris). Il est aussi possible de définir un seuil de mesure pour connaître le niveau homogénéité du pilier.

La figure 6-6, permet de confirmer le fort niveau d'homogénéité des piliers utilisés dans ce manuscrit. La cartographie des angles azimut et celle des angles d'élévation permet de connaître l'orientation 3D

d'un faisceau de cardiomyocyte ayant les mêmes directions. Dans le paragraphe suivant, nous allons croiser les deux sections de piliers, et étudier leur comportement dans la zone de croisement.

## 6.2 Croisement des cardiomyocytes par superposition de deux piliers

Pour analyser le comportement d'un croisement des cardiomyocytes, il est nécessaire de croiser deux échantillons de piliers (taillés à 250  $\mu\text{m}$  d'épaisseur) à des angles différents (croisement manuel). L'hypothèse de départ est basée sur le parallélisme et l'agencement régulier des cardiomyocytes au sein du pilier qui se traduisent par une zone avec un fort degré d'homogénéité ou une zone saine, et en croisant les 2 piliers on est en mesure de recréer des situations de croisement des faisceaux de cardiomyocytes.

L'intérêt de faire le croisement des cardiomyocytes avec les piliers permettent de vérifier non seulement les simulations dans le chapitre 5, mais aussi d'analyser le comportement des cardiomyocytes lorsqu'ils sont croisés dans la phase expérimentale afin de mieux interpréter les résultats déjà présentés (chapitre 5, figure 5-15, 5-19).

Lorsqu'un train de photons animés d'une vitesse  $v$  pénètre une cellule myocardique, l'énergie déposée par la masse photonique dans la cellule est transmise d'un atome à l'autre en traversant toute la membrane cellulaire jusqu'à la reconstruction de ce même photon (marqué d'une empreinte cellulaire) qui va être capturé par la caméra d'acquisition. La différence de chemin optique parcourue par un photon en traversant la cellule, permet d'avoir une idée sur les structures anatomiques traversées. Donc, cette différence de chemin optique parcourue par ce photon dans la membrane cellulaire définit l'état sain ou pathologique de la cellule.

Dans le cas d'un tissu sain, il est possible que la vitesse de propagation de la lumière polarisée transmise à travers le tissu soit homogène. Tout se passe comme si le tissu se comporte comme un verre bien poli

Par contre, dans le cas des croisements des cardiomyocytes, l'intensité de la lumière polarisée transmise n'est pas la même dans les zones de croisement des cardiomyocytes. L'irrégularité et le non parallélisme des surfaces traversées par la lumière polarisée, engendrent un retard de phase plus important d'un endroit à l'autre. De ce fait, le vecteur champ électrique  $\vec{E}$  résultant à la sortie dans la zone de croisement, évolue de façon aléatoire (dépolarisation partielle ou totale de la lumière). Dans ce cas, il est possible d'utiliser le formalisme de Mueller pour connaître l'état de polarisation de la lumière en sortie d'analyseur. Ceci est lié au retard de phase induit dans le pilier (chapitre 3 : Méthodes Optiques, réalisabilité physique de la matrice de Mueller). De plus, le vecteur de Stokes permet de connaître le degré de polarisation dans les zones de croisement. Par faute de temps, on n'a

pas pu démontrer et mesurer expérimentalement le formalisme de Mueller du myocarde ainsi que le vecteur de Stokes.

Dans la zone de croisement des cardiomyocytes, la biréfringence du pilier diminue. De plus, le retard de phase induit dans le pilier diminue considérablement parce qu'elle dépend la biréfringence du pilier. Tout se passe comme si on avait un verre dépoli.

Pour analyser le croisement des cardiomyocytes expérimentalement, l'axe optique du premier pilier est fixé à un azimut de 0 degré par rapport à l'axe de sélection du polariseur. Puis, l'autre pilier est utilisé pour réaliser des croisements de cardiomyocytes à 30, 45, 67, et 90 degrés par rapport au premier pilier, l'idée est de reproduire les mêmes conditions de croisement des cardiomyocytes dans la phase de simulation.

Pour étudier le croisement des deux populations de cardiomyocytes, nous avons utilisé le même greffon logiciel développé sur ImageJ, pour extraire les cartographies des paramètres fondamentaux ( $A, B, \theta$ ) du modèle.

Pour mesurer la variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise dans la région où il y a le croisement des deux sections de piliers, un point de mesure est sélectionné dans chaque pile d'images.

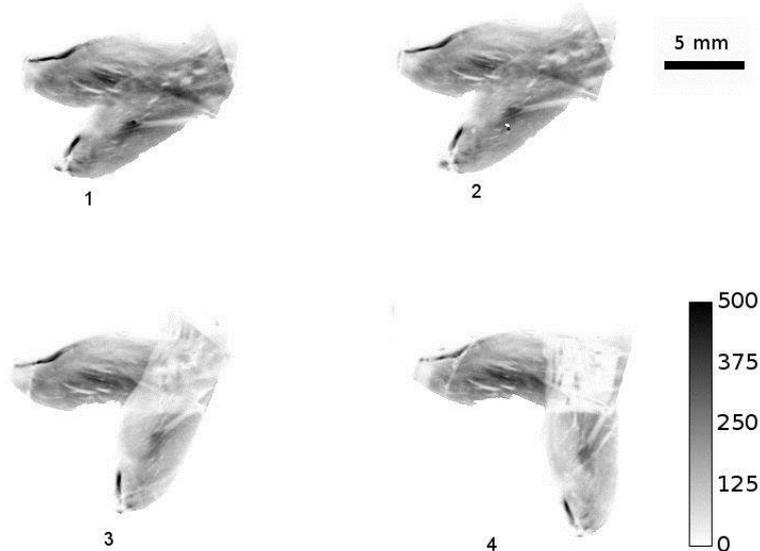
La technique d'acquisition et la méthode d'extraction des paramètres du modèle sont les mêmes que celles utilisées dans le paragraphe précédent.

Dans le cas d'un croisement des deux populations de cardiomyocytes, l'intensité de la lumière polarisée transmise diminue considérablement. Si le volume est totalement homogène, le décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses débute à zéro (chapitre 5, figure 5-18), tandis qu'en présence de cardiomyocytes présentant un angle solide de dispersion, le décalage commence à une valeur différente de zéro (chapitre 5, figure 5-22). L'angle d'azimut se définit comme la bissectrice des deux directions de croisement de cardiomyocytes (chapitre 5, figure 5-17, 5-21).

Dans la figure 6-7a (image en contraste inversé), les régions en noir représentent l'intensité maximum de la lumière transmise à travers le pilier, tandis que les régions blanches représentent une faible intensité de la lumière polarisée transmise.

Le décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses (figure 6-7b, image en contraste inversé) permet de mesurer en chaque pixel, le niveau d'homogénéité du pilier. Les régions en noir traduisent un faible niveau d'homogénéité des faisceaux de cardiomyocytes (image en contraste inversé), tandis qu'une zone blanche représente un fort niveau d'homogénéité des faisceaux de cardiomyocytes dans le pilier (voir figure 6-2c).

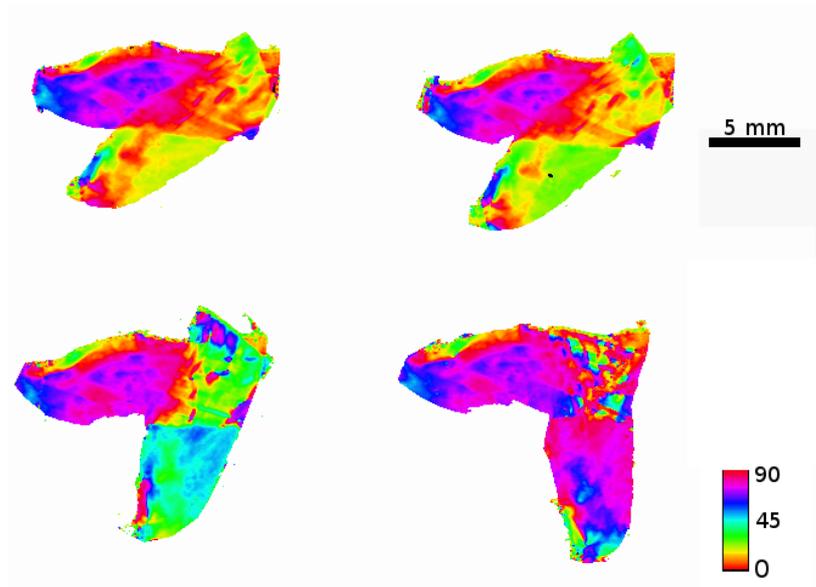
Dans la figure 6-6c, le pilier est orienté à 0 degré puis à 45 degrés. La plupart de ces faisceaux est orienté à 0 degrés (rouge), 80 degrés (magenta), puis 45 degrés. Cependant, dans la figure 6-7c, nous avons observé les différentes mesures des angles d'azimut de ces faisceaux. Par contre, dans la zone de croisement de 30 degrés, la plupart de ces faisceaux sont orientés à un angle d'azimut moyen de 16 degrés. Dans la figure 6-7c, qui correspond à un croisement de 45 degrés, nous avons observé que la plupart de ces faisceaux ont un angle azimut moyen de 23 degrés (jaune). Dans la figure 6-7c, il est possible de mesurer l'orientation moyenne des faisceaux orientés à un azimut de 35 degrés (combinaison de jaune et vert) pour un angle de croisement de 67 degrés. La figure 6-7c montre des cardiomyocytes qui ont un azimut de 40 degrés pour un angle de croisement de 90 degrés. Nous avons effectué manuellement le croisement des faisceaux de cardiomyocytes. Dans la cartographie des angles d'élévation, nous avons observé quatre orientations principales. Ce sont les cardiomyocytes orientés à un angle d'élévation de 40 degrés, 50 degrés, 60 degrés, et 85 degrés (magenta). Etant donné que, l'angle découpage du pilier dans la résine n'était pas parfaitement à 0 degré, toutes les valeurs mesurées sont augmentées de 30 degrés. Dans la zone des croisements de cardiomyocytes, les mesures des angles azimut et d'élévation varient en fonction du retard de phase mesuré dans la zone de croisement des deux piliers.



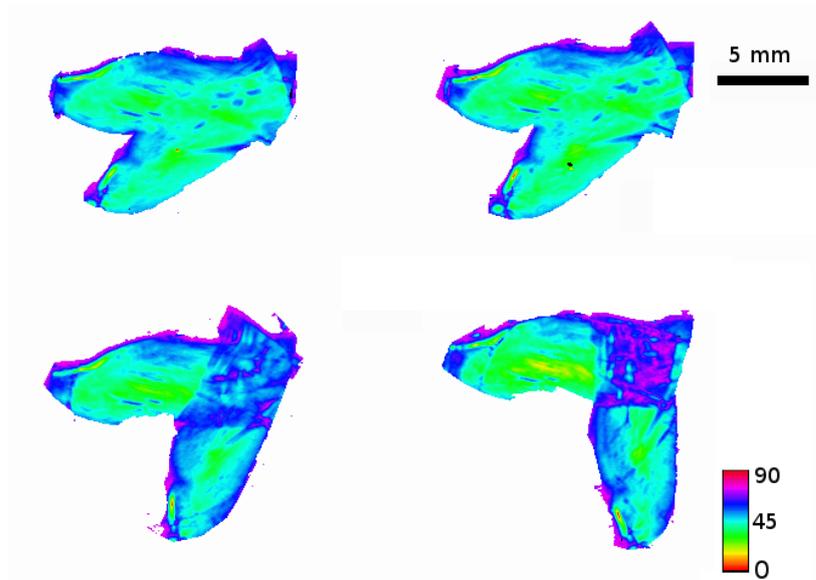
(a) Paramètre  $B$ , croisement des cardiomyocytes, respectivement à 30, 45, 67, 90 degrés (image en contraste inversé).



(b) Paramètre  $A$ , croisement des cardiomyocytes, respectivement à 30, 45, 67, 90 degrés (image en contraste inversé).



(c) Paramètre  $\theta$ , croisement des cardiomyocytes, respectivement à 30, 45, 67, 90 degrés.



(d) Paramètre  $\Phi$ , croisement des cardiomyocytes, respectivement à 30, 45, 67, 90 degrés.

Figure 6-7: Croisement de cardiomyocytes de 30, 45, 67, 90 degrés et extraction des paramètres du modèle. (a) Intensité de lumière polarisée transmise  $B$ . (b) Paramètre de décalage  $A$ . (c) Angle d'azimut  $\theta$ . (d) Angle d'élévation  $\Phi$ .

Afin d'observer la variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise, la variation de l'angle d'azimut et le décalage des courbes par rapport à l'origine dans un voxel, il est nécessaire de choisir un point de mesure dans la région d'intérêt dans l'une des cartographies des croisements de cardiomyocytes.

Le protocole pour tracer des courbes des paramètres mesurés en fonction de l'angle de croisement consiste à

- a) faire un croisement de cardiomyocytes à un angle arbitraire (30, 45, 67, 90) degrés
- b) extraire des paramètres du modèle
- c) ouvrir les 12 cartographies sur ImageJ
- d) sélectionner un point de mesure dans la zone de croisement de cardiomyocytes.

Nous avons utilisé quatre croisements de cardiomyocytes (30, 45, 67, 90 degrés), et 16 cartographies.

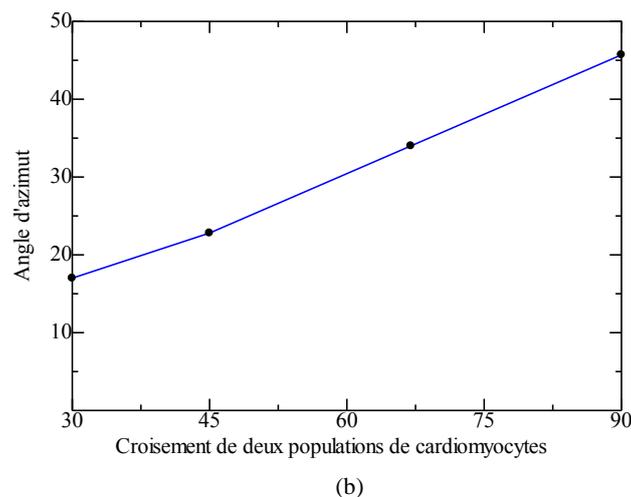
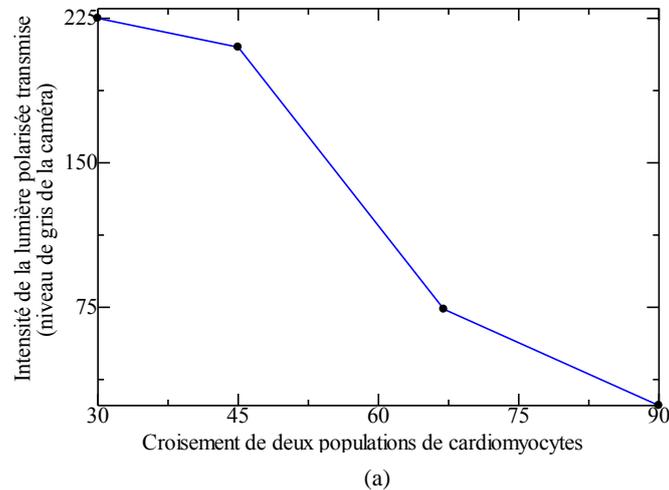
Nous avons tracé la variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise dans une zone de croisement de cardiomyocytes (figure 6-8a), la variation de l'angle d'azimut (figure 6-8b), puis la variation du décalage des courbes à l'origine (figure 6-8c).

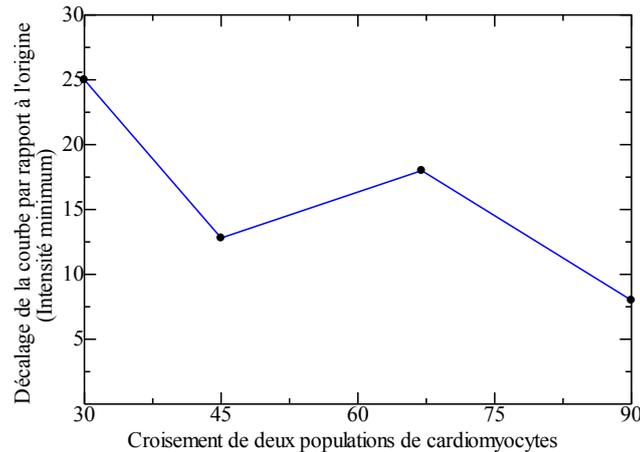
Dans le chapitre 5 (figure 5-16, 5-20) nous avons démontré que l'amplitude de la lumière polarisée transmise diminue au fur et à mesure que l'angle de croisement des cardiomyocytes augmente. Dans la

figure 6-8a nous observons la même variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise pour différents croisements de cardiomyocytes. Chaque point représente une l'intensité de la lumière polarisée transmise dans une zone de croisements de cardiomyocytes.

La figure 6-8b montre les différentes variations de l'angle d'azimut dans le cas des croisements de cardiomyocytes de (30, 45, 67, 90 degrés). Cette figure est identique à celles qui ont été déjà montrées dans le chapitre 5 (figure 5-18, 5-21).

Pour rappel, il a été démontré dans le chapitre 5, (figure 5-22), qu'en présence d'un angle solide de dispersion, la variation du décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses ne commence pas à zéro, mais à une valeur supérieure, la figure 6-8c confirme bien ce résultat car le pilier n'est pas totalement homogène.





(c)

Figure 6-8 : Paramètres du modèle en fonction du croisement des cardiomyocytes. (a) chaque point représente une intensité d'un croisement de fibre, ou l'intensité de la lumière polarisée transmise dans un voxel ; (b) variation de l'angle d'azimut en fonction de du croisement de cardiomyocytes; (c) variation du décalage des courbes par rapport à l'axe des abscisses en fonction du croisement des cardiomyocytes.

Les courbes expérimentales de la figure 6-8 nous ont permis de valider la simulation numérique dans le cas de croisement de deux populations de cardiomyocytes.

Pour rappel, le but de ce chapitre était de valider le modèle analytique proposé dans le chapitre 5, en utilisant un vrai modèle biologique. En ce sens, les piliers des valves auriculo-ventriculaires ont été choisis et les mesures ont été faites dans les mêmes modalités que dans la phase de simulation. Les résultats obtenus dans la phase expérimentale confirment les résultats de la phase de simulation. Il n'y a aucun doute sur la robustesse de ce modèle analytique.

Dans le chapitre suivant, la même technique permettant d'étendre l'angle d'azimut sur une demi-sphère sera utilisée sur des coupes sériées d'un cœur humain. Puis, le modèle analytique va être utilisé afin d'extraire les cartographies des angles azimut et celles des angles d'élévations.

# Chapitre 7

## Cartographies du myocarde humain

---

<b>Chapitre 7</b> .....	127
<b>7.1 Etude d'un cœur en entier</b> .....	128
<b>7.2 Cartographie de l'orientation du myocarde humain</b> .....	132
7.2.1 Extraction de la cartographie du niveau d'homogénéité du myocarde humain : paramètre ( $A$ ).....	132
7.2.2 Cartographie de l'angle d'élévation : paramètre ( $\Phi$ ) .....	135
7.2.3 Cartographie de l'angle d'azimut : paramètre ( $\theta$ ) .....	138
<b>7.3 Discussion</b> .....	140

## 7.1 Étude d'un cœur en entier

Pour connaître l'orientation des cardiomyocytes à l'intérieur de toute la masse ventriculaire, un cœur humain en entier est analysé (chapitre 2 : Matériels et Méthodes : préparation du cœur entier). Les méthodes d'acquisitions des images du cœur humain ne sont pas différentes de celles décrites dans le chapitre précédent avec les piliers des valves auriculo-ventriculaires.

Le but principal de ce chapitre est d'extraire les paramètres  $(A, B, \theta)$  du modèle analytique à partir des cartographies. L'extraction du paramètre  $B$  permet de pouvoir calculer l'angle d'élévation des cardiomyocytes. C'est pourquoi, la cartographie qui permet d'observer les variations de l'intensité de la lumière polarisée transmise grâce au paramètre  $B$  ne sera pas présentée.

Trois cartographies seront extraites :

- d) qui décrit la distribution de l'angle d'élévation dans la masse ventriculaire
- e) qui décrit la distribution de l'angle d'azimut dans la masse ventriculaire
- f) qui décrit le niveau d'homogénéité du myocarde pixel par pixel.

La cartographie des angles d'azimut et celle de l'élévation permettent de connaître l'orientation 3D des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire.

Pour rappel, le modèle analytique présenté dans le chapitre 5, équation 5. 18, a été développé grâce à la matrice de Mueller des éléments optiques montés en cascades. C'est un modèle simple et linéaire, qui s'ajuste (méthodes: moindres carrés) pixel par pixel, et permet d'extraire efficacement les paramètres  $(A, B, \theta)$ .

La technique d'acquisition et la méthode d'extraction des paramètres sont les mêmes que celles utilisées dans le chapitre précédent pour les piliers des valves auriculo-ventriculaires.

Pour chaque coupe sériée du myocarde, celle-ci est posée sur la platine porte-objet du banc optique (chapitre 4, figure 4-1c) et orientée dans le référentiel des marqueurs fiduciaires. Puis, toutes les coupes sériées sont analysées entre polariseur et analyseur croisés. Elles sont toutes orientées dans le même référentiel pour une reconstruction tridimensionnelle du cœur en entier.

Pour rappel, l'interaction atomique et photonique d'un objet biréfringent avec la lumière polarisée, repose sur la différence de chemin optique des deux rayons induit par les atomes de l'objet, quand il est traversé par un train de photons. Autrement dit, ce chemin dépend bien de l'épaisseur, de la biréfringence de l'objet. De plus, un filtre orange (passe long) avec une longueur d'onde moyenne de coupure de 560 nm a été monté sur l'objectif de la caméra noir et blanc (chapitre 6).

Après préparation et découpage du cœur en entier, nous avons obtenu 42 coupes myocardiques (chapitre 2). Les coupes 1 à 5 ne comportent pas d'information significative, elles ne sont pas présentées dans la planche des coupes, figure 7-6, 7-7, 7-8. Pour ne pas alourdir la présentation, seule une coupe sur deux est représentée dans les figures. Au total, 17 coupes sont analysées entre polariseur et analyseur croisés. La figure 7-1 montre une coupe myocardique entre polariseur et analyseur parallèle. Ce choix permet une bonne observation de la coupe. Dans cette figure, aucune information exploitable n'est présente, il n'est pas possible d'observer le trajet d'un faisceau de cardiomyocytes. De même, le retard de phase induit par le myocarde n'est pas observable.

Pour faire apparaître des informations pertinentes dans cette coupe myocardique, à savoir l'orientation de ses cardiomyocytes pixel par pixel, son niveau d'homogénéité, il est nécessaire de croiser le couple polariseur et analyseur.

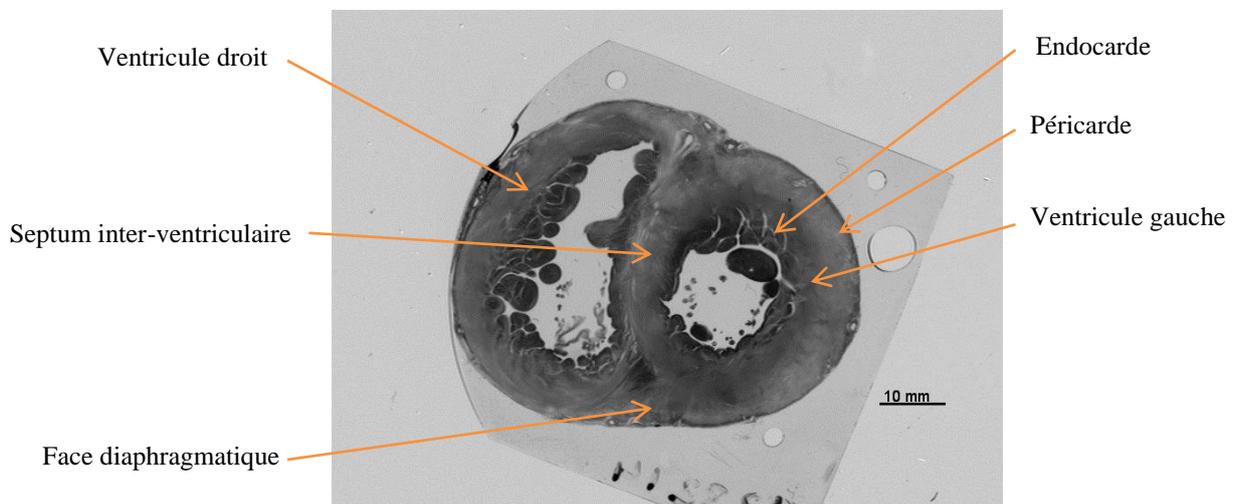


Figure 7-1: Coupe myocardique entre polariseur et analyseur parallèle.

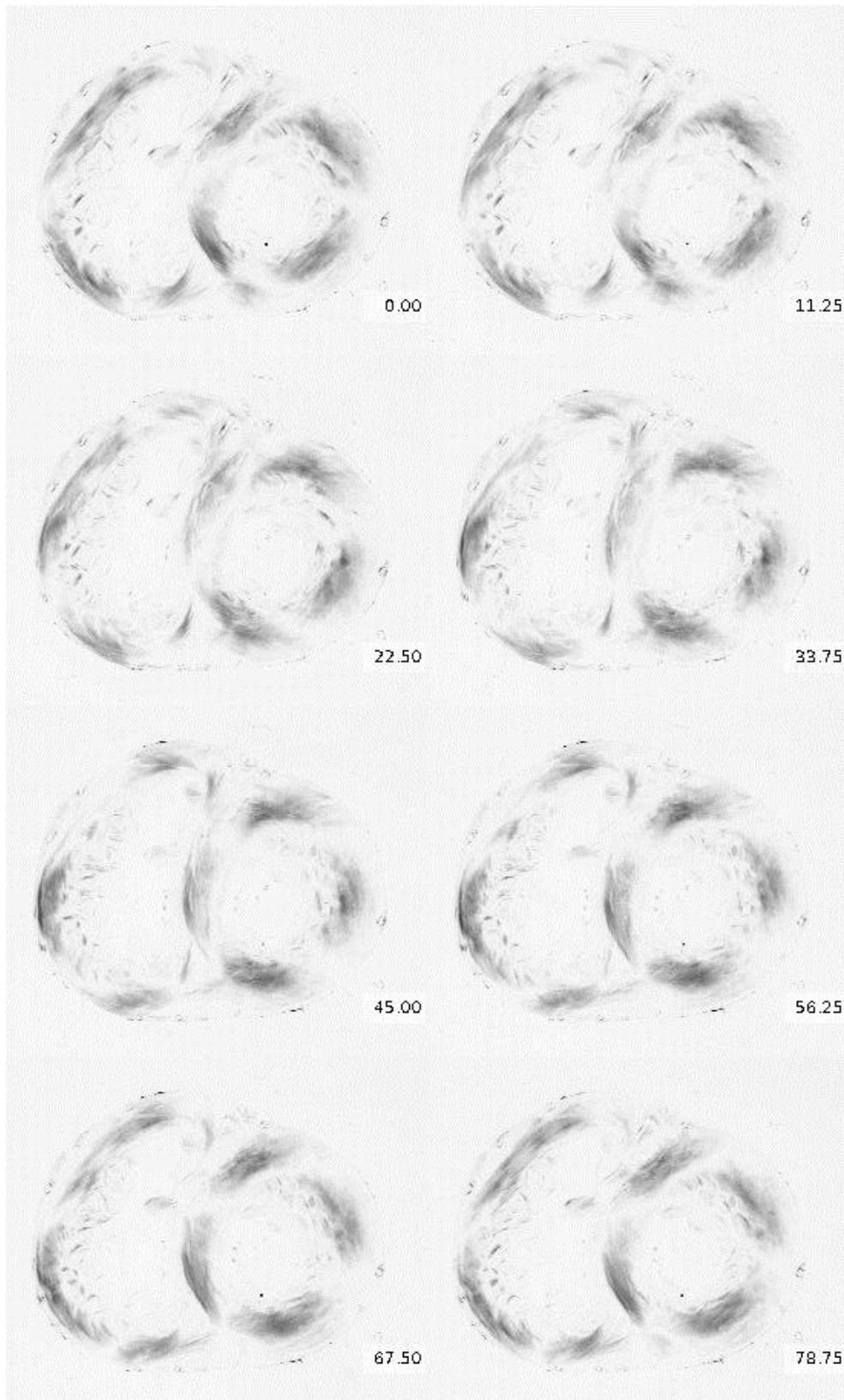


Figure 7-2: Coupe myocardique entre polariseur et analyseur croisés (images en contraste inversé). Chaque image représente un angle de rotation du couple polariseur et analyseur croisés de 0 à 78,75 degrés par pas de 11,25 degrés. Quand l'axe de sélection du polariseur et l'axe optique d'un faisceau de cardiomyocytes sont parallèle, il y a une extinction de la lumière (région blanche). En revanche, quand l'axe de sélection du polariseur est à 45 degrés par rapport à l'axe optique d'un faisceau, l'intensité de la lumière polarisée transmise est au maximum (région noire).

Pour une rotation du couple polariseur et analyseur croisés de 0 à 78,75 degrés par pas de 11,25 degrés, nous avons capturé une pile de huit images.

La figure 7-2 montre les huit acquisitions entre polariseur et analyseur croisés. Les illustrations des analyses en lumière polarisée sont présentées en contraste inversé sur les figures 7-2 et 7-3. Le contraste n'est pas la même dans toute l'image. Pour chaque angle de rotation du couple polariseur et analyseur croisés, une région devient plus ou moins sombre que d'autres. Il est possible d'observer des intensités de lumière qui diffèrent selon la position dans la masse musculaire, et l'orientation du couple polariseur et analyseur croisés.

Quand l'axe de sélection du polariseur est parallèle à l'axe optique d'un faisceau de cardiomyocytes, l'intensité de la lumière polarisée transmise est au minimum dans cette région (région blanche).

Pour rappel, dans l'analyse du pilier des valves auriculo-ventriculaires (chapitre 6 : Expérimentations), l'axe optique de ce dernier a été orienté à un azimut de 0 et 45 degrés. Il a été démontré que : quand l'axe de sélection du polariseur est orienté à 0 degré par rapport à l'axe optique du pilier qui est à 45 degrés, l'intensité de la lumière polarisée transmise est au maximum. Ce résultat a été démontré analytiquement dans le chapitre 5, figure 5-5 et 5-6, puis vérifié expérimentalement dans le chapitre 6, figure 6-2. Pour exploiter ces résultats et rester cohérent avec ceux présentés dans les chapitres 5 et 6, nous interprétons uniquement les images acquises quand l'axe de sélection du polariseur est orienté à 0 et à 45 degrés par rapport à l'axe optique des faisceaux de cardiomyocytes

Dans la figure 7-2 et dans la première acquisition (axe de sélection du polariseur à 0 degré), le contraste observé dans les images du myocarde est dû à la variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise. Cette intensité dépend du retard de phase et de l'axe de sélection du polariseur (chapitre 5, équation 5.7). Elle est au maximum dans les régions où les faisceaux de cardiomyocytes ont une orientation moyenne de 45 degrés (région noire). Par contre, l'intensité de la lumière polarisée transmise est au minimum quand un faisceau de cardiomyocytes est orienté à un azimut proche de zéro. Le gradient observé dans cette image permet de connaître la mesure de l'angle d'azimut.

En revanche, quand l'axe de sélection du polariseur est à 45 degrés et parallèle à l'axe optique de la coupe, figure 7-2, 5<sup>ème</sup> acquisition, l'intensité de la lumière polarisée transmise est proche de zéro dans les régions où toutes les cardiomyocytes ont une orientation moyenne proche de 45 degrés (région blanche), voir chapitre 5, figure 5-11, et chapitre 6 figure 6-2. Par contre, cette intensité est au maximum pour tous les faisceaux de cardiomyocytes qui ont une orientation moyenne proche de zéro (région noire), chapitre 5, figure 5-5.

En résumé, le gradient observé dans chaque acquisition de la figure 7-2 permet de connaître l'orientation des faisceaux cardiomyocytes qui ont la même orientation dans le plan. Les informations contenues dans cette pile d'images seront utilisées pour extraire la cartographie du myocarde en entier.

## 7.2 Cartographie de l'orientation du myocarde humain

Chaque angle d'extinction obtenu signifie que la distribution spatiale des cardiomyocytes dans cet intervalle a une orientation moyenne qui est donnée par l'axe de sélection du polariseur. Après les acquisitions de la coupe précédente entre polariseur et analyseur croisés, une lame pleine onde orientée à +45 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur est insérée dans le banc optique (chapitre 6, figure 6-5). La coupe reste positionnée sur la platine porte-objet. Puis, le couple polariseur et analyseur croisés tourne de 0 à 67 degrés par pas de 22,5 degrés, nous avons obtenu une pile de quatre images. Après l'obtention de ces piles d'images, l'équation suivante (7.1) est utilisée pour extraire dans chaque voxel, le niveau d'homogénéité du myocarde ( $A$ ), l'amplitude de la lumière polarisée transmise ( $B$ ), et l'angle d'azimut ( $\theta$ ).

$$y(\alpha) = A + B \cos^2 \left( 2 \left( \alpha + \frac{\pi}{4} - \theta \right) \right) \text{ ou } y(\alpha) = A + m_{00}(\alpha) \quad (7.1)$$

Rappelons ici que les paramètres ( $A, B, \theta$ ) sont obtenus en ajustant le modèle défini dans l'équation 7.1. De plus, l'insertion de lame pleine onde dans le banc optique sert à étendre l'angle d'azimut jusqu'à 180° degrés.

Cet équation a été implémentée dans un greffon logiciel (ImageJ) pour l'extraction des paramètres ( $A, B, \theta$ ) pour réaliser des cartographies.

### 7.2.1 Extraction de la cartographie du niveau d'homogénéité du myocarde humain : paramètre ( $A$ )

Il a été démontré dans le chapitre 5, figures 5-11a, 5-11b, en présence d'un angle solide de dispersion, les courbes commencent à se détacher de l'axe des abscisses au fur et à mesure que l'angle solide de dispersion augmente. Le décalage  $A$  permet de prédire le niveau d'homogénéité de la distribution structurelle et atomique du volume (P.A. Desrosiers, 2014). Cependant, en absence de tout angle solide (cas idéal) de dispersion, les courbes atteignent l'axe des abscisses quand l'axe de sélection du polariseur est parallèle à l'axe optique du volume orienté à un azimut de 0 degrés, chapitre 5, figure 5-7.

Selon l'équation 7.1 et pour des faibles valeurs de  $A$ , ce volume possède un très grand niveau d'homogénéité, et pour  $A = 0$  ce volume se comporte comme un cristal uni-axial biréfringent

parfaitement homogène (cas idéal). Ceci nous permet de mieux d'interpréter la figure 7-3 (image en contraste inversé).

Dans la figure 7-3 les régions blanches sont des régions qui possèdent un fort niveau d'homogénéité, c'est-à-dire que la variable  $A$  tend vers des grandes intensités (209 unité arbitraire). Cependant, si le contraste n'était pas inversé,  $A$  tendrait vers des petites intensités qui sont proches de 0 u.a (unité arbitraire) pour un faisceau de cardiomyocytes.

Paramètre ( $A$ )

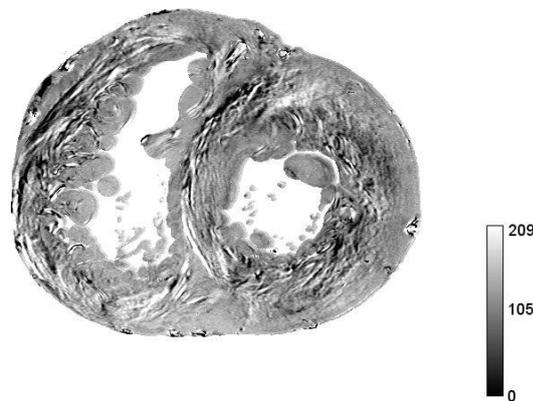


Figure 7-3: Cartographie du niveau d'homogénéité de la coupe du myocarde (image en contraste inversé). Les régions les moins homogènes sont caractérisées par un faible niveau de gris (régions en noir), tandis que les régions très homogènes ont un niveau de gris moyen (unité arbitraire). Il est possible d'observer le niveau d'homogénéité des deux ventricules, ainsi que celui du septum inter-ventriculaire.

La distribution spatiale des cardiomyocytes à l'intérieur des deux ventricules est très complexe, ainsi que le mur du septum inter-ventriculaire. Certaines régions paraissent beaucoup plus homogènes que d'autres. L'augmentation progressive de la variabilité entre les cardiomyocytes (angle solide de dispersion :  $\sigma$ ) entraîne une augmentation du décalage  $A$ , (P.A. Desrosiers, 2014). On observe dans les figures 7-3 et 7-4 de nombreuses zones noires qui représentent un faible niveau d'homogénéité des cardiomyocytes est faible.

La cartographie du niveau d'homogénéité du myocarde humain va nous permettre de répondre à beaucoup de question sur la mécanique du cœur (les régions les plus homogènes sont-elles mécaniquement plus robustes que les régions les moins homogènes ? et inversement ?) et sur la nature des pathologies (est-ce en présence d'une pathologie une région homogène devient totalement hétérogène ? et inversement ?).

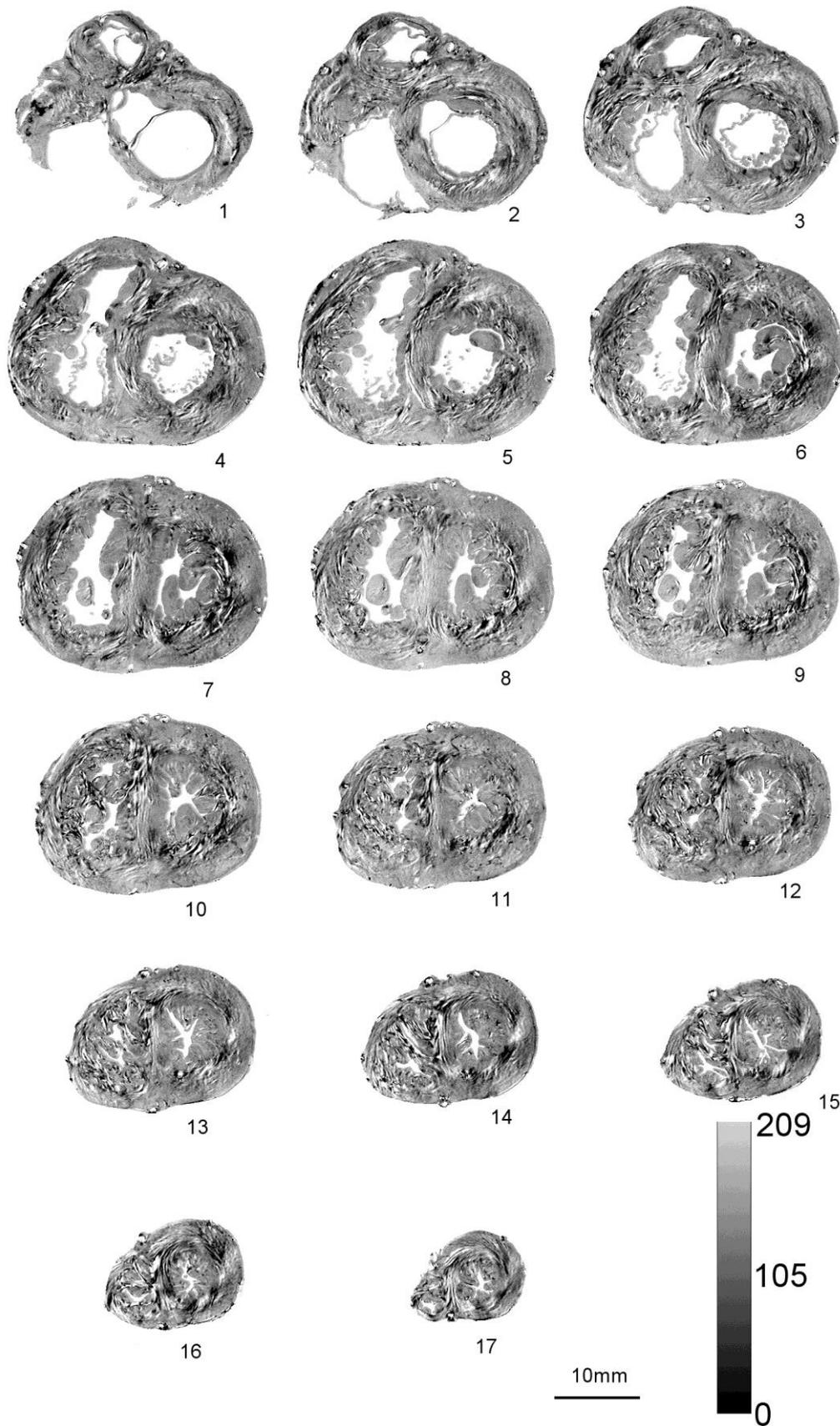


Figure 7-4: Cartographie du niveau d'homogénéité du myocarde humain (images contraste inversés). Les régions noires sont des régions où le décalage est au maximum tandis que les régions blanches représentent un décalage minimum.

### 7.2.2 Cartographie de l'angle d'élévation : paramètre ( $\Phi$ )

La variation de l'intensité de la lumière polarisée transmise est fonction du retard de phase induit dans la coupe. Il a été démontré dans le chapitre 5, équation 5.13, que l'arc cosinus du rapport de l'intensité de la lumière polarisée transmise sur l'intensité de la lumière maximum (biréfringence maximum) élevé à la puissance de 0,25 définit l'angle d'élévation.

L'équation 7.4 est implémentée dans un greffon logiciel (ImageJ) pour une extraction pixel par pixel de la cartographie de la mesure des angles d'élévation. En effet, elle donne des informations sur les faisceaux de cardiomyocytes qui s'échappent dans le plan. Par cette même technique, il est aussi possible de calculer ou d'extraire le paramètre B du modèle.

$$\Phi = \cos^{-1} \left( \left( \frac{I}{I_{max}} \right)^{\frac{1}{4}} \right) \text{ ou } \Phi = \cos^{-1} \left( (B)^{\frac{1}{4}} \right) \quad (7.4)$$

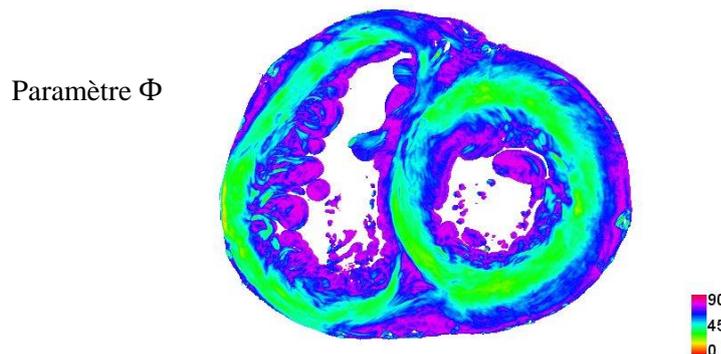


Figure 7-5: Cartographie des angles d'élévation. Les faisceaux de cardiomyocytes dans la masse ventriculaire sont circulaires c'est-à-dire, qu'elles restent dans le plan de la coupe et suivent la révolution du myocarde. Il est aussi possible d'observer le passage à zéro de certains faisceaux (région rouge). Les faisceaux de cardiomyocytes endocardiques dans les deux ventricules ont un angle d'élévation qui est proche de 90 degrés. Chaque couleur permet de connaître l'angle d'élévation d'un faisceau de cardiomyocytes.

Après extraction de cette cartographie, une table de fausse de couleurs est appliquée pour pouvoir observer pixel par pixel l'orientation des cardiomyocytes ou des faisceaux de cardiomyocytes à l'intérieur de la masse ventriculaire. La figure 7-6 représente la planche de coupes sériées de tout le myocarde. Cette planche de coupe se lit du haut à gauche, vers la droite. Puis une section sur deux de la série est présentée sur cette planche.

Dans les cartographies des angles d'élévation, on observe dans la partie médiane des parois ventriculaires et du septum inter-ventriculaire que les cardiomyocytes sont restés majoritairement dans

le plan, alors que dans les parties proches des cavités et celle du péricarde, les faisceaux s'échappent dans le plan (élévation élevé).

Dans la 1<sup>ère</sup> coupe de la planche, les cardiomyocytes péricardiques ont un angle d'élévation moyen proche de 70 degrés (bleu). Les faisceaux dans la masse ventriculaires sont orientés à un angle d'élévation moyen de 50 (cyan) degrés et 45 degrés (vert). Il est aussi possible d'observer des faisceaux à un angle d'élévation de 85 degrés (magenta).

Dans la 3<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup>, 5<sup>ème</sup> coupe, les faisceaux avec un angle d'élévation moyen proche de 0 degré (rouge) et 20 degrés (orange) commencent à apparaitre dans la masse ventriculaire. Puis, dans la 6<sup>ème</sup> coupe il devient possible d'observer une grande quantité de cardiomyocytes avec un angle d'élévation moyen proche de 0 degrés (rouge), 10 degrés (jaune), 20 degrés (orange).

Dans les parties équatoriales (coupes 4 à 12), nous pouvons distinguer 6 angles d'élévation moyen (0, 10, 20, 45, 50, 70). Cette région est dite équatoriale, car elle possède le plus grand diamètre dans le ventricule gauche. Les faisceaux sont de plus en plus circulaires, c'est-à-dire qu'ils restent dans le plan de la coupe et suivent la révolution de la paroi ventriculaire. La plupart des cardiomyocytes endocardiques ont des angles d'élévation moyenne proche de 50 degrés (cyan), 70 degrés (bleu), et 90 degrés (magenta). Dans la masse ventriculaire, la plupart des faisceaux est restée dans le plan de la coupe, et ceux-ci sont orientés avec un angle d'élévation moyen de 45 degrés (vert) et 50 degrés (cyan).

De la 1<sup>ère</sup> à la 3<sup>ème</sup> coupe (régions basales), puis de la 10<sup>ème</sup> à la 15<sup>ème</sup> coupe (régions apicales), la concavité du mur du septum inter-ventriculaire est tournée vers le ventricule gauche. La région est dite apicale, car possède le plus petit diamètre du ventricule droite, et la région basale est la partie où repose le cœur, dans cette dernière, il est possible d'observer la présence des vaisseaux. Les faisceaux de cardiomyocytes dans le septum inter-ventriculaire sont longitudinaux. Dans la face diaphragmatique, il est possible d'observer des faisceaux avec un angle d'élévation de 70 degrés (bleu), 50 degrés (cyan), et 90 degrés (magenta).

De la 7<sup>ème</sup> à la 11<sup>ème</sup> la courbure du mur du septum inter-ventriculaire disparaît, et le mur du septum inter-ventriculaire se redresse devient de plus en plus droit.

Dans la 6<sup>ème</sup>, 10<sup>ème</sup>, 11<sup>ème</sup>, 12<sup>ème</sup>, 13<sup>ème</sup>, 14<sup>ème</sup>, 16<sup>ème</sup>, nous avons observé dans le mur du septum inter-ventriculaire des faisceaux avec un angle d'élévation de 0 degrés, et de 10 degrés. Cependant, dans la 16<sup>ème</sup> coupe, la population des faisceaux avec un angle d'élévation de 0 degrés devient beaucoup plus importante.

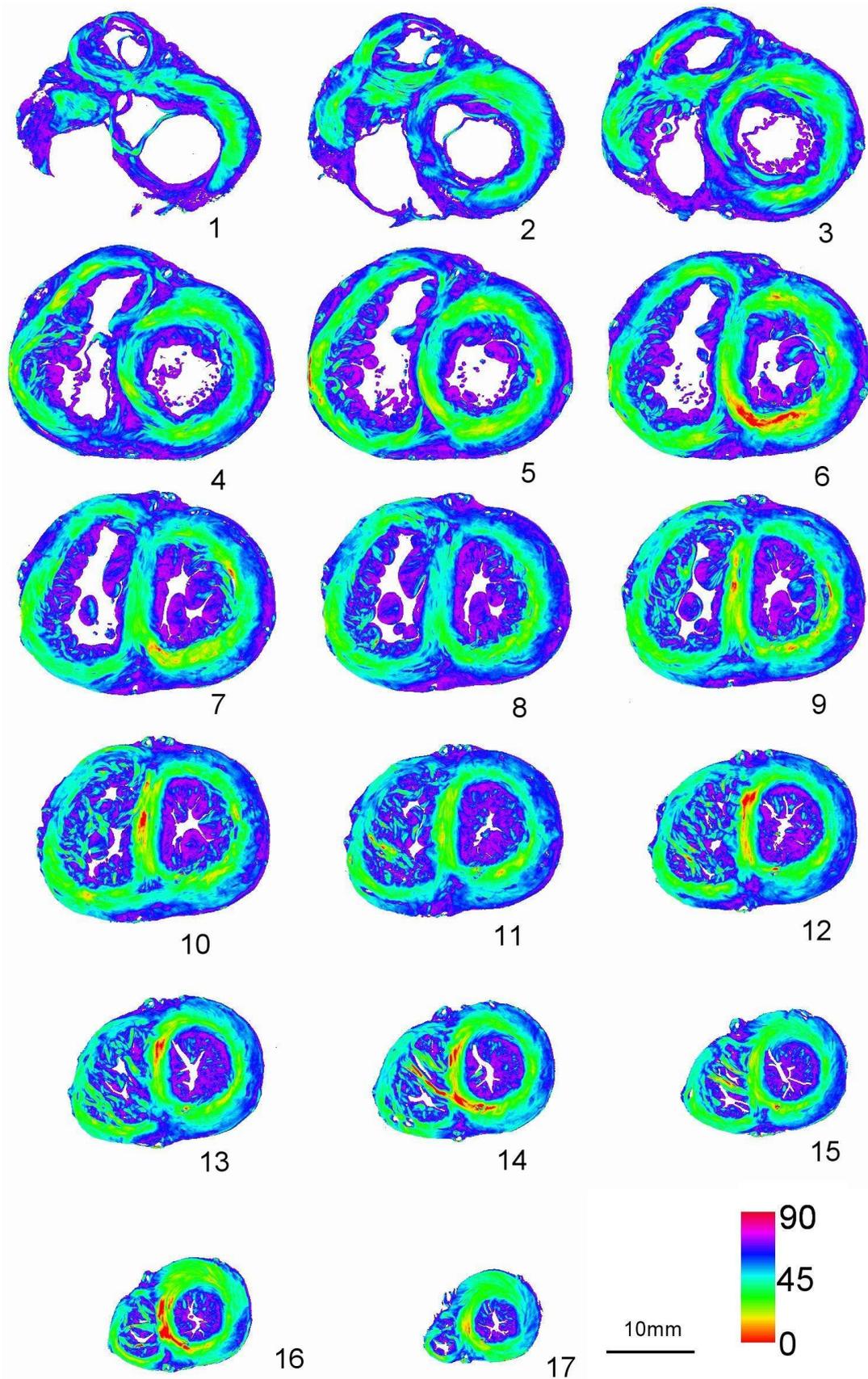


Figure 7-6 : Cartographie des angles de l'élévation du myocarde en entier. Chaque couleur représente l'orientation moyenne des angles d'élévation d'un faisceau de cardiomyocytes.

### 7.2.3 Cartographie de l'angle d'azimut : paramètre ( $\theta$ )

Dans la cartographie des angles azimut, précisément dans la partie médiane du myocarde et du septum inter-ventriculaire, les faisceaux de cardiomyocytes suivent la courbure du myocarde en révolution autour des cavités, ce qui leur donne le nom de « fibres circulaires ». Alors, dans les régions proches des cavités et de l'épicarde, la valeur des angles d'azimut est beaucoup plus élevée. Ainsi, la cartographie des angles d'azimut donne des informations sur la distribution spatiale des angles d'azimut des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire. Pour rappel, il a été démontré dans le chapitre 5, (équation 5.29), comment extraire l'angle d'azimut d'un faisceau de cardiomyocytes. Mathématiquement, il est possible de déduire directement dans l'équation 7.1 la valeur de  $\theta$ , à condition que  $\alpha, A, B$ , soient connus.

Après extraction pixel par pixel les valeurs des angles d'azimut  $\theta$ , une table de fausse couleur est appliquée à l'ensemble du myocarde humain pour préciser l'orientation de l'angle d'azimut d'un faisceau de cardiomyocytes ayant les mêmes directions figure 7-7

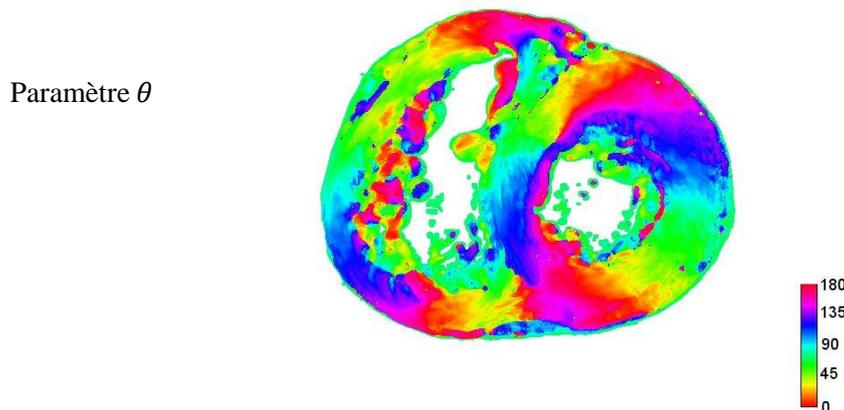


Figure 7-7: Cartographie des angles d'azimut, paramètre ( $\theta$ ). Chaque couleur représente l'orientation d'un faisceau de cardiomyocytes.

Dans la figure 7-8 il est possible d'observer la direction des angles d'azimut des cardiomyocytes. Dans cette figure, il existe sept orientations moyennes des angles d'azimut, ce sont les faisceaux qui sont orientés à 0 degrés, à 30 degrés (jaune), 35 degrés (orange), 45 degrés (vert), 90 degrés (cyan pure), 120 degrés (bleu), 180 degrés (magenta). Dès la 1<sup>ère</sup> coupe il est possible de distinguer toutes les différentes orientations des angles azimut des cardiomyocytes.

Nous avons observé dans la figure 7-8 que les faisceaux sont toujours circulaires et suivent la révolution du myocarde, mais avec des changements de directions. Par exemple, dans le ventricule gauche, les faisceaux de cardiomyocytes orientés à un azimut moyen de 120 degrés (bleu) changent de

direction, puis orientés à 90 degrés (cyan), 45 degrés (vert), 30 degrés (jaune), 34 degrés (orange), 0 degrés (rouge), 180 degrés (magenta), puis à 120 degrés (bleu)

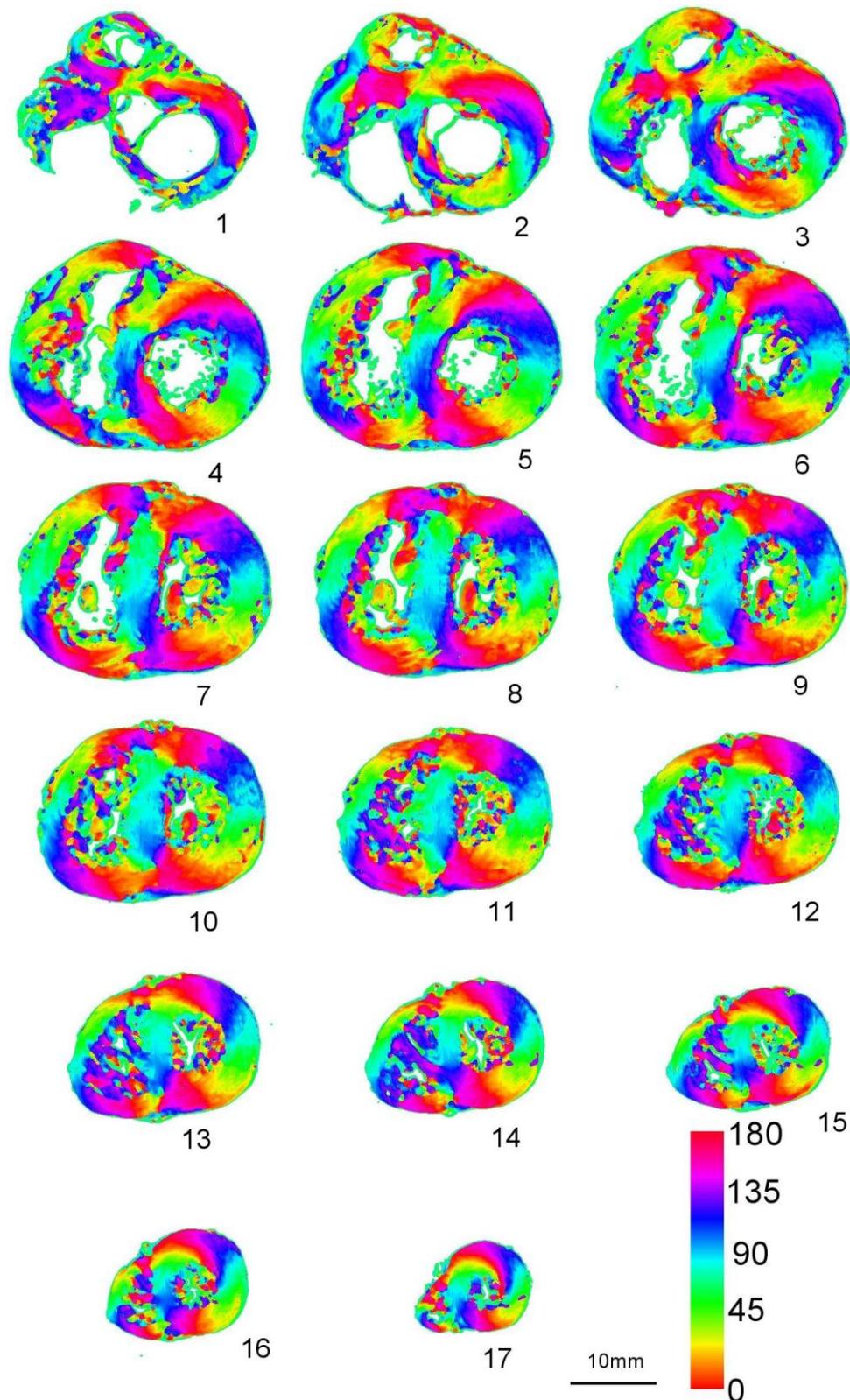


Figure 7-8 : Cartographies des angles azimut du myocarde des masses ventriculaire. Chaque couleur permet de déterminer l'orientation moyenne des angles azimut des faisceaux de cardiomyocytes.

Dans la 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup>, coupe de la région basale, les cardiomyocytes périocardiques sont orientés à un angle d'azimut de 45 degrés (vert), ainsi que les cardiomyocytes endocardiques. Il est aussi possible d'observer des faisceaux de cardiomyocytes avec un azimut proche de 0 degrés (rouge), 30 degrés (jaune), 34 degrés (orange), 90 (degrés), 120 degrés (bleu), 180 degrés (magenta).

Dans la région équatoriale, précisément dans les coupes (4<sup>ème</sup>, 5<sup>ème</sup>, 6<sup>ème</sup> coupe), il est possible d'observer dans le septum inter-ventriculaire, des faisceaux avec un angle d'azimut moyen de 30 degrés (jaunes), 90 degrés (cyan), 120 degrés (bleu), puis quelques faisceaux avec un azimuts de 0 (degrés) et 180 (degrés).

Toujours dans la région équatoriale (7<sup>ème</sup>, 8<sup>ème</sup>, ..., 12<sup>ème</sup>) et dans le septum inter-ventriculaire, les faisceaux sont orientés à un azimut moyen de 45 degrés (vert), 90 degrés (cyan) et 120 degrés (bleu). Il est aussi possible d'observer ces même angles d'azimuts dans les régions apicales (10<sup>ème</sup>, 11<sup>ème</sup>, ..., 15<sup>ème</sup>).

En conclusion, grâce à la méthode basée sur la lumière polarisée, nous pouvons exploiter toutes les coupes pour en tirer des informations d'orientation à haute résolution. La robustesse de cette méthode permet de connaître en détail l'orientation moyenne des angles d'azimut des faisceaux de cardiomyocytes dans le myocarde humain.

### 7.3 Discussion

Dans le ventricule gauche, les faisceaux circonférentiels sont situés dans le plan de la coupe c'est-à-dire, ils sont perpendiculaires au grand axe du ventricule gauche et du ventricule droit.

Ils sont bornés en dedans par des faisceaux sous-épicaux, et en dehors par des faisceaux sous-endocardiques disposés plus longitudinalement par rapport au grand axe du ventricule gauche.

La disposition géométrique des faisceaux périocardiques permet d'observer la continuité entre les cardiomyocytes les plus internes et les plus externes au niveau de la région basale.

L'architecture du ventricule droit est beaucoup plus complexe que celle du ventricule gauche. La disposition géométrique des faisceaux de cardiomyocytes se fait suivant un schéma classique avec des faisceaux coplanaires qui se trouvent à la partie médiane et des faisceaux longitudinaux sous-endocardiques et sous-épicaux.

La face septale est constituée par le septum inter-ventriculaire d'entrée, qui est une courbe avec une concavité tournée beaucoup plus vers le ventricule gauche. La plupart des faisceaux de cardiomyocytes de la paroi latérale du ventricule droite établissent une continuité avec les faisceaux du

septum inter-ventriculaire qui est très limitée, tandis que la plupart des faisceaux de cardiomyocytes des parois du ventricule gauche sont en continuité avec les faisceaux du septum inter-ventriculaire, (Jouk P.-S. , 1994). Les faisceaux internes de la paroi supérieure de la partie basale de la chambre d'entrée du ventricule droit sont en continuités avec les faisceaux de la paroi supérieure du ventricule gauche.

Dans la conjecture de Streeter, la paroi équatoriale libre du ventricule gauche est recouverte de faisceaux de cardiomyocytes ayant une organisation en géodésiques de surfaces toroïdales emboîtées. Cette conjecture est valide seulement pour une petite partie du ventricule gauche, car Streeter n'avait pas établi son modèle sur toute la masse ventriculaire. Le modèle analytique développé dans ce manuscrit permet l'exploitation du cœur en entier, c'est-à-dire, l'orientation des cardiomyocytes dans le ventricule droit, le ventricule gauche, et le septum inter-ventriculaire, il est possible de connaître l'orientation des faisceaux dans toute la masse ventriculaire. Les résultats trouvés avec la méthode analytique permettent de confirmer les travaux expérimentaux de Jouk et al (Jouk P.-S. , 1994).

Le chapitre suivant présente une confrontation de la mesure de l'Imagerie en Lumière Polarisée (ILP) que nous appellerons « vérité terrain » et l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM). IPL sera utilisée dans le but de donner une validation à la méthode de détermination de l'orientation des faisceaux de cardiomyocytes humains par IRM.

# Chapitre 8

## Confrontation IRM/ILP

---

<b>Chapitre 8</b> .....	142
<b>8.1 Principe de l'Imagerie par Résonance Magnétique</b> .....	143
<b>8.2 Comparaison des cartographies du cœur</b> .....	143
<b>8.3 Cartographie IRM vs ILP</b> .....	143
<b>8.4 Discussion</b> .....	155

## 8.1 Principe de l'Imagerie par Résonance Magnétique

L'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) est l'une des méthodes non invasives les plus utilisées à l'heure actuelle. La méthode d'IRM de diffusion repose sur la mesure de la diffusion des molécules d'eau à l'intérieur du tissu. L'eau piégée entre les cellules doit choisir une direction, et cette direction permet de déterminer l'orientation des cellules environnantes.

Beaucoup d'auteurs se sont consacrés à la modélisation des mouvements des molécules d'eau à l'intérieur des tissus pour optimiser les algorithmes de détermination de l'orientation des cardiomyocytes (P. Basser, 1996) , (P. Schmid, 2005) (Wu MT T. W., 2006 ), (David E Sosnovik, 2009), (WANG, 2011).

L'IRM est basée sur le principe de la résonance des atomes d'hydrogène sous l'action d'ondes radiofréquences. Le noyau de l'atome d'hydrogène est composé d'un proton, de charge  $+e$  et de masse  $m$ . Sous l'action d'un champ magnétique, le mouvement de rotation (spin) du moment magnétique  $\mu$ , est relié au moment cinétique  $J$ , tel que :

$$\mu = \gamma j$$

$\gamma$  : rapport gyromagnétique.

Quand un tissu biologique est soumis à un champ magnétique statique  $B_0$ , les moments magnétiques des atomes d'hydrogène se comportent comme de petits aimants. Ils s'alignent suivant la direction  $B_0$  et résonnent à la fréquence  $\omega_0$ , définie par la relation de Lamor

$$\omega_0 = \gamma B_0$$

## 8.2 Comparaison des cartographies du cœur

### 8.3. Cartographie IRM vs ILP

A l'heure actuelle, il n'existe aucune méthode d'imagerie qui valide les acquisitions d'images faites en IRM pour l'analyse de l'orientation des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire. Plusieurs auteurs ont présenté des modèles d'orientations des cardiomyocytes obtenues en IRM, mais ces modèles n'ont pas encore été validés par une autre technique d'imagerie, d'où la motivation et l'originalité de notre travail d'Imagerie en Lumière Polarisée (ILP).

Les mesures obtenues avec les deux techniques d'imageries (IRM, ILP) permettent d'observer les points forts et les points faibles de chacune. Pour valider l'IRM, il est nécessaire d'utiliser une méthode d'imagerie très robuste basée sur une mesure physique de l'orientation des cardiomyocytes.

Nous avons choisi de confronter les cartographies obtenues par ILP avec celles obtenues en IRM pour effectuer cette validation.

La cartographie ILP offre une précision angulaire 3D robuste et une très grande résolution submillimétrique, tandis que l'IRM possède un fort potentiel pour la cartographie de l'information 3D, mais requiert une validation qui lui sera apporté par l'imagerie de la biréfringence. De plus, la résolution de nos images en IRM (taille d'un voxel  $1,4 \times 1,4 \times 1,4$  mm) est moins fine que celle obtenue en ILP (taille d'un voxel  $0,1 \times 0,1 \times 0,5$  mm).

Pour comparer l'ILP et l'IRM, un cœur humain sain d'un enfant de 14 mois a été prélevé lors de l'autopsie, fixé dans du formol, puis imagé en entier par IRM. Les contraintes liées à l'IRM permettent d'obtenir seulement 30 coupes, tandis qu'en ILP, l'analyse du même prélèvement est faite sur 42 coupes.

Les acquisitions des images IRM du cœur en entier sont réalisées sur une machine IRM Verio de 3 Tesla (Siemens, Erlangen) selon une séquence de diffusion echo-planar bipolaire avec une antenne de crâne de 32 canaux. Les paramètres d'acquisition sont les suivants : résolution dans le plan = 1.4 mm, l'épaisseur d'une coupe = 1.4mm, nombre de directions de gradient de diffusion = 64.

Pour la réalisation de l'image en IRM, l'échantillon biologique est placé dans un tunnel où règne un champ magnétique de 3T. Sous l'action de ce champ, tous les moments magnétiques des atomes d'hydrogène vont s'aligner comme de petits aimants. Pour la production des images IRM, il est nécessaire d'introduire un élément focalisant : une émission d'ondes radios qui produit un état d'aimantation macroscopiquement observable. A une certaine fréquence  $f$  les noyaux hydrogène sont placés dans un état dit de « résonance ». Le retour à l'état normal produit une variation du champ magnétique.

Selon la loi de Faraday, toute variation d'un flux magnétique à l'intérieur d'un circuit fermé, ou à l'intérieur d'une bobine donne naissance à un courant induit qui dure le temps de la variation du flux. L'imagerie en IRM exploite cette propriété du champ magnétique, car la variation du champ magnétique à l'instant  $t$  donne naissance à un signal électrique. Ce signal est capté et analysé par une antenne qui est relié à des spectromètres et des ordinateurs; les algorithmes destinés à l'exploitation des informations permettent une construction tridimensionnelle de l'échantillon biologique sous forme d'une pile d'images.

Après l'acquisition des coupes (IRM), le cœur a été préparé et analysé en IPL selon le protocole décrit dans le chapitre 2 (voir chapitre 2 : Matériels et Méthodes).

Pour leur exploitation, les cartographies obtenues par IRM ont été converties d'un format Matlab vers un format TIFF. Ces dernières ont été analysées sous ImageJ. Une table de fausses couleurs a été utilisée pour représenter l'orientation d'un faisceau de cardiomyocytes dans la masse ventriculaire

Deux cartographies (azimut, élévation) ont été ainsi réalisées en IRM, puis confrontées avec celle obtenue en ILP.

Pour rappel, la combinaison de ces deux cartographies d'angles permet de définir l'orientation 3D de chaque faisceau de cardiomyocytes dans chaque voxel donné.

La figure 8-1 et 8-2 représentent les cartographies en IRM des angles d'azimut des cardiomyocytes dans la masse ventriculaire. Il est possible d'observer toutes les orientations de ces faisceaux. Nous avons observé que la plupart des faisceaux de cardiomyocytes dans le septum et dans le myocarde ont une orientation moyenne de 45 degrés (vert) et 90 degrés (cyan).

La figure 8-3 et 8-4 montre les cartographies en IRM des angles d'élévation des faisceaux de cardiomyocytes dans toute la masse ventriculaire. Il est possible d'observer des faisceaux à 0 degré (cyan), à -75 degrés (bleu-magenta), -45 degrés (bleu), 90 degrés (rouge) et -90 degrés (magenta).

A cause de la faible résolution des cartographies de l'IRM, les trois premières coupes basales (1, 2, 3) et les trois dernières coupes apicales (28, 29, 30) de la figure 8-2 ne comportent aucune information significative. Seulement la partie équatoriale est exploitable.

Chaque « coupe » en IRM est réalisée suivant un niveau (référence) dans le cœur en partant de base jusqu'à sa pointe et cette référence permet de sélectionner un même niveau de coupe pour faire la confrontation entre les deux méthodes d'imageries. Pour mieux comparer les deux cartographies, nous avons choisi la 13<sup>ème</sup> coupe dans 8-1 et 8-3. Puis, pour une meilleure observation, nous avons fait un grandissement de cette coupe, figure 8-5, 8-7.

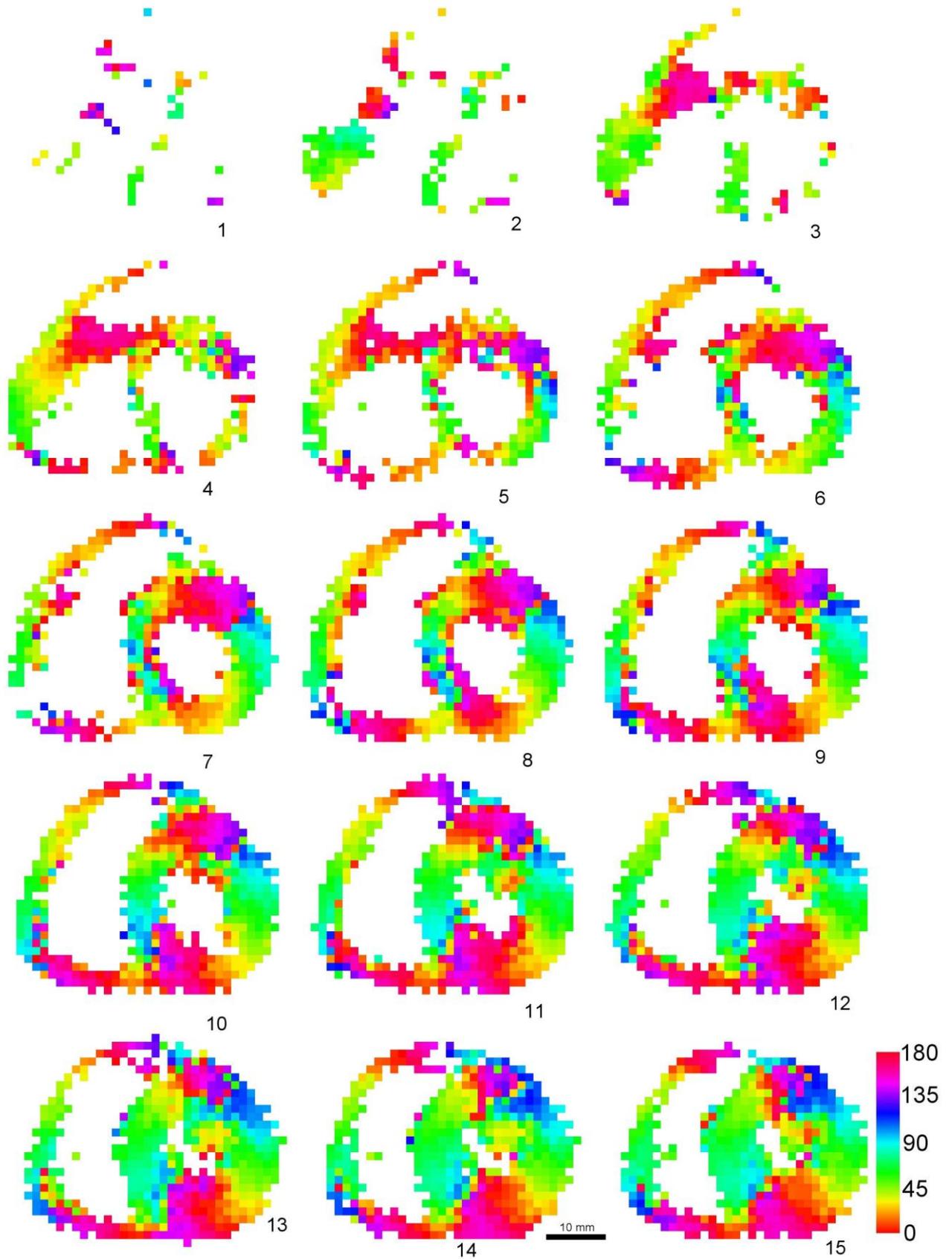


Figure 8-1 : Cartographie des angles d'azimut en IRM. Chaque couleur représente l'orientation moyenne des angles d'azimut d'un cardiomyocyte ou d'un faisceau de cardiomyocytes.

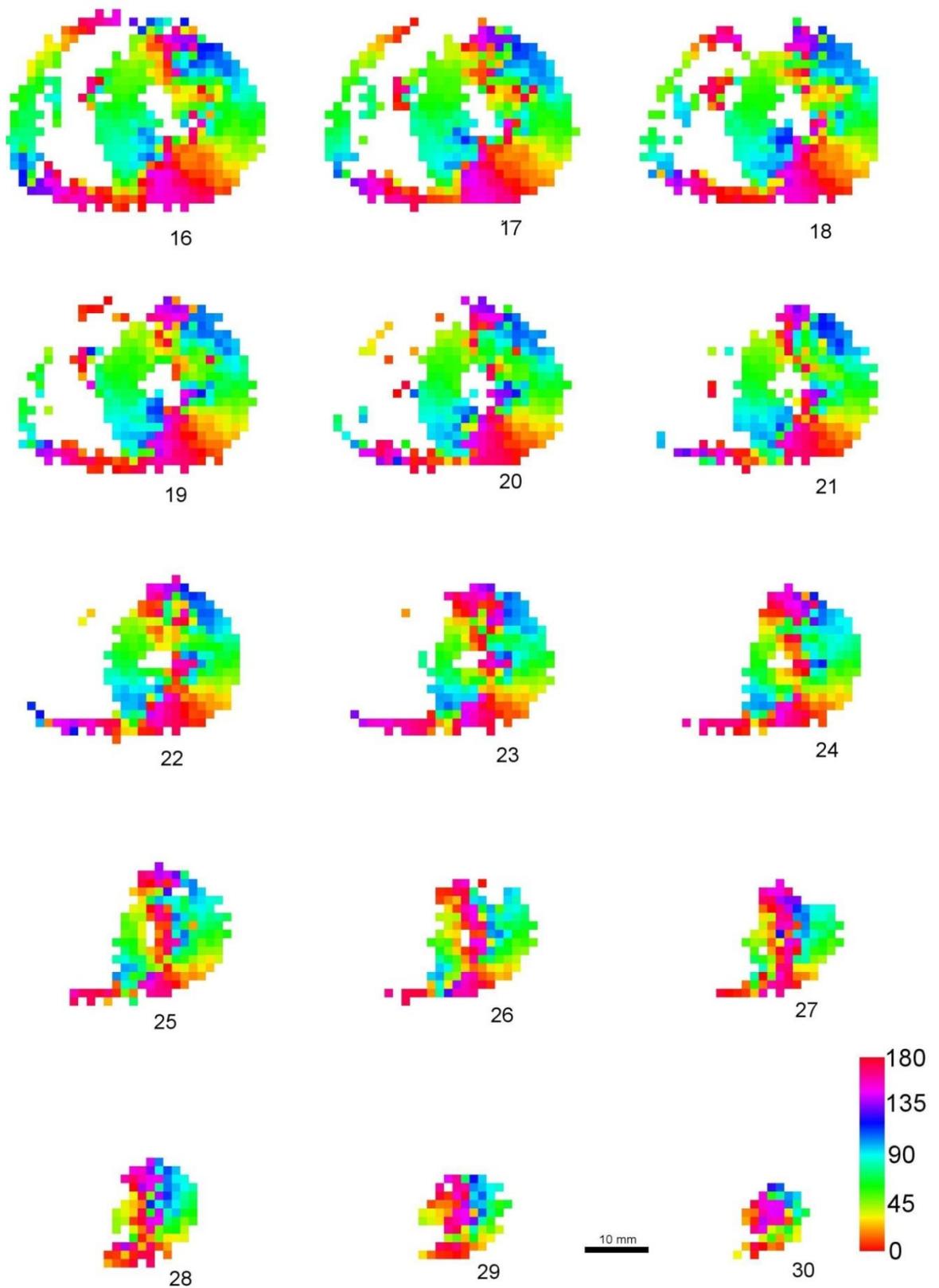


Figure 8-2 : Cartographie des angles d’azimut en IRM (même explication que dans la figure précédente).

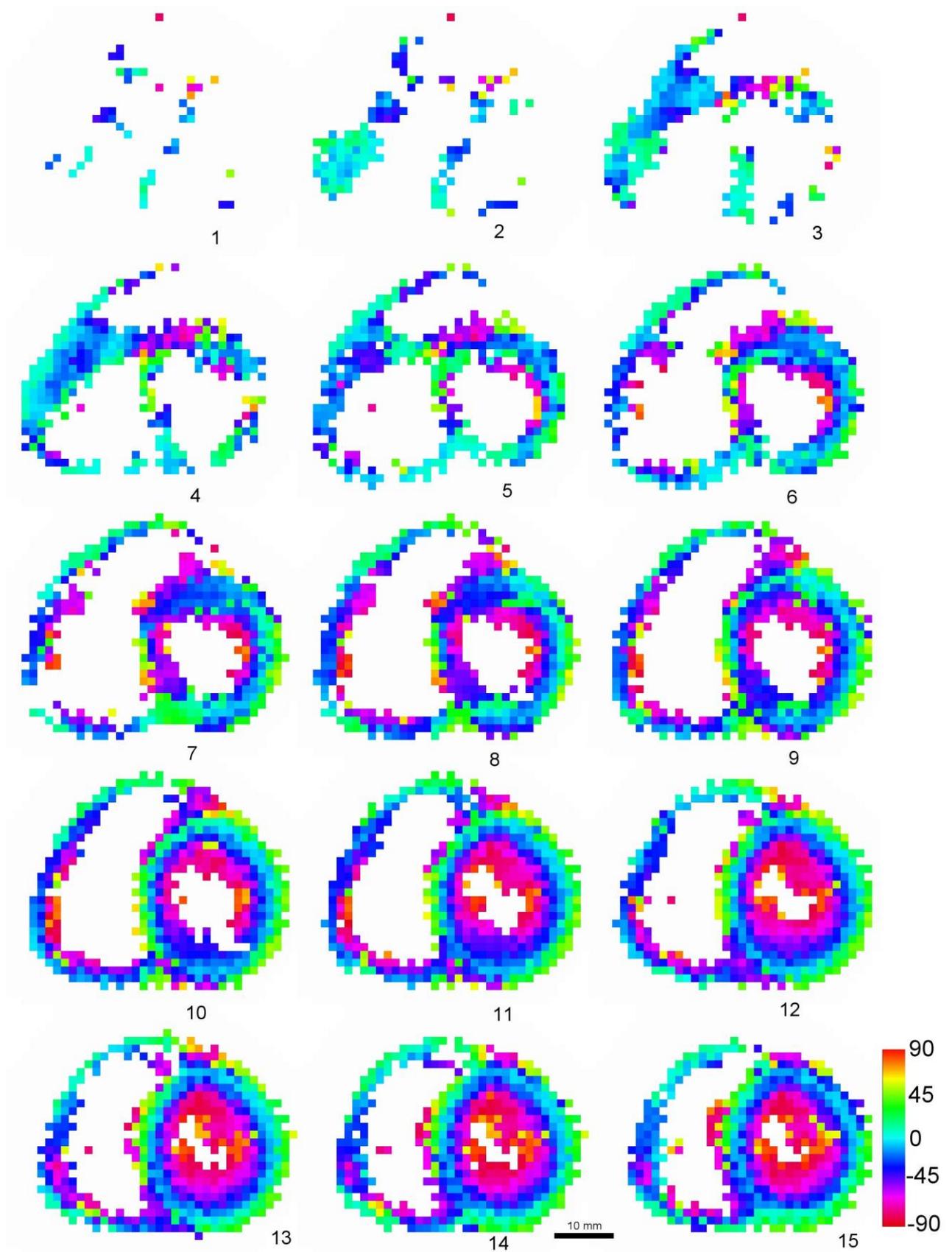


Figure 8-3 : Cartographie des angles d'élévation en IRM. Chaque couleur représente l'orientation moyenne des angles d'élévation d'un faisceau de cardiomyocytes.

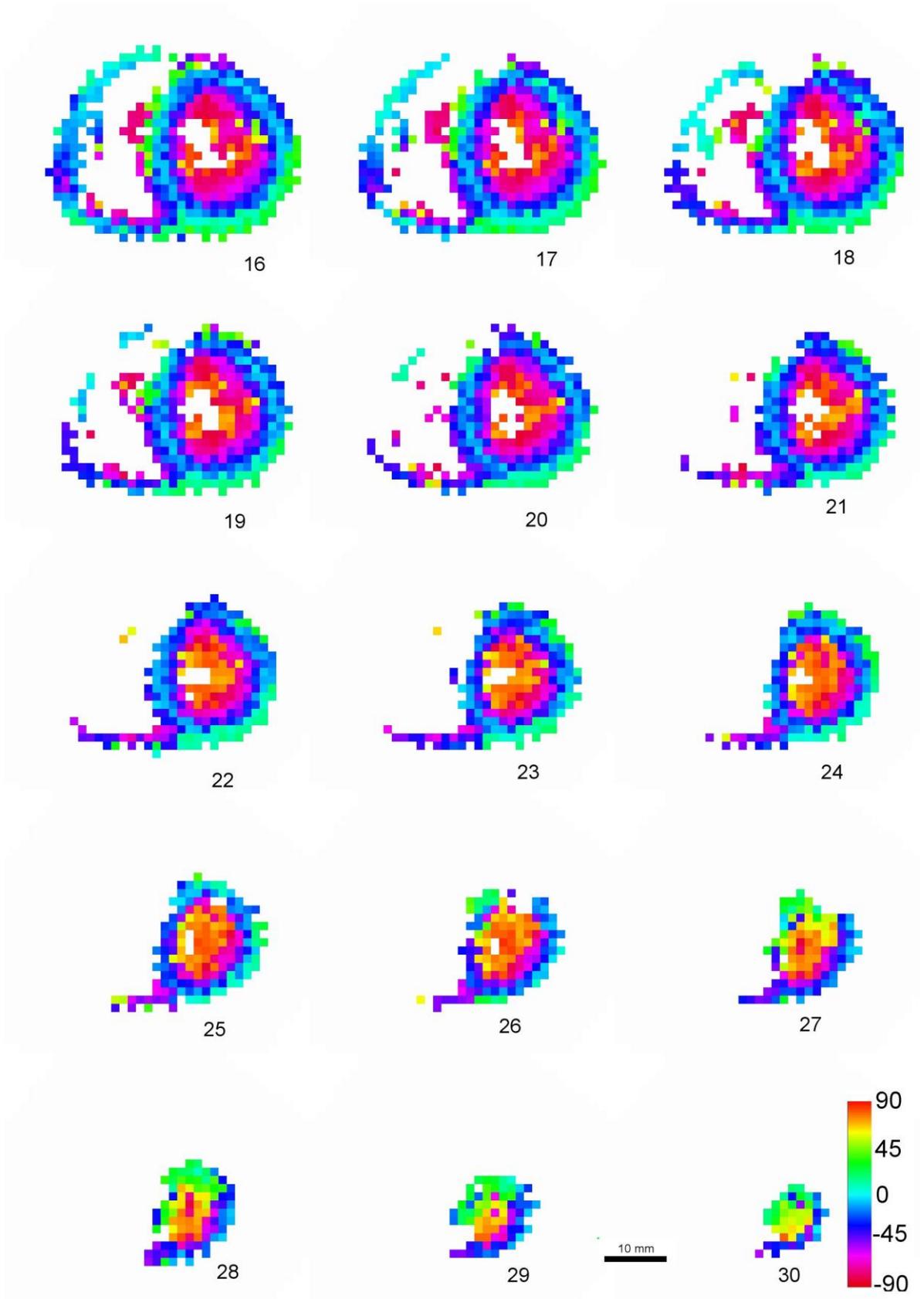


Figure 8-4 : Cartographie des angles d'élévation en IRM (même explication que dans la figure précédente).

La figure 8-5 montre la cartographie des angles d'azimut de cette coupe myocardique (équatoriale) en IRM, tandis que la figure 8-6 représente la même cartographie, mais en ILP.

Dans les figure 8-5 et 8.6 les deux cartographies paraissent identiques. Cependant, la faible résolution de la cartographie de l'IRM ne permet pas d'avoir beaucoup autant d'information qu'avec ILP. Malgré cette faible résolution, l'orientation moyenne des faisceaux n'est pas fondamentalement différente de celle de l'ILP.

Dans la figure 8-5, dans la face diaphragmatique, il existe des faisceaux de cardiomyocytes orientés à un azimut moyen de zéro degré (rouges), 35 degrés (jaunes orange), et 180 degrés (magenta). A l'opposé de la face diaphragmatique, les faisceaux sont orientés à un angle azimut moyen de 0 degré (rouge), 120 degrés (bleu), 180 degrés (magenta). Les membranes endocardique et péricardique du myocarde ne sont pas visibles à cause de la faible résolution de l'image. Dans le mur du septum inter-ventriculaire, les faisceaux de cardiomyocytes sont orientés à un angle d'azimut moyen de 45 degrés (vert), 90 degrés (cyan), et 35 degrés (jaune orange). L'épaisseur de la paroi du ventricule gauche par rapport à celle du ventricule droit permet d'observer un grand nombre de faisceaux de cardiomyocytes qui sont orientés à des azimuts différents. Dans tout le myocarde humain, nous avons observé quatre faisceaux dominants, les faisceaux à 0 degrés (rouge), les faisceaux avec un azimut de 45 degrés (vert), 90 degrés (cyan), 180 degrés (magenta).

Dans la Figure 8-6, la résolution de l'image est meilleure, et il y a plus d'information visible. Il est possible d'observer et de distinguer les couches endocardiques et péricardiques. Les faisceaux à 0 degré (rouge), 180 degrés (magenta) sont bien visibles dans la face diaphragmatique. Dans le ventricule gauche, les faisceaux sont orientés à un azimut moyen de 0 degré (rouge), 35 degrés (jaune), 45 degrés (vert), 90 degrés (cyan), 125 degrés (bleu), 180 degrés (magenta). Cependant, avec un sous-échantillonnage de la cartographie des d'azimut en ILP, il est aussi possible de trouver les mêmes résultats avec figure 8-5.

Les distributions des angles d'azimut des faisceaux de cardiomyocytes dans ces deux cartographies se révèlent identiques (ILP, IRM).

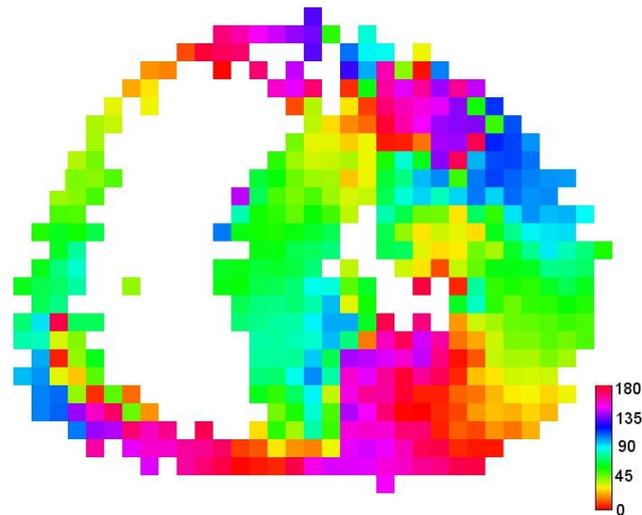


Figure 8-5 : Cartographie des angles d'azimut d'une coupe myocardique en IRM. Chaque couleur représente l'orientation d'une cardiomyocyte ou un faisceau de cardiomyocytes. Cette cartographie possède une faible résolution mais il est toujours possible d'observer l'orientation moyenne des cardiomyocytes à 0 degré (rouges), 45 degrés (vert), 90 degrés (cyan), 35 degrés (orange), 120 degrés (bleu), et 180 degrés (magenta). La faible résolution ne permet pas d'avoir beaucoup plus de détails sur l'orientation des cardiomyocytes.

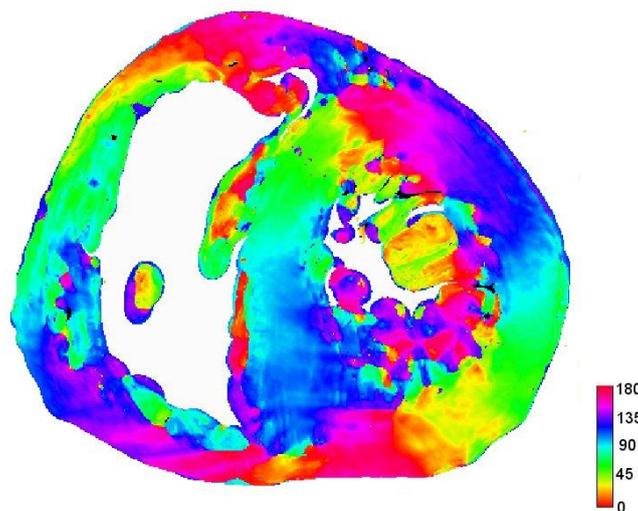


Figure 8-6 : Cartographie des angles d'azimut en ILP. Chaque couleur sert à indiquer l'orientation d'une cardiomyocyte ou un faisceau de cardiomyocytes. Il est possible d'observer l'orientation moyenne des cardiomyocytes avec un azimut de 0 degré (rouge), 35 degrés (orange), 45 degrés (vert), 90 degré (cyan), 120 degrés (bleu), et 180 degrés (magenta). Le ventricule gauche a une constitution plus robuste que le ventricule droit. La grande résolution de l'image permet d'observer des transitions plus continues.

En raison de la grande différence de résolution entre les deux méthodes (IRM, ILP), la comparaison reste difficile.

Pour effectuer une confrontation équitable des cartographies des angles d'élévation (IRM, ILP) nous avons sous-échantillonné la cartographie d'ILP. La figure 8-7 représente la cartographie des angles d'élévation en IRM de cette coupe (13<sup>ème</sup> coupe) ; tandis que la figure 8-8a représente toujours la

même cartographie mais en ILP. La figure 8-8b représente le sous-échantillonnage de la cartographie des angles d'élévation en ILP.

Les cartographies de la figure 8-7 et 8.8a ne sont pas dans le même référentiel. Dans la cartographie 8.7 (d'IRM), l'angle d'élévation n'est pas défini de 0 à 90 degrés, mais de -90 à 90 degrés (demi-sphère), tandis que l'angle d'élévation de la cartographie en ILP de la figure 8-8 est défini de 0 à 90 degrés.

Dans la figure 8-7 (IRM) on observe 7 angles d'élévations moyens dans tout le myocarde. La membrane péricardique possède un angle d'élévation moyen de 45 degrés. Les faisceaux avec un angle d'élévation moyen de 0 degré (cyan), 45 degrés (vert), 15 degrés (vert-cyan), -70 degrés (magenta sombre), -90 degrés (magenta) sont circulaires dans le myocarde. Dans la région médiane du myocarde, il existe des faisceaux avec un angle d'élévation de -30 degré (bleu). Quand deux populations de cardiomyocytes sont situées de part et d'autre avec des angles élévation égaux en valeur absolue mais de signe opposé, alors la moyenne résultante est égale à zéro (zéro virtuel), (cyan). Même si à résolution plus élevée (IPL), on observe très peu de faisceau de cardiomyocytes effectivement à zéro degré d'élévation.

Dans la figure 8-8a les faisceaux de cardiomyocytes avec un angle d'élévation moyen de 45 degrés ou 70 degrés sont circulaires dans la masse myocardique, c'est-à-dire, elles restent dans le plan de la coupe et suivent la révolution du myocarde. Dans la région médiane du myocarde, nous avons observé des faisceaux avec un angle d'élévation moyen proche de 90 degrés (magenta).

Dans les ventricules, nous avons observé des changements brusques de direction de quelques faisceaux de cardiomyocytes à un angle d'élévation de 20 degrés, puis le passage à 0 degré (rouge).

Pour une confrontation qualitative entre les deux mesures des angles d'élévation en IRM et ILP, nous avons utilisé la platine porte-objet (chapitre 4, figure 4-1c). En effet, cette platine porte-objet va nous permettre d'étendre la mesure de l'angle d'élévation en ILP de -90 à 90 degrés, et une définition des mesures sur une demi-sphère.

L'extension de l'angle d'élévation (ILP) sur 180 degrés a été prévue durant la thèse. Les résultats ont été obtenus tardivement. Par faute de temps, le travail d'extension n'a pas été accompli complètement, car il faudra aussi prendre en compte les problèmes mécaniques de la bascule ainsi que les moteurs de rotations. De ce fait, une seule coupe myocardique est analysée en ILP avec la technique de la bascule. Par la suite, il faudra analyser les 42 autres coupes en ILP avec cette même technique.

La platine porte-objet est un système gyroscopique à deux axes permettant à la plaque de verre sur laquelle est posée l'échantillon biologique de basculer suivant  $O_x$  ou  $O_y$ . La configuration mécanique

de la bascule ne permet pas d'obtenir directement des rotations autour d'un axe arbitraire et d'un angle quelconque. De plus, il n'était pas possible de distinguer des faisceaux avec des angles d'élévations négatifs, et cela se traduit par une ambiguïté avec les angles positifs et négatifs. Pour résoudre ce problème, nous avons cherché à déterminer une combinaison de système à deux axes qui permette de lever l'ambiguïté des angles.

Plus précisément, nous avons utilisé l'algèbre des quaternions pour résoudre le problème d'ambiguïté des angles, et un algorithme correspondant a été implémenté dans le système d'acquisition (voir annexe). En tout, le temps d'acquisition des images avec la bascule devrait être d'environ 15 minutes.

Ensuite, une mire  $10 \times 10$  cm de côté, dite mire de bascule, calculée géométriquement et imprimée sur du mylar est placée sur la platine porte-objet. Cette mire sert de référence pour faire le recalage des images obtenues dans le banc optique avec la bascule. Il fallait aussi tenir compte des effets d'anamorphiques qui se produisent lors d'une bascule. Dans le banc optique, un angle de bascule supérieur à  $\pm 10$  degrés entraîne un mauvais rapport signal sur bruit et se caractérise par une distorsion exagérée de l'image (anamorphose). Nous nous sommes limités à un angle de bascule de  $\pm 10$  degrés en  $Ox$  et en  $Oy$  pour minimiser cette distorsion. Dans le traitement de ces données sous ImageJ nous avons corrigé les effets anamorphiques.

Pour la confrontation des mesures de l'angle d'élévation d'ILP, et IRM, nous avons réalisé un test avec l'acquisition d'une image avec la bascule. Puis, nous avons capturé 30 images :

- a) Huit images entre polariseur et analyseur croisés
- b) Quatre images avec la lame pleine onde
- c) Seize images avec bascule
- d) Une image entre polariseur et analyseur parallèle
- e) Une image binaire.

L'accumulation des erreurs d'angles des moteurs entraîne également un déplacement optique dans les images. Nous avons élaboré un greffon de logiciel pour ImageJ pour corriger ce déplacement optique. Puis, nous avons recalé les images obtenues.

Puis, nous avons utilisé le greffon logiciel que nous avons développé sous ImageJ pour extraire pixel par pixel la cartographie des angles d'élévation.

Après sous-échantillonnage, les deux cartographies sont maintenant définies dans le même référentiel, la comparaison est plus directe.

Qualitativement les cartographies des angles d'élévation de ces deux méthodes sont quasiment identiques. Cependant, il faudra développer l'outil mathématique nécessaire qui permettra d'évaluer quantitativement les écarts de cartographie entre les deux méthodes d'imagerie.

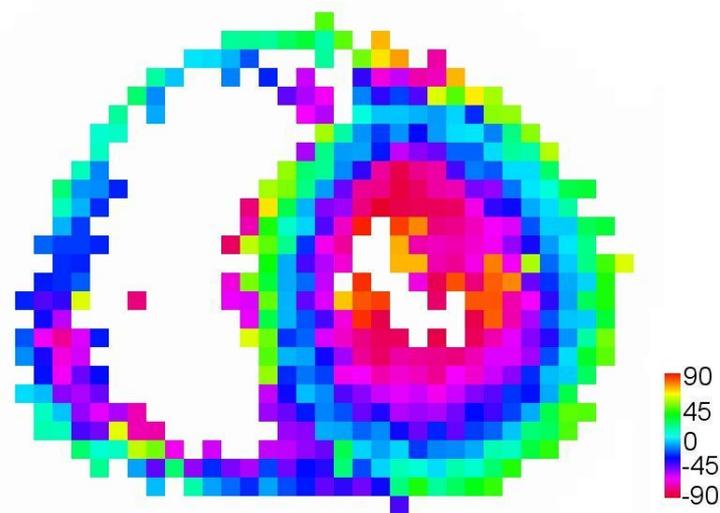


Figure 8-7 : Cartographie des angles d'élévation de la 13<sup>ème</sup> coupe du cœur en IRM. La coupe est choisie pour faire la comparaison avec les acquisitions brutes faite en ILP. Chaque couleur représente l'orientation en élévation d'un faisceau de cardiomyocytes. La faible résolution de cette cartographie ne permet pas d'observer beaucoup plus de détail sur l'orientation des cardiomyocytes. L'angle d'élévation de cette coupe est défini de -90 à 90 degrés.

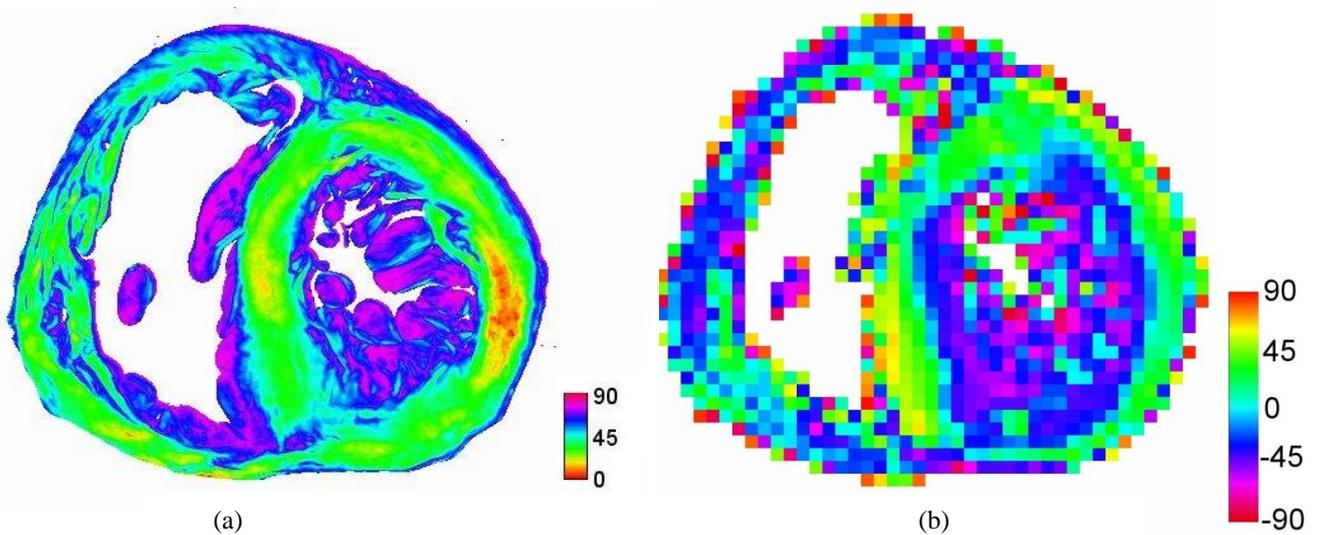


Figure 8-8 Cartographie des angles d'élévation (ILP) de la 13<sup>ème</sup> coupe du cœur entre polariseur et analyseur croisés. (a) L'angle d'élévation des cardiomyocytes est défini de 0° à 90°. La résolution de cette coupe permet de mieux observer le changement en direction des cardiomyocytes dans le ventricule gauche ainsi que dans le ventricule droit. Chaque couleur représente l'angle l'élévation moyen des cardiomyocytes. Les cardiomyocytes sont majoritairement circulaires, c'est-à-dire, elles restent dans le plan et suivent la révolution du myocarde. Il existe des cardiomyocytes avec un angle d'élévation moyen de 0° (cyan) et 34° (vert-orange). (b) Cartographie avec le système de bascule permettant d'étendre la plage de mesures de l'angle d'élévation de -90 à 90 degrés. Puis un sous-échantillonnage nous permet de rapprocher le mieux que possible de la figure 8-7.

## 8.4 Discussion

La confrontation des mesures IRM et ILP a permis d'observer l'orientation des cardiomyocytes dans la masse ventriculaire et d'en tirer les conclusions suivantes :

- a) la cartographie des angles d'azimut en IRM se révèle identique à celle d'ILP, car ces deux cartographies sont générées dans le même référentiel, c'est-à-dire de 0 à 180 degrés (demi-sphère). Cependant, la faible résolution de la cartographie d'IRM ne nous permet pas d'approfondir d'avantage.
- b) la cartographie des angles d'élévation en IRM n'est pas identique à celle obtenue en ILP, car elles n'ont pas été générées dans le même référentiel. La cartographie des angles d'élévation en IRM est définie dans une demie de sphère, c'est-à-dire de -90 à 90 degrés, tandis que la cartographie d'ILP est définie dans la même sphère mais de 0 à 90 degrés. Par contre, avec la technique de la bascule, nous avons pu étendre la mesure de l'angle d'élévation de -90 à 90 degrés (demi-sphère). Puis, nous avons fait un sous-échantillonnage des mesures obtenues en ILP afin de les comparer avec celles de l'IRM. En première analyse, on peut conclure que les deux méthodes aboutissent à des résultats quasiment identiques.

On aurait pu avoir beaucoup plus d'information à analyser si la résolution des mesures pour les cartographies des angles d'élévation en IRM était aussi fine que celle obtenue par ILP. L'orientation des cardiomyocytes serait beaucoup plus détaillée.

Nous avons observé que la faible résolution des cartographies issues de la technique d'imagerie IRM ne nous permet pas d'avoir des informations sur l'ensemble du myocarde humain. Les coupes dans la région basale (1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup>) de la figure 8-1, ainsi que les coupes de la région apicale (22<sup>ème</sup>, 23<sup>ème</sup>, ..., 30<sup>ème</sup>), ne comportent aucune information exploitable. Les mesures de l'orientation des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire avec la méthode d'IRM sont significatives à partir de la région équatoriale (7<sup>ème</sup> ..., 20<sup>ème</sup>) du cœur. Pour exploiter le cœur en entier, il est nécessaire que la résolution en IRM soit beaucoup plus élevée.

Une seule cartographie (angle d'élévation) en ILP a été utilisée avec la technique de la bascule pour une confrontation directe avec celle de l'IRM. Par la suite, il sera nécessaire d'analyser toutes les coupes en ILP puis les confrontées une à une avec celles de l'IRM. Cependant, il faudra trouver un compromis pour avoir le même nombre de coupe (même référence de coupe) issues des deux méthodes. Il faut tenir compte aussi de la résolution des cartographies en IRM pour une confrontation équitable, soit :

- a) une augmentation de la résolution des cartographies en IRM pour qu'elle soit égale à celle de d'ILP. Dans ce cas, les informations sur l'orientation 3D des cardiomyocytes en chaque point du myocarde seront beaucoup plus pertinentes et directe. Il sera nécessaire de développer des outils de traitement d'images qui permettrait d'évaluer (qualitative, quantitative) les deux cartographies (ILP, IRM).
- b) un sous-échantillonnage des cartographies en ILP à la même résolution que celles de l'IRM. Cependant, il faut tenir compte de la perte d'information sur l'orientation 3D des cardiomyocytes. Par contre, il serait aussi possible d'observer le passage à zéro des cardiomyocytes, ce qui n'est pas trop visible à haute résolution. Cette cartographie est idéale si on cherche les frontières des changements de direction des faisceaux de cardiomyocytes.

En résumé, la technique de la bascule est prometteuse car elle nous a permis de lever l'ambiguïté sur l'orientation 3D des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire, c'est-à-dire, il est possible de distinguer un faisceau de cardiomyocytes avec un angle d'élévation de +45 ou -45 degrés. Les mesures des angles d'élévations obtenues en ILP sont quasiment identiques à celles obtenues en IRM. La méthode d'ILP nous a permis de dire qu'il est possible de valider toutes les mesures faites en IRM par ILP.

## *Deuxième partie*

---

# Chapitre 9

## Conclusion

---

<b>Chapitre 9</b> .....	157
<b>9.1 Synthèse</b> .....	159
<b>9.2 Perspectives</b> .....	161
9.2.1 Extension de l'angle d'élévation du volume de -90 à 90 degrés .....	161
9.2.2 Méthode pour obtenir de la matrice de Muller d'un échantillon de cœur .....	161
9.2.3 Conclusion générale .....	167

## 9.1 Synthèse

L'objectif de la thèse était de donner un fondement mathématique (modélisation) au comportement du myocarde humain en lumière polarisée, pour inférer ce modèle dans la mesure expérimentale de l'orientation 3D des cardiomyocytes. Ceci afin de connaître en tout point l'architecture 3D du cœur humain par une approche multimodale. Pour réaliser ce travail, un cœur humain a été imagé en ILP (Imagerie en Lumière Polarisée), et un autre cœur a été imagé en IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) puis en IPL. Pour mener cette étude, il a fallu :

- a) Développer un outil mathématique robuste pour l'exploitation des acquisitions des images en IPL. Cet outil permet de connaître en tout point l'architecture 3D des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire.
- b) Confronter les mesures expérimentales obtenues IRM avec celle d'IPL.

Nous avons exposé brièvement l'anatomie du cœur, ainsi que les problématiques du myocarde humain, car les différentes techniques utilisées dans le 20<sup>ème</sup> siècle pour l'exploitation du myocarde, ont donné des résultats divergents. Pour apporter une solution à cette problématique, Jouk et al. ont construit un système de polarimétrie pour l'exploitation de la biréfringence du myocarde ; puis, un protocole de préparation a été aussi défini pour exploiter cette biréfringence. Dans ce travail de thèse, nous avons défini les méthodes optiques pour l'exploitation de la lumière polarisée transmise tels que : les vecteurs de Stokes, la sphère de Poincaré, et les formalismes matriciels de Mueller et de Jones. Ensuite, nous avons réalisé une qualification des instruments optiques du laboratoire pour s'assurer de la fiabilité des mesures. Cela nous a permis de réaliser des acquisitions et des mesures expérimentales avec les instruments ainsi qualifiés.

Nous avons exploité la représentation vectorielle de la polarisation de l'onde électromagnétique pour le développement d'un modèle analytique, en nous appuyant sur le fait que la plupart des matériaux optiques polarisants ou non polarisants peuvent être représentés par des vecteurs ou des matrices (Jones, Mueller). Nous avons ainsi pu simuler un volume myocardique de  $100 \times 100 \times 500 \mu\text{m}^3$  entre polariseur et analyseur croisés dans deux configurations différentes :

- a) volume homogène : la distribution des cardiomyocytes est totalement régulière et périodiques. Les faisceaux de cardiomyocytes sont orientés dans la même direction, et sont parallèle les uns aux autres.
- b) volume hétérogène: soit par ajout d'une variabilité des angles solides de dispersion, soit par croisement de deux populations de cardiomyocytes, ainsi que leur combinaison.

Avec la matrice de Mueller des éléments optiques montés en cascade, nous avons calculé de façon formelle, l'expression analytique de la lumière polarisée transmise en sortie d'analyseur. Puis, la

simulation numérique du volume nous a permis de découpler la mesure de l'angle d'azimut de celle de l'angle d'élévation. L'étude des différentes configurations du volume avec un angle solide de dispersion et des croisements de deux populations de cardiomyocytes dans le volume, nous a permis de maîtriser parfaitement le comportement de l'amplitude de la lumière polarisée transmise en sortie d'analyseur ainsi que les orientations (angle d'azimut, angle d'élévation) des cardiomyocytes à l'intérieur du volume. De plus, nous avons élaboré un modèle analytique qui permet en chaque voxel d'extraire les paramètres  $(A, B, \theta)$  du modèle. Puis, nous avons implémenté ce modèle analytique dans un greffon de logiciel pour ImageJ pour extraire, en chaque voxel, les paramètres du modèle dans les acquisitions des images faites en ILP.

Pour valider ce modèle analytique, nous avons choisi les piliers des valves auriculo-ventriculaires, car ils possèdent un plus grand niveau d'homogénéité que dans les autres régions du myocarde. Nous avons confronté les mesures expérimentales avec celles du modèle analytique. Le greffon logiciel nous a permis d'extraire la cartographie de l'intensité de la lumière polarisée transmise dans le pilier, des angles d'azimut, des angles d'élévation, et de l'hétérogénéité des orientations. La cartographie des angles d'azimut et celle des angles d'élévation permettent de mesurer l'orientation absolue des faisceaux de cardiomyocytes dans tout le pilier. Ensuite, nous avons utilisé ce même modèle analytique sur un cœur humain en entier afin d'extraire en chaque point, l'orientation des cardiomyocytes dans toute la masse ventriculaire.

Pour une confrontation qualitative de la méthode IRM et celle ILP, nous avons choisi de comparer les deux cartographies issues de ces deux modalités d'imagerie. Les cartographies d'ILP ont servi de référence pour valider les cartographies du myocarde humain issues de l'IRM. Ainsi, l'orientation des angles d'azimut des deux méthodes d'imageries (IRM, ILP) se révèle qualitativement identique. Cependant, les mesures des angles d'élévation en IRM sont définies de  $-90$  à  $90$  degrés (demi-sphère), tandis que celles en ILP (quart de sphère) est définie de  $0$  à  $90$  degrés. Elles ne sont pas définies dans le même référentiel. Pour résoudre ce problème, nous avons ajouté dans le banc de mesure un système de bascule à deux axes qui nous a permis d'étendre la plage de l'angle d'élévation de  $-90$  à  $90$  degrés en ILP. Qualitativement, les cartographies des angles d'élévation de ces deux méthodes se révèlent quasiment identiques.

Les mesures obtenues par Jouk et al. reposaient sur une formulation totalement empirique, c'est-à-dire qu'elles étaient basées sur l'expérience et l'observation des phénomènes dans le banc optique. Dans ce travail de thèse, nous avons apporté les outils mathématiques qui par une démarche analytique donnent un cadre théorique qui permet la validation définitive des mesures de Jouk et al., pour l'exploitation du myocarde humain.

## 9.2 Perspectives

### 9.2.1 Extension de l'angle d'élévation du volume de -90 à 90 degrés

Les mesures en ILP sont définies de 0 à 90 degrés pour l'angle d'élévation, et de 0 à 180 degrés (un quart de sphère) pour l'angle d'azimut. Pour étendre les mesures sur une demi-sphère, il est nécessaire que l'angle d'élévation soit défini de -90 à 90 degrés, et celui d'azimut de 0 à 180 degrés. Dans le banc optique expérimentale, la platine porte-objet est un système gyroscopique à deux axes  $(Ox, Oy)$ . Elle permet de faire des bascules pour pouvoir étendre l'angle d'élévation sur une demi-sphère. La configuration mécanique de la bascule ne permet pas d'obtenir directement des rotations autour d'un axe arbitraire et d'un angle quelconque (ambiguïté avec des angles positifs et négatifs). Pour résoudre ce problème, les coordonnées en  $(x, y, z)$  pour des basculements de  $\pm 10$  degrés ont été calculées avec l'algèbre des quaternions, puis incluses dans le programme d'acquisition du banc optique. Le résultat d'un simple test montre que cette technique est prometteuse, car elle permet une définition de l'angle d'élévation de -90 à 90 degrés, et une définition des mesures sur une demi-sphère. Ce résultat préliminaire a été présenté dans la confrontation qualitative avec les mesures IRM et ILP.

Ce résultat étant qualitatif, il est nécessaire d'améliorer d'abord la technique de contrôle de la bascule en tenant compte de toutes les contraintes déjà citées (chapitre 8). Il faut développer ensuite des outils mathématiques robustes qui permettent de faire une confrontation quantitative des deux méthodes (IRM, ILP).

La confrontation des mesures de l'angle d'élévation en IRM et IPL ne sont pas comparables quand l'angle d'élévation en ILP est défini sur un quart de sphère (sans bascule), et elles deviennent comparables avec l'introduction de la bascule qui permet une définition de l'angle d'élévation en ILP dans une demi-sphère.

Il est aussi nécessaire de développer des techniques trigonométriques robustes, pour étendre les mesures de l'angle d'azimut et de l'angle d'élévation sur toute une sphère. Dans ce cas, il faut aussi analyser l'effet de l'ellipticité du myocarde humain, soit par le vecteur de Stokes et la matrice de Mueller, soit par d'autres techniques polarimétries. Il faudra aussi de tenir compte des erreurs d'angles engendrés par les moteurs, car les résultats sont actuellement bruités directement par ces erreurs.

### 9.2.2 Méthode pour obtenir de la matrice de Muller d'un échantillon de cœur

La matrice de Mueller est une matrice  $4 \times 4$  qui permet de connaître en chaque pixel la structure physico-chimique d'un objet uni-axial biréfringent placé entre polariseur et analyseur croisés. Dans notre cas, cette matrice va nous permettre de connaître en détail la structure physico-chimique du myocarde humain en ILP. Il est aussi possible de la décomposer en trois sous matrices permettant de connaître en chaque pixel :

- a) le retard de phase qui est lié à la propriété de la biréfringence du tissu biologique, la mesure de l'intensité de lumière transmise à travers l'échantillon biologique, et la mesure de l'angle d'élévation.
- b) la nature du dépolariseur, c'est-à-dire comment le tissu biologique dépolarise la lumière.
- c) la nature de l'élément dichroïque qui permet de connaître le taux de polarisation de la lumière.  
(voir chapitre 3)

Pour obtenir physiquement la matrice de Mueller d'un objet uni-axial biréfringent, il faut connaître les vecteurs de Stokes à l'entrée et à la sortie du système optique. Donc, il est nécessaire d'avoir six états de polarisation à l'entrée et à la sortie. La combinaison des états de polarisation permettra l'obtention des vecteurs de Stokes et la matrice de Mueller. Cependant, toute matrice  $4 \times 4$  n'étant pas une matrice de Mueller, il faut vérifier si la matrice obtenue peut être considérée comme une matrice de Mueller (voir chapitre 3). Le montage proposé de la figure 9-1 permet de mesurer les termes de la matrice de Mueller physique d'un échantillon biologique.

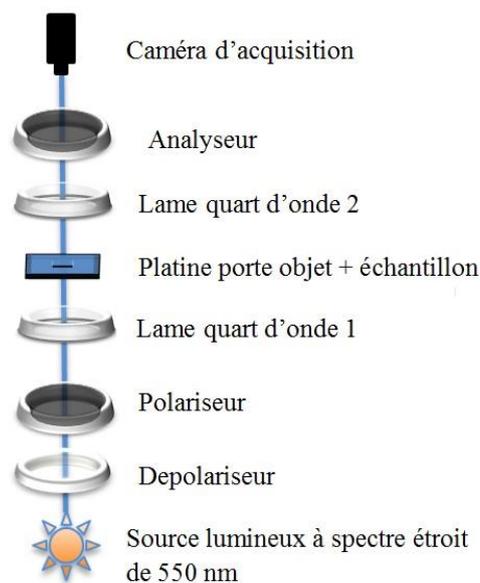


Figure 9-1 : Montage optique pour l'obtention de la matrice de Mueller d'un échantillon biologique.

La figure 9-1 est proposée pour réaliser une étude plus approfondie du myocarde humain sous la forme d'une matrice Mueller. Ce montage optique est basique et il est aussi possible d'ajouter d'autres éléments optiques pour mesurer pixel par pixel les vecteurs de Stokes où l'intensité de la lumière polarisée transmise. De plus, l'utilisation d'une source lumineuse à spectre étroit de 550 nm (monochromatique) est nécessaire pour obtenir la matrice de Mueller.

Pour déterminer le premier élément du vecteur de Stokes  $S_0$ , il faut enlever les deux lames quart d'onde du montage optique (figure 9-1), puis fixer l'axe neutre de la lame pleine onde à 0 degré par

rapport à l'axe de sélection du polariseur. Puis, l'axe de sélection du polariseur et celui de l'analyseur sont fixés à 0 degré pour la mesure de l'intensité de la lumière polarisée transmise ( $I_0$ ), ainsi qu'à 90 degrés ( $I_{90}$ ). Ainsi, toute la lumière reçue par le polariseur est transmise à l'analyseur.

Pour la mesure d'un paramètre de Stokes, il est nécessaire d'avoir deux images issues d'un même état de polarisation mais de sens opposé (polarisation horizontale  $I_0$ , verticale  $I_{90}$ , polarisation à -45 degrés  $I_{-45}$ , polarisation à +45 degrés  $I_{45}$ , circulaire gauche  $I_{45}$  (voir condition), circulaire droite  $I_{-45}$  (voir condition)). En revanche, en dehors des angles de mesure cités précédemment, toutes images issues d'un même état de polarisation et de sens opposé ne constituent pas un paramètre de Stokes car les paramètres de Stokes sont obtenus selon une modalité bien précise.

Pour chaque angle de rotation du couple polariseur et analyseur, une image est capturée. Les deux premiers paramètres de Stokes sont :

$$S_0 = I_{90} + I_0 \quad (9.1)$$

$$S_1 = I_{90} - I_0 \quad (9.2)$$

avec

$$I_0 = 1/2 \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = 1/2 (S_0 + S_1) \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (9.3)$$

$$I_{90} = 1/2 \begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = 1/2 (S_0 - S_1) \begin{bmatrix} 1 \\ -1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (9.4)$$

$I_0$  et  $I_{90}$  représentent respectivement l'acquisition de la première et de la deuxième image, en sortie du banc optique. Autrement dit, l'image du premier paramètre de Stokes  $S_0$  est obtenu par une addition pixel à pixel des deux images issues des deux états de polarisations ( $I_0$ ,  $I_{90}$ ), tandis que la différence de ces images permet de mesurer le second paramètre de Stokes  $S_1$ .

Ensuite, l'axe de sélection du polariseur et celui de l'analyseur sont fixés à 45 degrés ( $I_{45}$ ), puis à -45 degrés ( $I_{-45}$ ). L'image du troisième paramètre de Stokes se calcule par :

$$S_2 = I_{45} + I_{-45} \quad (9.5)$$

avec

$$I_{45} = 1/2 \begin{bmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = 1/2 (S_0 + S_1) \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (9.6)$$

$$I_{-45} = 1/2 \begin{bmatrix} 1 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = 1/2 (S_0 + S_1) \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ -1 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (9.7)$$

Pour la mesure du dernier élément du paramètre de Stokes  $S_3$ , il faut créer une polarisation circulaire droite, puis gauche. Une lame quart d'onde avec son axe rapide orienté à 45 degrés par rapport à un polariseur linéaire dont son axe de sélection est orienté à 0 degrés par rapport à l'axe  $Ox$  permet d'avoir une polarisation circulaire gauche.

Une lame quart d'onde pure est capable de transformer une polarisation linéaire en une polarisation circulaire. Il est aussi possible de combiner les deux lames quart d'onde de la figure 9-1 pour obtenir une polarisation circulaire droite et gauche. Connaissant la polarisation circulaire droite et gauche, le dernier paramètre  $S_3$  peut être calculé par :

$$S_3 = I_{45} - I_{-45} \quad (9.8)$$

avec

$$I_{45} = LQD(45) \times P(0^\circ) = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & -1 & 0 & 0 \end{bmatrix} \times 1/2 \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} = 1/2 \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & -1 & 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (9.9)$$

En multipliant 9.9 par les vecteurs de Stokes, on a :

$$PolCG = 1/2 \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & -1 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = 1/2 \begin{bmatrix} S_0 + S_1 \\ 0 \\ 0 \\ -S_0 - S_1 \end{bmatrix} = 1/2 (S_0 + S_1) \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ -1 \end{bmatrix} \quad (9.10)$$

$1/2 (S_0 + S_1)$  représente le flux du rayon incident dans le système optique (voir chapitre 3)

On observe que la polarisation obtenue est une polarisation circulaire gauche. Dans ce cas, il est nécessaire que le faisceau lumineux pénètre le polariseur circulaire (polariseur  $+\lambda/4$ ) par la face du polariseur linéaire. Pour la polarisation circulaire droite on a,

$$L_{-45} = LQD(-45) \times P(0^\circ) = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \end{bmatrix} \times \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (9.11)$$

En multipliant 9.11 par les vecteurs de Stokes, on a :

$$PolCD = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} S_0 + S_1 \\ 0 \\ 0 \\ S_0 + S_1 \end{bmatrix} = \frac{1}{2} (S_0 + S_1) \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix} \quad (9.12)$$

Cependant, les lames quart d'onde absorbent une grande quantité d'énergie. Pour une mesure précise du troisième paramètre de Stokes  $S_3$ , il est recommandé de connaître le coefficient d'absorption de la lame quart d'onde. Par contre, il est aussi possible de contourner ce problème en utilisant un seul polariseur circulaire (polariseur  $+\lambda/4$ ).

Cependant, si on retourne le polariseur circulaire (polariseur  $+\lambda/4$ ), la lumière va pénétrer le polariseur circulaire par la face de la lame quart d'onde ou  $\lambda/4$  et sort par la face du polariseur idéal. Ainsi, la polarisation en sortie, sera une polarisation rectiligne et horizontale (non standard) à l'axe  $Ox$  (polarisation linéaire).

$$P = P(0) \times LQD(-45^\circ) = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \end{bmatrix} = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & -1 \\ 1 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (9.13)$$

Avec le vecteur de Stokes, on a

$$P = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & -1 \\ 1 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = -\frac{1}{2} (S_0 + S_1) \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (9.14)$$

$-\frac{1}{2} (S_0 + S_1)$  il est possible qu'un tel état polarisation ne soit pas transmis dans le banc optique.

Ainsi, une lame quart d'onde avec son axe rapide orienté à 45 degrés par rapport à l'axe  $Ox$  suivie d'un polariseur avec son axe de sélection orienté à 0 degré par rapport  $Ox$ , puis une seconde lame quart d'onde orienté à 135 degrés par rapport à l'axe de sélection du polariseur permet d'avoir une polarisation circulaire droite ou gauche. Dans le cas des lames quart d'onde à retard de phase variable, il sera beaucoup plus facile de contrôler l'état de polarisation gauche ou droite. Il est possible d'écrire :

$$PolCD_{CG} = LQD(-135^\circ) \times P(0^\circ) \times LQD(-45^\circ) \quad (9.15)$$

$$PolCD\_CG = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \end{bmatrix} \times 1/2 \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \end{bmatrix} = 1/2 \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (9.16)$$

Introduisons les vecteurs de stokes, on a

$$PolCD\_CG = 1/2 \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ -1 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = 1/2 (S_0 - S_3) \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ -1 \end{bmatrix} \quad (9.17)$$

Comme il a été dit, en jouant sur les paramètres  $S_0, S_3$  on peut contrôler la polarisation circulaire en sortie du banc optique. Il est recommandé de vérifier l'état de polarisation en sortie des vecteurs de Stokes en sortie avant d'obtenir la matrice de Mueller. En reprenant l'équation 3.34, et 3.35 :

$$\vec{S}'_{sortie} = M \cdot \vec{S}_{entrée}$$

$$\begin{bmatrix} S'_0 \\ S'_1 \\ S'_2 \\ S'_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} m_{00} & m_{01} & m_{02} & m_{03} \\ m_{10} & m_{11} & m_{12} & m_{13} \\ m_{20} & m_{21} & m_{22} & m_{23} \\ m_{30} & m_{31} & m_{32} & m_{33} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix}$$

Le vecteur  $\vec{S}'_{sortie}$  est la mesure de l'état de polarisation en sortie de l'échantillon biologique dans chaque pixel. L'utilisation de l'équation 3.35 permet de mesurer la matrice de Mueller pixel par pixel car chaque terme de la matrice de Mueller  $M$  représente une image. Pour décomposer cette matrice en trois sous matrices il est nécessaire d'utiliser l'algorithme de Lu et al. (Lu & Chipman, 1996), (Chapitre 3). Il est aussi possible de mesurer le degré de polarisation de la lumière polarisée transmise à travers le myocarde humain en utilisant le vecteur de Stokes.

Selon (Jungrae, 2007) et (Xing L. , May 2009) la matrice de Mueller est une suite de combinaison des états de polarisation. Leur méthode pour calculer la matrice de Mueller est un peu longue, mais cette méthode permet d'avoir directement les éléments de la matrice de Mueller dans un banc optique.

La matrice de Mueller est entachée de bruit. En ce sens, il faut aussi développer des outils adéquats en traitement d'images.

Etats de polarisation : H : polarisation horizontale, V : polarisation verticale, P : polarisation +45, R : polarisation circulaire.

Les termes de la matrice de Mueller peuvent être ainsi obtenus par les états de polarisation selon (Jungrae, 2007) et (Xing L. , May 2009) :

$$\begin{aligned}
 m_{00} &= HH + HV + VH + VV; & m_{01} &= HH + HV - VH - VV; & m_{02} &= 2PH + 2PV - m_{00}; \\
 m_{03} &= 2RH + 2RV - m_{00}; & m_{11} &= HH - HV - VH + VV; & m_{12} &= 2PH - 2PV - m_{10} \\
 m_{13} &= 2RH - 2RV - m_{10}; & m_{20} &= 2HP + 2VP - m_{00}; & m_{21} &= 2HP - 2VP - m_{01} \\
 m_{22} &= 4PP - 2PH - 2PV - m_{20}; & m_{23} &= 4RP - 2RH - 2RV - m_{20}; \\
 m_{30} &= 2HR + 2VR - m_{00}; & m_{31} &= 2HR - 2VP - m_{01}; & m_{32} &= 4PR - 2PH - 2PV - m_{30}; \\
 m_{33} &= 4RR - 2RH - 2RV - m_{30}.
 \end{aligned}$$

Obtention pratique des états de polarisation en analyse d'images avec le banc optique décrit dans la figure 9-1. *Pol()* : Polariseur ; *LQD ()* : lame quart d'onde ; *Obj* : objet ; *An()* : Analyseur:

Image HH: <i>Pol</i> (0°). <i>Obj</i> . <i>An</i> (0°)	Image VV: <i>Pol</i> (90°). <i>Obj</i> . <i>An</i> (90°)
Image VH: <i>Pol</i> (0°). <i>Obj</i> . <i>An</i> (90°)	Image HV: <i>Pol</i> (90°). <i>Obj</i> . <i>An</i> (0°)
Image PH: <i>Pol</i> (45°). <i>Obj</i> . <i>An</i> (0°)	Image PV: <i>Pol</i> (45°). <i>Obj</i> . <i>An</i> (90°)
Image RH: <i>Pol</i> (45°). <i>LQD</i> (0°). <i>Obj</i> . <i>An</i> (0°)	Image RV: <i>Pol</i> (45°). <i>LQD</i> (0°). <i>Obj</i> . <i>An</i> (0°)
Image PP: <i>Pol</i> (45°). <i>Obj</i> . <i>An</i> (45°)	Image RR: <i>Pol</i> (45°). <i>LQD</i> (0°). <i>Obj</i> . <i>LQD</i> (0°). <i>An</i> (-45°)
Image HP: <i>Pol</i> (0°). <i>Obj</i> . <i>An</i> (45°)	Image HR: <i>Pol</i> (0°). <i>Obj</i> . <i>LQD</i> (0°). <i>An</i> (-45°)
Image VP: <i>Pol</i> (90°). <i>Obj</i> . <i>An</i> (45°)	Image VR: <i>Pol</i> (90°). <i>Obj</i> . <i>LQD</i> (0°). <i>An</i> (-45°)
Image RP: <i>Pol</i> (45°). <i>LQD</i> (0°). <i>Obj</i> . <i>An</i> (45°)	Image PR: <i>Pol</i> (45°). <i>Obj</i> . <i>LQD</i> (0°). <i>An</i> (-45°)

Les 16 éléments de la matrice de Mueller sont ainsi obtenus.

### 9.2.3 Conclusion générale

Durant cette thèse, nous avons développé des outils mathématiques robustes pour l'exploitation du myocarde humain via un système de polariseur et analyseur croisés. Des algorithmes de traitements d'images ont été implantés dans un greffon de logiciel pour ImageJ. Les techniques développées ont permis d'obtenir de manière physique l'orientation 3D des cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire. Les méthodes empiriques développées par Jouk et al. ont pu être démontrées analytiquement et confortées grâce à la modélisation numérique. De plus, en résultat préliminaire, un même cœur a pu être cartographié à la fois par IRM et par ILP. Il apparaît que si l'information donnée par l'IRM n'est pas aussi résolue, les résultats sont comparables qualitativement à ceux fournis par l'ILP.

## Annexe

## Programmes et formulations

a) Cette partie donne le calcul de l'expression analytique du terme  $m_{00}$  de la matrice de Mueller.

```
(%i1) birefmax=1e-4;ph=0;
(%o1) birefmax=1.0 10-4
(%o2) ph=0

(%i3) biref: 1.5*(1/sqrt(1-((2*1e-4*cos(0))^2)/1.5))-1;
(%o3) 1.00010001111126146 10-4

(%i4) lambda: 545e-9;
(%o4) 5.4499999999999997 10-7

(%i5) epais : 500e-6;
(%o5) 5.00000000000000001 10-4

(%i6) (2*pi/ lambda) * biref * epais;
(%o6) 0.18350458919498 π

(%i7) Po: matrix(
  [0.5,0.5*cos(2*alpha),0.5*sin(2*alpha),0],
  [0.5*cos(2*alpha),0.5*cos(2*alpha)^2,0.5*cos(2*alpha)*sin(2*alpha),0],
  [0.5*sin(2*alpha),0.5*cos(2*alpha)*sin(2*alpha),0.5*sin(2*alpha)^2,0],
  [0,0,0,0]
);
(%o7)

$$\begin{bmatrix} 0.5 & 0.5 \cos(2 \alpha) & 0.5 \sin(2 \alpha) & 0 \\ 0.5 \cos(2 \alpha) & 0.5 \cos(2 \alpha)^2 & 0.5 \cos(2 \alpha) \sin(2 \alpha) & 0 \\ 0.5 \sin(2 \alpha) & 0.5 \cos(2 \alpha) \sin(2 \alpha) & 0.5 \sin(2 \alpha)^2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$$


(%i8) An: matrix(
  [0.5,0.5*cos(2*beta),0.5*sin(2*beta),0],
  [0.5*cos(2*beta),0.5*cos(2*beta)^2,0.5*cos(2*beta)*sin(2*beta),0],
  [0.5*sin(2*beta),0.5*cos(2*beta)*sin(2*beta),0.5*sin(2*beta)^2,0],
  [0,0,0,0]
);
(%o8)

$$\begin{bmatrix} 0.5 & 0.5 \cos(2 \beta) & 0.5 \sin(2 \beta) & 0 \\ 0.5 \cos(2 \beta) & 0.5 \cos(2 \beta)^2 & 0.5 \cos(2 \beta) \sin(2 \beta) & 0 \\ 0.5 \sin(2 \beta) & 0.5 \cos(2 \beta) \sin(2 \beta) & 0.5 \sin(2 \beta)^2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$$

```

```

(%i9) d: cos(2*epsilon)*cos(2*theta)*sin(0.5*phi);
      e: cos(2*epsilon)*sin(2*theta)*sin(0.5*phi);
      f: sin(2*epsilon)*cos(2*theta)*sin(0.5*phi);
      g: cos(0.5*phi);
      ST: sin(2*theta);
      CT: cos(2*theta);
      C2: CT^2;
      S2: ST^2;
      SP: sin(0.5*phi);
      CP: cos(0.5*phi);

(%o9) cos(2 ε) sin(0.5 φ) cos(2 θ)
(%o10) cos(2 ε) sin(0.5 φ) sin(2 θ)
(%o11) sin(2 ε) sin(0.5 φ) cos(2 θ)
(%o12) cos(0.5 φ)
(%o13) sin(2 θ)
(%o14) cos(2 θ)
(%o15) cos(2 θ)^2
(%o16) sin(2 θ)^2
(%o17) sin(0.5 φ)
(%o18) cos(0.5 φ)

(%i10) Ms: matrix(
        [1,0,0,0],
        [0,d^2-e^2-f^2+g^2,2*(d*e+f*g),2*(d*f+e*g)],
        [0,2*(d*e-f*g),-d^2+e^2-f^2+g^2,-2*(d*g-e*f)],
        [0,2*(d*f-e*g),2*(d*g+e*f),-d^2-e^2+f^2+g^2]
        );

```

Pour ne pas alourdir la démonstration, les numérotations (%i11) à (%i15) ne seront pas présentées, car elles ne comportent aucune information nécessaire.

$$\begin{aligned} & (\%016) \quad 0.5 \cos(2\alpha) (0.5 \cos(\pi+2\alpha) (\cos(\varphi) \sin(2\theta)^2 + \cos(2\theta)^2) + 0.5 (1 - \cos(\varphi)) \\ & \sin(\pi+2\alpha) \cos(2\theta) \sin(2\theta)) + 0.5 \sin(2\alpha) (0.5 \sin(\pi+2\alpha) (\sin(2\theta)^2 + \cos(\varphi) \cos(2\theta)^2) \\ & + 0.5 (1 - \cos(\varphi)) \cos(\pi+2\alpha) \cos(2\theta) \sin(2\theta)) + 0.25 \end{aligned}$$

rat: replaced 0.25 by 1/4 = 0.25

rat: replaced 0.0625 by 1/16 = 0.0625

rat: replaced 0.0625 by 1/16 = 0.0625

rat: replaced 0.03125 by 1/32 = 0.03125

rat: replaced 0.0625 by 1/16 = 0.0625

rat: replaced -0.03125 by -1/32 = -0.03125

rat: replaced -0.03125 by -1/32 = -0.03125

rat: replaced 0.0625 by 1/16 = 0.0625

rat: replaced -0.03125 by -1/32 = -0.03125

rat: replaced -0.03125 by -1/32 = -0.03125

(%017) -

$$\frac{\cos(4\theta - \pi + \varphi - 4\alpha) + \cos(4\theta - \pi - \varphi - 4\alpha) - 2 \cos(4\theta - \pi - 4\alpha) - \cos(\pi + \varphi) - \cos(\pi - \varphi) - 2 \cos(\pi) - 4}{16}$$

$$(\%018) \quad - \frac{\cos(4\theta - \pi + \varphi - 4\alpha) + \cos(4\theta - \pi - \varphi - 4\alpha) - \cos(\pi + \varphi) - \cos(\pi - \varphi) - 2 \cos(\pi - \omega) - 2 \cos(\pi) - 4}{16}$$

$$(\%019) \quad - \frac{\cos(4\theta - \pi - \varphi - 4\alpha) - \cos(\pi + \varphi) + \cos(\pi - \varphi - \omega) - \cos(\pi - \varphi) - 2 \cos(\pi - \omega) - 2 \cos(\pi) - 4}{16}$$

$$(\%020) \quad - \frac{\cos(\pi + \varphi - \omega) - \cos(\pi + \varphi) + \cos(\pi - \varphi - \omega) - \cos(\pi - \varphi) - 2 \cos(\pi - \omega) - 2 \cos(\pi) - 4}{16}$$

$$(\%021) \quad - (-2 (\sin(\omega) \sin(\pi) + \cos(\omega) \cos(\pi)) + 2 \sin(\omega) \cos(\varphi) \sin(\pi) + 2 \cos(\omega) \cos(\varphi) \cos(\pi) - 2 \cos(\varphi) \cos(\pi) - 2 \cos(\pi) - 4) / 16$$

$$(\%022) \quad - \frac{-2 \cos(\omega) \cos(\varphi) + 2 \cos(\varphi) + 2 \cos(\omega) - 2}{16}$$

$$(\%023) \quad - \frac{-2 k1 \cos(\omega) + 2 \cos(\omega) + 2 k1 - 2}{16}$$

$$(\%024) \quad \frac{(k1 - 1) \cos(\omega) - k1 + 1}{8}$$

$$(\%025) \quad \frac{(k1 - 1) \cos(4\theta - \pi - 4\alpha) - k1 + 1}{8}$$

$$(\%026) \quad \frac{(\cos(\varphi) - 1) \cos(4\theta - \pi - 4\alpha) - \cos(\varphi) + 1}{8}$$

$$(\%026) \quad \frac{(1 - \cos(\varphi)) (1 - \cos(4\theta - 4\alpha))}{8}$$

$$\text{Posons } \frac{(1 - \cos\varphi)}{8} = \frac{k}{2}$$

Puis, faisons un changement de variable en posant  $k = B$ , on a

$$(\%o26) \frac{B(1-\cos(4\theta-4\alpha))}{2}$$

Développons la formule empirique de Jouk et al.

```
(%i27) ff: k*cos(2*(alpha+pi/4-theta))^2;
```

$$(\%o27) k \cos\left(2\left(-\theta + \frac{\pi}{4} + \alpha\right)\right)^2$$

```
(%i28) ff: trigsimp(ff);
```

$$(\%o28) k \cos\left(\frac{4\theta - \pi - 4\alpha}{2}\right)^2$$

```
(%i29) ff: trigrat(ff); ff: subst(acos(-1),pi,ff);
```

$$(\%o29) \frac{k \cos(4\theta - \pi - 4\alpha) + k}{2}$$

$$(\%o30) \frac{k - k \cos(4\theta - 4\alpha)}{2}$$

$$(\%o31) \frac{k(1-\cos(4\theta-4\alpha))}{2}$$

en posant  $k = B$ , on a

$$(\%o32) \frac{B(1-\cos(4\theta-4\alpha))}{2}$$

b) Cette partie permet d'extraire les paramètres  $(A, B, \theta)$  du modèle analytique.

```
(%i1) kill(all);
```

```
(%i2) f : a + b *(1 - (cos(2*alpha-2*phi))^2);
```

```
(%o2)  $b \left(1 - \cos(2\phi - 2\alpha)^2\right) + a$ 
```

```
(%i3) g : trigreduce(f);
```

```
(%o3)  $-\frac{b \cos(4\phi - 4\alpha)}{2} + \frac{b}{2} + a$ 
```

```
(%i4) g : trigexpand(g);
```

```
(%o4)  $-\frac{b (\sin(4\alpha) \sin(4\phi) + \cos(4\alpha) \cos(4\phi))}{2} + \frac{b}{2} + a$ 
```

```
(%i5) g : subst(X, cos(4*alpha),g)$
      g : subst(Y, sin(4*alpha),g)$
      g : ratsubst(sk, -b/2*sin(4*phi),g)$
      g : ratsubst(ck, -b/2*cos(4*phi),g)$
      g : expand(g)$
      g : ratsubst(c,b/2+a,g);
```

```
(%o10)  $sk Y + ck X + c$ 
```

```
(%i11) sol : lsfit(g, [X,Y], [c,sk,ck]);
```



$$(\%021) c = -\frac{sX^2 sY smY - sX sXY smY + sX sY^2 smX - sXY sY smX - sm sX^2 sY^2 + sm sXY^2}{n sX^2 sY^2 - sX^2 sY^2 - sX^2 sY^2 + 2 sX sXY sY - n sXY^2}$$

$$(\%022) sk = \frac{n sX^2 smY - sX^2 smY + sX sY smX - n sXY smX - sm sX^2 sY + sm sX sXY}{n sX^2 sY^2 - sX^2 sY^2 - sX^2 sY^2 + 2 sX sXY sY - n sXY^2}$$

$$(\%023) ck = \frac{sX sY smY - n sXY smY + n sY^2 smX - sY^2 smX - sm sX sY^2 + sm sXY sY}{n sX^2 sY^2 - sX^2 sY^2 - sX^2 sY^2 + 2 sX sXY sY - n sXY^2}$$

$$(\%i24) \text{ phi\_est : atan(sk/ck)/4;}$$

$$(\%024) \frac{\text{atan}\left(\frac{sk}{ck}\right)}{4}$$

$$(\%i25) \text{ b\_est : -2*ck/cos(4*phi\_est);}$$

$$(\%025) -2 ck \sqrt{\frac{sk^2}{ck^2} + 1}$$

$$(\%i26) \text{ a\_est : c - b\_est/2;}$$

$$(\%026) ck \sqrt{\frac{sk^2}{ck^2} + 1} + c$$

### Expression analytique du calcul de l'angle d'élévation dans le volume

Quand un objet uni-axial biréfringent est traversé par un faisceau lumineux déjà polarisé, le retard de phase se définit par :

$$\varphi = 2\pi e \Delta_n / \lambda, \lambda \neq 0 \quad (1.1)$$

La biréfringence maximale  $\Delta_n$  de l'objet peut alors s'écrire :

$$\Delta_n = n_e - n_o = 1.5 \left( \frac{1}{\sqrt{\left(1 - \frac{2\Delta_{max} \cos \Phi^2}{3}\right)}} - 1 \right) = 1,5 \left( \frac{1}{\sqrt{1 - 4/3 \Delta_{max} \cos \Phi^2}} - 1 \right) = \frac{3}{2} \left( \frac{1}{\sqrt{\Delta \Phi}} - 1 \right) \quad (1.2)$$

### Calcul approché de l'intensité de la lumière polarisée transmise $I(\Phi)$

Il a été dit dans la thèse que l'intensité de la lumière polarisée transmise est définie par le rapport :

$$\tilde{I}(\Phi) = \frac{I(\Phi)}{I(0)} = \frac{I}{I_{max}} \quad (1.3)$$

avec

$$\begin{aligned} I(\Phi) &= \frac{1}{4} (1 - \cos \varphi_\Phi) \\ I(0) &= \frac{1}{4} (1 - \cos \varphi_0) \end{aligned} \quad (1.4)$$

et

$$\varphi_\Phi = 2\pi e \Delta_n / \lambda, \quad = \frac{2\pi e}{\lambda} (n_o - n_e) \Phi \quad (1.5)$$

Ce qui permet d'écrire

$$(n_o - n_e)_\Phi = \frac{3}{2} \left( \frac{1}{\sqrt{\Delta_\Phi}} - 1 \right) \quad (1.6)$$

avec

$$\Delta_\Phi = 1 - \frac{4}{3} \Delta_{max} \cos^2 \Phi, \quad \Phi \in [0, \pi/2] \quad (1.7)$$

Posons

$$\varepsilon_1 = \frac{4}{3} \Delta_{max} \text{ avec } \Delta_{max} = 10^{-4} \text{ donc } \varepsilon_1 \ll 1$$

Comme la valeur de  $\Delta_{max}$  est très petite, on peut alors développer

$$\frac{1}{\sqrt{\Delta_\Phi}} = (1 - \varepsilon_1 \cos^2 \Phi)^{-1/2} = 1 + \frac{\varepsilon_1}{2} \cos^2 \Phi + \mathcal{O}(\varepsilon_1)^2 \quad (1.8)$$

En remplaçant l'équation 1.8 dans 1.6, on a

$$(n_o - n_e)_\Phi = \frac{3}{2} \left( 1 + \frac{\varepsilon_1}{2} \cos^2 \Phi + \mathcal{O}(\varepsilon_1)^2 - 1 \right) \quad (1.9)$$

$$(n_o - n_e)_\Phi = \frac{3\varepsilon_1}{4} \cos^2 \Phi + \mathcal{O}(\varepsilon_1)^2 \quad (1.10)$$

Remplaçons l'équation 1.10 dans 1.5

$$\varphi_\Phi = \frac{3\pi\varepsilon_1}{2\lambda} \cos^2 \Phi + \mathcal{O}(\varepsilon_1)^2 \quad (1.11)$$

et

$$\varphi_{0(\Phi=0)} = \frac{3\pi\varepsilon_1}{2\lambda} + \mathcal{O}(\varepsilon_1)^2 \quad (1.12)$$

$\mathcal{O}(\varepsilon_1)^2$  est très petit, on peut alors le négliger.

Comme  $\varphi_\Phi \ll 1$  et  $\varphi_0 \ll 1$ , on peut approximer  $I(\Phi)$  et  $I(0)$  dans l'équation 1.4 par :

$$I = I(\varphi_\Phi) = \frac{1}{4} \left( 1 - \left( 1 - \frac{1}{2} \varphi^2 + \mathcal{O}(\varphi)^4 \right) \right) \quad (1.13)$$

$$I = I(\varphi_\Phi) = \frac{1}{8} \varphi^2 + \mathcal{O}(\varphi)^4 \quad (1.14)$$

et

$$I_{max} = I(\varphi_0) = \frac{1}{8} \varphi_0^2 + \mathcal{O}(\varphi_0)^4 \quad (1.15)$$

$\mathcal{O}(\varphi)^4$  est petit, on peut le négliger. On obtient finalement, en première approximation

$$\tilde{I}(\Phi) = \frac{\varphi_\Phi}{\varphi_0} = \frac{\left( \frac{3\pi\varepsilon_1}{2\lambda} \cos^2 \Phi \right)^2}{\left( \frac{3\pi\varepsilon_1}{2\lambda} \right)^2} = \cos^4 \Phi \quad (1.16)$$

avec

$$\Phi = \cos^{-1} \left( \frac{I(\Phi)}{I(0)} \right)^{1/4} \text{ ou } \Phi = \cos^{-1} \left( \frac{A_{amp}}{A_{ampmax}} \right)^{1/2}. \quad (1.17)$$

Parmi les techniques existantes (angles Euler, les matrices de rotation) pour les rotations autour d'un axe, nous avons choisi l'algèbre de quaternion en raison de sa robustesse dans les rotations. Les quaternions permettent aussi d'éviter le gimbal lock et l'implémentation de rotation plus continue et plus précise. Un quaternion se présente sous la forme de

$$q = ia + jb + kc + d \quad (1.18)$$

Soit  $\vec{v}_1(x, y, z) \in \mathbb{R}^3$ , et  $\alpha_4$  un angle de rotation quelconque. Donc les coordonnées de la rotation s'écrivent  $\vec{r} = (x, y, z, \alpha_4)$ . Pour trouver les nouvelles coordonnées de  $\vec{v}_1$  après une rotation, il est possible d'écrire :

$$v_2 = qv_1\bar{q} \quad (1.19)$$

Avec  $q$  le quaternion associé et  $\bar{q}$  son conjugué, on a

$$q = ix + jy + kz + \alpha_4 \quad (1.20)$$

$$\bar{q} = -ix - jy - kz + \alpha_4 \quad (1.21)$$

Après normalisation (si nécessaire) de  $\vec{v}_1$  dans l'équation 1.19, et en tenant compte de l'équation 1.20 et 1.21, on a

$$v_2 = (ix + jy + kz + \alpha_4)(x, y, z)(-ix - jy - kz + \alpha_4) \quad (1.22)$$

avec

$$ij = k; j^2 = -1; i^2 = -1; k^2 = -1; jk = i; ki = j; ji = -k; kj = -i; ik = -j$$

Si la rotation se fait autour de l'axe  $z$  on a :

$$v_2 = (ix + jy + kz + \alpha_4)(x, y, 0)(-ix - jy - kz + \alpha_4) \quad (1.23)$$

Dans notre cas, on a

$x = \cos(\theta)$ ,  $y = \sin(\theta)$ , et  $z = 0$  car la rotation se fera autour de l'axe  $z$ . En remplaçant  $\vec{v}_1$  dans 1.19, on peut en conclure que : pour une droite orientée à 22,5 degrés par rapport à l'axe  $z$ , un basculement de 10 degrés en élévation correspond à une rotation de 9,23 degrés en  $x$  puis 3.82 degrés en  $y$ .

Cependant, si on oriente la droite à 45 degrés, on doit tourner de 7,071 degrés en  $x$  puis 7,071 en  $y$ , et si la droite est orientée à 67 degrés il faut tourner de 3,90 degrés en  $x$  puis 9,20  $y$ . Il est aussi possible de vérifier ces résultats par la matrice de rotation.

## PROTOCOLE D'INCLUSION des COEURS en RESINE MMA

I) 8 BAINS D'IMPREGNATION successifs, durée une semaine, à 4°C :

Lavage du prélèvement fixé dans le formol: bain N°1) PBS\*

Déshydratation et imprégnation : bain N°2) GMA\*\* 50% / PBS 50%

Dégazage\*\*\*\*

bain N°3) GMA 80% / PBS 20%

Dégazage\*\*\*\*.

bain N°4) GMA

bain N°5) GMA

Imprégnation: bain N°6) GMA 50%/MMA\*\*\* 50% préparé (cf fiche: préparation)

bain N°7) MMA préparé

bain N°8) MMA préparé

II) POLYMERISATION de la résine :

Le prélèvement est posé dans un flacon en verre, sur un socle en résine polymérisée. Il est recouvert de MMA préparé et subit un dégazage\*\*\*\*

Le récipient en verre est bouché, mis à l'abri de la lumière dans une étuve, pendant quelques jours à 24/25°C

Surveillance journalière : contrôler l'aspect de la résine et sa viscosité plusieurs fois par jour. Si des bulles apparaissent dans la résine qui est devenue visqueuse, les chasser manuellement et ajouter de la résine liquide à température ambiante éventuellement.

Remarque : pendant les périodes où la résine n'est pas totalement polymérisée mais que cette étape ne peut pas être contrôlée, mettre le flacon au frigo à 6°C pour empêcher l'action de polymérisation de la résine.

La résine est polymérisée quand elle est dure

Stuve à 30°C quelques jours, puis à 50°C pour durcir la surface du bloc d'inclusion

\* : PBS = tampon Phosphate Buffered Saline

\*\* : GMA = Glycol Méthacrylate = 2-Hydroxyéthylméthacrylate 97%

\*\*\* : MMA = Méthyl Méthacrylate  $H_2C=C(CH_3)CO_2CH_3$

\*\*\*\* : dégazage : alternance « VIDE-AIR » 4 à 5 fois. vide: ~ 15 à 30 mbars pendant 15' à 20' à l'aide d'une pompe à vide. Air: passage

PREPARATION du MMA

(manipulation avec des gants sous hotte ou sorbonne)

Pour 1litre

- MMA\* (85%) : 850 ml : Résine
- DBP\*\* (15%) : 150ml : Plastifiant
- BPO\*\*\* 2,33% : 23,30 g : Activateur de polymérisation

Mélanger avec un agitateur magnétique à l'abri de la lumière (minimum 30 minutes)

Dégazer à l'abri de la lumière: vide de 45 à 30 mbars pendant 1 heure environ, jusqu'à disparition de bulles à la surface du mélange

Conservation à 4°C

\* : MMA = Méthyl méthacrylate

Formule:  $H_2C=C(CH_3)CO_2CH_3$

(ALDRICH réf : M55909-21)

\*\* : DBP = Dibutyl Phthalate, 99 %

Formule :  $C_6H_4-1,2-(CO_2(CH_2)_3CH_2)_2$

(ALDRICH réf: 80102-11)

\*\*\* : BPO = Benzoyl Peroxide, 97 %

Formule :  $(C_6H_5CO)_2O_2$

(MERCK réf: 8.01641.250)



### **Journal**

P. A. Desrosiers, P. S. Jouk, G. Michalowicz, Y. Usson, and Y. M. Zhu, "Simulation of Polarized Light Imaging for Investigating Myocardial Cells Homogeneity in the Human heart," *Medical Physics*, submitted.

### **Conference**

P. A. Desrosiers, G. Michalowicz, P. S. Jouk, Y. Usson, and Y. M. Zhu, "Modeling of the optical behavior of myocardial fibers in polarized light imaging," in *MICCAI'12 Workshop on Statistical Atlases and Computational Models of the Heart. Imaging and Modelling Challenges*. LNCS 7746, 2013, pp. 235–244.

## Bibliographies

- Alexander B. Kostinski, C. R. (1993). Constraints on Mueller matrices of polarization optics. *Applied Optics*, Vol. 32, pp. 1646-1651.
- Anderson RH, B. A. (1980). An integrated text colour atlas. *Gower*.
- Azam, R. A. (1989). Ellipsometry and Polarized light. *Amsterdam, Holland*.
- Azzam, R. M. (2000). *Journal of the Optical Society of America A*, vol. 17(11).
- Barakat, R. (1987). “Conditions for the Physical Realizability of Polarization Matrices Characterizing Passive Systems. *J. Mod. Opt.*, vol. 34, pp 1535 – 1544.
- Bickel WS, D. J. (1976). Application of polarization effects in light scattering: a new biophysical tool. *Proc Natl Acad Sci*, vol.73 page 486-490.
- Brenders P., S. M. (2005). *Optique MP-PC-PSI-PT*. Breal.
- C. Frindel, M. R. (2010). A graph-based approach for automatic cardiac tractography. *MRM*, vol. 64, pp. 1215-1229.
- Callum, M. (1900). On the muscular architecture and growth of the ventricle of the heart. *Bulletin of the John Hopkins Hospital*, 307-335.
- Chadwick, R. (1982). Mechanics of the left ventricle. *Biophysical J*, 333-339.
- Christian Brosseau, C. R. (1993). Generalized trace condition on the Mueller-Jones polarization matrix. *JOSA A*, Vol. 10, pp. 2248- 2251.
- Cloude, S. .. (1989). Conditions for the Physical Realisability of Matrix Operators in Polarimetry. *Proc. Soc. Photo - Opt.Instrum.Eng.*, vol. 1166, pp 177 – 185.
- Collet, E. (2003). *Polarized light in Fiber Optics*. USA: The PolaWave groupe.
- Collett, E. .. (1992). *Polarized Light*. New York.
- D.K., B. (1987). Strain energy descriptions of biological swelling I : Single fluid compartmental models. *ASME J. Biomech. Eng*, vol 109, pp 252-256.

- David E Sosnovik, R. W. (2009). Diffusion MR tractography of the heart. *Journal of Cardiovascular Magnetic*.
- Dubreuil, M. (2010). *Développement d'un polarimètre de Muller instantané par codage en longueur d'onde. Application à la caractérisation de cristaux liquides ferroélectriques*. France: Thèse.
- Epstein, E. J. (1973). Phonocardiogram and apex cardiogram in systolic click-late systolic murmur syndrome. *British Journal*, vol. 35, pp 260-275.
- Feneis, H. (1943). Das gerfuge des herzmuskels bei systole und diatole. *Morphologishes Jahrbuch*, vol 89, pp 371.
- Fernandez-Teran, M. a. (1982). Myocardial fibre architecture of the human heart ventricles. *Ana Rec*, vol 204: 137-147.
- Foster, P. (2010). *La plongée sous-marine, l'adaptation de l'organisme et ses limites*. Grenoble: 2010.
- Francois Brehat, B. W. (2003). *Représentation des états de polarisation des ondes lumineuses*. France: Publibook.
- Freeman, W. a. (1971). *Minral Optics: Principles and Techniques*. United State of Ameria: international standard book.
- Fung, Y. (1993). Mechanical Properties of Living Tissues. *Biomechanics*, second edition, sprinter-Verlag, New York.
- Gerald, B. J. (2008). The Relationship of Cardiac Architecture to Ventricular Function. *American Heart Association*, 118, pp:2571-2587.
- Ghosh, N. M. (2008). Mueller matrix decomposition for extraction of individual polarization parameters from complex turbid media exhibiting multiple scattering, optical activity, and linear birefringence. *Journal of Biomedical Optics*, vol. 13(4) 1083-3668.
- Ghosh, N. M. (2009). Influence of the order of the constituent basis matrices on the Mueller matrix decomposition-derived polarization parameters in complex turbid media such as biological tissues. *Optics Communications*, vol. 283, pp 1200-1208.
- Gil, J. (2000). Characteristic properties of Mueller matrices. *Journal of the Optical Society of America A*, vol. 17(2), pp 328-334.

- Girgel, S. S. (1991). Structure of the Mueller Matrices of Depolarized Optical Systems. *Sov. Phys. Crystallogr*, vol. 36, pp 890 – 891.
- Goudail, J. M. (2007). Influence of the order of diattenuator retarder and polarizer in polar decomposition of Mueller matrices. *Opt. Lett.* 29, No.19, 2234-36 .
- Greenbaum RA, H. S. (1981). Left Ventricular fibre architecture in man. *British Heart J*, vol 45 : 248-263.
- Grice, I. (1992). element model of myocardial structure: implications for electrical activation in the heart. *Thèse de l'Université d'Auckland, Nouvelle Zealand*, vol 269, pp H571-582.
- Hatit, S. B. (2009). *Polarimétrie de Muller résolue en angle*. France.
- Hovenier, J. .. (1986). Conditions for the Elements of the Scattering Matrix. *Astron . Astrophys*, vol. 157, pp 301 – 310.
- Howell, B. J. (1979). Measurement of the polarisation effects of an instrument using partially polarized light. *Appl. Opt.*, , vol. 18, pp 1809-1812.
- Huard, S. (1994). *Polarisation de la lumière*. France: Maason.
- Hubertus Axer, M. A. (2001). Quantitative estimation of 3-D fiber course in gross histological sections of the human brain using polarized light. *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 105, 121–131.
- Hunter P.J., e. S. (1988). The analysis of cardiac function: A continuum approach. *prog. Biophys. Molec. Biol.*, Vol 52, pp 101-164.
- Jarno Rieppo, J. H. (2008). Practical considerations in use of polarized light microscopy in the analysis of the collage Network in cartilage. *Microscopy research and technique*, vol. 71, 279-287.
- Jones. (1941). *J. Opt.Soc. Am.* 31, 488.
- Jones, R. (1941,1947,1956). A new calculus for the treatment of optical systems. *Journal of the Optical*, vol. 31 pp 488-493, 493-499,500-503.
- Jones, R. C. (1941). New calculus for the treatment of optical systems. *J. Opt. Soc. Am.* , vol. 31, pp 488–493.

- Jouk P-S. Y. Usson, M. G. (2000). Three-dimensional cartography of the pattern of the myofibres in the second trimester fetal human heart. *Anat. Embryol.*, vol. 202, pp. 103-118.
- Jouk P-S., U. Y. (1995). Mapping of the orientation of myocardial cells by means of polarized light and confocal scanning laser microscopy. *Microsc. Res. Tech.*, vol. 30, pp. 480-490.
- Jouk, P.-S. (1994). *Etude de la topographie des cellules myocardiques au cours du développement embryonnaire et foetal*. France.
- Jouk., P.-S. (1994). Methods form the mapping of the orientation of myocardial cells by means of polarized light. Assessment by confocal scanning laser microscopy. *Microscopical Reseach and Techniques*.
- Jungrae, C. W.-W.-S. (2007). Use of polar decomposition for the diagnosis of oral precancer. *Optical Society of America*, Vol. 46, No. 15.
- Jürgen Dammers, L. B. (2012). Automatic identification of gray and white matter components in polarized light imaging. *NeuroImage*, 1338-1347.
- Jürgen Dammers, M. A. (2010). Signal enhancement in polarized light imaging by means of independent component analysis. *NeuroImage*, 1241-1248.
- Kostinski, C. G. (1993). A Simple Necessary and Sufficient Condition on Physically Realizable Mueller Matrices. *Journal of Modern Optics*, vol. 40(3), pp 471-481.
- Krehl. (1891). Beitrage zur kentnisse der fullung und entleerung des hezens. . *Abhandlungen der mathematische-physischen klasse der koniglichen sachsichen gesellschaft der wissensschaften*, vol 17: 341-362.
- Kumar, M. .. (1992). Characterizing of Mueller Matrices in Polarization Optics. *Opt. Commun.*, vol. 88, pp464-470.
- laennext. (2007). *Cardiologues*. Consulté le 08 14, 2013, sur laennext.com: [www.laennext.com](http://www.laennext.com)
- Lalande, A. (2012). *IRM cardio-vasculaire des séquences d'acquisition aux paramètre physiologique*. France.
- Laude-Boulesteix, B. (2004). *Développement instrumentaux en imagerie tomographie et polarimétrique*. France.

- Leatham, A. (1958). Systolic Murmurs. *Journal of the American Heart Association*, vol. 17 pp 601-611.
- Lu, Y. S., & Chipman, R. (1996). Interpretation of Muller matrices based on polar decomposition. *Journal of the Optical Society of America*, vol. 13, pp 1106-1113.
- Luiza Larsen, L. D. (2007). Polarized Light Imaging of White Matter Architecture. *MICROSCOPY RESEARCH AND TECHNIQUE*, vol. 70, 851–863.
- Lunkenheimer PP, R. K.-D. (1997). The heart muscle's putative "secondary structure". Functional implications of a band like anisotropy. *Technol Heart Care*, vol 5, 53-64.
- M. Anastasiadou, S. B. (2007). Experimental validation of the reverse polar decomposition of depolarizing Mueller matrices. *Journal of the European Optical Society - Rapid publications*, Vol. 2.
- Mac Born, E. W. (1986). *Principles of Optics*. Berlin: Library of congress cataloging in publication data.
- Mall, F. (1911). On the muscular architecture of the ventricles of the human heart. *American Journal of Anatomy*, vol 11: 211-266.
- MarkusAxer, D. M. (2011). High-resolution fiber tract reconstruction in the human brain by means of the three-dimensional polarized light imaging. *Neuroinformatique*.
- Mourad, A. (2003). *Description topologique de l'architecture fibreuse et modélisation*.
- Mueller, H. (1948). The foundation of optics. *Journal of the Optical Society of America*, vol. 38, pp 661.
- Muriel Perrin, C. P. (2005). Validation of q-ball imaging with a diffusion fibre-crossing phantom on a clinical scanner. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 360, 881–891.
- Netter, F. (1969). *The ciba collection of medical illustration*. Heart Ciba.
- Ohayon, J. H.-S. (2001). A Model of the Struture and Functional Develllopement of the Normal Human Fetal Left Ventricle Based on a Global Growth law. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering* , vol. 5, pp 113-126.

- Ossikovski, R. A. (2007). Forward and Reverse Product Decompositions of Depolarizing Mueller Matrices. *Optics Letters* 32.
- P. A. Desrosiers, G. M.-S. (2012). Modeling of the Optical Behavior of Myocardial Fibers in Polarized Light Imaging. *STACOM*, pp. 7746, 2013, pp 235-244.
- P. Basser, a. C. (1996). Microstructural and Physiological Features of Tissues Elucidated by Quantitative-diffusion-tensor MRI. *J Magn Reson Imaging*, vol. 111, no 3, pp. 209-219.
- P. Schmid, T. J. (2005). Ventricular myocardial architecture as visualized in postmortem swine hearts using magnetic resonance diffusion tensor imaging. *Eur J Cardiothorac Surg*, vol 27 pp. 468-72.
- P.A. Desrosiers, P.-S. J. (2014). Simulation of Polarized Light Imaging for Investigating Myocardial Cell Homogeneity in the Human Heart. *IEEE TMI*
- Peter Whittaker, D. R. (1989). Analysis of Healing After Myocardial Infarction Using Polarized Light Microscopy.
- Petit-Jean, C. (2003). *Récalage non rigides par approche variationnelles statiques Application à l'analyse et à la modélisation de la fonction myocardique*. France.
- Pierre-Simon Jouk, A. M. (2007). Analysis of the the heart by quantitative polarized light microscopy, accuracy, limitations and contribution to the study of the neonatal life. *European Journal of cardio-thoracic sugery*, 916-922.
- Poincaré, H. (1892). *Théorie mathématique de la lumière*. Paris: Gauthiers-Villars.
- R. A. Chipman. (1995). Handbook of optics. USA: M. Bass, Mc Graw-Hill.
- Robb JS, R. R. (1942). The normal Heart-anatomy and physiology of the structural units. *American heart*, vol 23 : 455-467.
- Robinson TF, F. M. (1986). The heart as succion pump. *Scientific American*, 84-91.
- Robinson, P. C., & Bradbury, S. (1992). *Qualitative Polarized Light Microscopy*. USA: Oxford Science.
- Rushmer RF, C. D. (1953). The functional anatomy of the ventricular contraction. *Circulation Research*, 162-170.

- S. Manhas, M. K. (2006). Mueller matrix approach for determination of optical rotation in chiral turbid media in backscattering geometry. *Optical Society of America*.
- S. Y. Lu, a. R. (1996). Interpretation of Muller matrices based on polar decomposition. *Journal of the Optical Society of America*, vol. 13, pp 1106-1113.
- Sanchez-Quintana D., G.-M. V. (1995). Morphological changes in the normal pattern of ventricular myoarchitecture in the developing human heart. *The Anatomical Record*, vol. 243, pp. 483-495.
- Scmid P, J. T. (2005). Ventricular myocardial architecture as visualized in postmortem swine hearts using magnetic resonance diffusion tensor imaging. *Eur J Cardiothorac Surg*, 27:468-72.
- Sextant. (1997). *Optique experimentale*. Paris: Editeurs des sciences et des arts.
- Shurcliff, W. (1962). *Polarized light production and use*. USA: Havard University press.
- Soleillet, P. (1929). Sur les paramètres caractérisant la polarisation partielle de la lumière dans les. *Annales de Physique* 12, 23-97.
- Steven L. Jacques, P. J. (2000). maging Superficial Tissues With Polarized Light.
- Stokes, G. (1852). On the composition and resolution of streams of polarized light from. *Transactions of the Cambridge Philosophical Society*, vol. 9,339-416.
- Streeter, D. (1979). Gross Morphology and Fiber Geometry of the Heart. In Berne RM Sperelakis N, Geiger SR (eds) Hand book of physiology. *Williams & wilkins, Baltimore*, , 61-112.
- Torrent-Guasp. (1975). Organizacion de la musculatura cardiaca ventricular. In Zarco P, Perez J (eds) El Fallo mecànico del corazon. *Ediciones Toray, Barcelona*, 3-36.
- Tuch, D. S. (2004). Q-Ball Imaging. *Magnetic Resonance in Medicine*, 52:1358–1372.
- van der Mee, C. .. (1992). Structure of Matrices Transforming Stokes Parameters. *J. Math. Phys*, vol. 33, pp 3574 – 3584.
- van der Mee, C. V. (1993). An eigenvalue criterion for matrices transforming Stokes parameters meters. *J. Math. Phys*, vol. 34, pp 5072-5087.
- Walter, C. M. (1978). *Polarized light microscopy*. USA: Ann Arbor Science.

- WANG, L.-H. I.-Y.-M. (2011, Avril 8). Model-Based Diffusion Tensor Imaging for Investigating the Fiber Architecture of the Human Heart. *IEEE multimedia*.
- Westbury, D. R. (1971). Electrical Activity of the heart. *British Medical Journal* , vol. 4, pp 799-803.
- Wolf, M. B. (1983). Principles of Optics.
- Wood, M. F. (2010). Polarization birefringence measurement for characterizing the myocardium, including healthy, infarcted, and stem-cell-regeneration tissues.
- Wood, M. F. (2010). Polarization birefringence measurements for characterizing the myocardium, including healthy, infarcted, and stem-cell-regenerated tissues. *Journal of Biomedical Optics*, vol. 15(4).
- Wu MT, T. W. (2006). Diffusion Tensor Magnetic Resonance Imaging Mapping the Fiber Architecture Remodeling in Human Myocardium After Infarction. *Circulation*, 114(10): 1036-1045.
- Xing, Z. -F. (1992). On the Deterministic and Non-deterministic Mueller Matrix . *J. Mod. Opt*, vol. 39, pp 461-484.
- Xing Li (2009). Propagation of polarized light in skeletal muscle, Thesis at Missouri University
- Y. Usson, F. P.-S. (1994). Method for the study of the three-dimensional orientation of the nuclei of myocardial cells in fetal human heart by means of confocal scanning laser microscopy. *Journal of Microscopy*, vol. 174, 101-110.

## **FOLIO ADMINISTRATIF**

### **THESE SOUTENUE DEVANT L'INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUEES DE LYON**

NOM : DESROSIERS

DATE de SOUTENANCE : 21/05/2014

(avec précision du nom de jeune fille, le cas échéant)

Prénoms : Paul Audain

TITRE : Simulation de l'imagerie en lumière polarisée : application à l'étude de l'architecture des « fibres » du myocarde humain.

NATURE : Doctorat

Numéro d'ordre : 2014ISAL0046

Ecole doctorale : Electronique, Electrotechnique, Automatique (EEA)

Spécialité : Image et Système

#### **RESUME :**

La plupart des maladies cardio-vasculaires sont étroitement liées à l'architecture 3D des faisceaux de cardiomyocytes du myocarde humain. Connaître en détail cette architecture permet de lever un verrou scientifique sur l'organisation spatiale complexe des faisceaux de cardiomyocytes, et offre des pistes pour trouver des solutions pertinentes permettant de guérir ces maladies. Ainsi, les méthodes et techniques qui sont développées dans cette thèse permettront d'avoir une idée détaillée sur l'organisation spatiale des cardiomyocytes.

A cause de la nature biréfringente des filaments de myosine qui se trouvent dans les cellules cardiomyocyte, l'Imagerie en Lumière Polarisée (ILP) se révèle comme la seule méthode existante permettant d'étudier en détail, l'architecture et l'orientation des faisceaux de cardiomyocytes au sein de la masse ventriculaire. Les filaments de myosine se comportent comme des cristaux uni-axiaux biréfringents, ce qui permet de les modéliser comme les cristaux uni-axiaux biréfringents. L'ILP exploite les propriétés vibratoires de la lumière car l'interaction photonique et atomique entre la lumière et la matière permet de révéler l'organisation structurelle et l'orientation 3D des cardiomyocytes. Le présent travail se base sur la modélisation des différents comportements de la lumière après avoir traversé des faisceaux de cardiomyocytes. Ainsi, un volume  $100 \times 100 \times 500 \mu\text{m}^3$  a été décomposé en plusieurs éléments cubiques qui représentent l'équivalent de l'intersection des cellules de diamètre de  $20 \mu\text{m}$  chacune. Le volume a été étudié dans différentes conditions imitant l'organisation 3D des cardiomyocytes dans différentes régions du myocarde : région isotrope (homogène), région isotrope hétérogène, région de croisement des faisceaux de cardiomyocytes. Les résultats montrent que le comportement du volume change suivant l'arrangement spatial des cardiomyocytes à l'intérieur du volume. Grâce à un modèle analytique développé à l'aide des simulations, il a été possible de connaître en tout point, l'orientation 3D des cardiomyocytes dans tout le volume. Ce modèle a été implémenté dans un greffon logiciel. Puis, il a été validé avec les piliers des valves auriculo-ventriculaire en comparant les courbes obtenues en simulation numérique à celles obtenues dans la phase expérimentale. De plus, il a été possible de mesurer l'orientation 3D des faisceaux de cardiomyocytes à l'intérieur du pilier. Après cette validation, le modèle a été utilisé sur un cœur humain (sain) en entier. Puis, nous avons extrait les cartographies des orientations 3D (angle azimut, angle d'élévation) des cardiomyocytes, ainsi que la cartographie des niveaux d'homogénéité du myocarde en entier. Le développement des outils mathématiques robustes a permis de valider les mesures et les méthodes empiriques de Jouk et al.

Pour une confrontation qualitative des mesures de l'orientation 3D obtenues en ILP avec celles en Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), un cœur humain sain d'un enfant de 14 mois a été prélevé lors de l'autopsie, fixé dans du formol, puis imagé en entier par IRM puis en ILP. Malgré la faible résolution des images en IRM, les résultats obtenus montrent que les mesures de l'orientation 3D des cardiomyocytes issues de ces deux méthodes d'imageries se révèlent quasiment identiques

**MOTS-CLES :** Cœur humain, Imagerie en Lumière Polarisée, cardiomyocytes, IRM.

**Laboratoire (s) de recherche :** CREATIS de Lyon (CNRS UMR 5520, INSERM U1044) et TIMC-IMAG de Grenoble (CNRS, UMR 5220).

**Directeur de thèse:** ZHU Yuemin.

**Président de jury :** JOUK Pierre-Simon

**Composition du jury :** SEGONDS Patricia, RUAN Su, CROISILLE Pierre, JOUK Pierre-Simon, ZHU Yuemin, USSON Yves.