



**HAL**  
open science

# Inversion de modèle et séparation de signaux de spectroscopie optique pour la caractérisation in vivo de tissus cutanés

Prisca Rakotomanga

► **To cite this version:**

Prisca Rakotomanga. Inversion de modèle et séparation de signaux de spectroscopie optique pour la caractérisation in vivo de tissus cutanés. Automatique / Robotique. Université de Lorraine, 2019. Français. NNT : 2019LORR0329 . tel-02877382

**HAL Id: tel-02877382**

**<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-02877382>**

Submitted on 22 Jun 2020

**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.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

# Inversion de modèle et séparation de signaux de spectroscopie optique pour la caractérisation *in vivo* de tissus cutanés.

## THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 18 décembre 2019

pour l'obtention du

Doctorat de l'Université de Lorraine

(Mention Automatique, Traitement du Signal et des Images, Génie Informatique)

par

Prisca RAKOTOMANGA

### Composition du jury

|                      |  |  |
|----------------------|--|--|
| <i>Rapporteurs :</i> | Anabela DA SILVA Directrice de Recherche CNRS<br>Anne HUMEAU-HEURTIER Professeur des Universités   | Institut Fresnel, Marseille<br>Université d'Angers                           |
| <i>Examineurs :</i>  | Barbara NICOLAS Chargée de Recherche CNRS<br>Anne PLANAT-CHRÉTIEN Chercheuse<br>Marine AMOUROUX Ingénieure de Recherche<br>Christian DAUL Professeur des Universités | Créatis, Lyon<br>CEA-Leti, Grenoble<br>CRAN, Nancy<br>Université de Lorraine |
| <i>Directeurs :</i>  | Charles SOUSSEN Professeur CentraleSupélec<br>Walter BLONDEL Professeur des Universités  | L2S, Gif-sur-Yvette<br>Université de Lorraine                                |

Mis en page avec la classe thesul.

*À ma famille,  
À Pierre-Vincent,  
À tout ceux qui ont cru en moi*



*Il m'a fallu du temps pour comprendre que  
l'intelligence n'est pas une qualité absolue,  
mais qu'elle peut connaître des variations  
spectaculaires en fonction des contextes  
dans lesquels nous nous trouvons et des  
personnes que nous avons en face de nous.*

---

*Sorcières : La puissance invaincue des  
femmes.*  
Mona Chollet



## Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé au Centre de Recherche en Automatique de Nancy sur le site de l'ENSEM à Vandœuvre-lès-Nancy.

Je tiens à remercier mon directeur de thèse Charles Soussen, merci pour la confiance que tu m'as accordée durant ces trois ans et les discussions scientifiques autour du problème inverse et de la séparation de sources. Sans oublier mon co-directeur de thèse Walter Blondel, avec qui j'ai apprécié l'aspect formel et humain de son encadrement et nos différents échanges scientifiques. Grâce à vous j'ai pu acquérir des compétences en recherche et améliorer énormément mes présentations.

Je tiens à remercier tous les membres du jury pour leur participation à l'évaluation de ce travail. Je commence par les rapportrices, Anabella Da Silva et Anne Humeau-Heurtier, pour leurs retours très constructifs. Merci également à Anne Planat-Chrétien et Barbara Nicolas d'avoir accepté de rejoindre mon jury après avoir suivi mon travail à travers les comités de suivi. C'est aussi grâce à Anne que j'ai découvert ce domaine de recherche. Merci à Marine Amouroux pour toutes les expériences réalisées pour obtenir les spectres expérimentaux, tous tes conseils et ta gentillesse. Merci à Christian Daul pour ces retours pertinents.

Je tiens à remercier M. Sylvain Contassot-Vivier, professeur au Loria, de m'avoir aidé à prendre en main mon programme de simulation en CUDA.

Merci aux membres du labo situés sur le site l'ENSEM, notamment Christine de m'avoir épaulé au cours des différentes démarches administratives et réservations de salle. Remerciement spécial à Hoang, Maya, Gilles, Benoît avec qui je partageais le couloir bleu et que je croisais quotidiennement, merci pour votre sympathie. Merci aussi à Romain.

Je remercie mes supers collègues docteurs, doctorants et mes amis rencontrés à Nancy : Amélie, Tommaso, Margaux, JP, Daniele, Harry, Mathieu, Noussaïba, Sifédine, Thanh mon ancienne co-bureau, Pierre et tous les autres. Entre conversations futiles, stress de la thèse et débats passionnés, Je ne regrette pas d'avoir commencé ma thèse avec et j'ai tellement appris auprès de vous. Je remercie les nouveaux doctorants, Pauline, Simone, Bikash, Danh, Victor et tous les autres et je vous souhaite bonne chance pour la suite.

Je remercie également certains doctorants du Green et du LEMTA dont Davide, Max, Thibaud, Bomber, Abdou, Pang. Mais aussi, Renaud que j'ai rencontré lors du séjour dans les Vosges et qui m'a permis de connaître Cynthia et Charles, je vous remercie tous les trois pour votre soutien et vos encouragements.

Je souhaite également remercier mes amis extérieurs au labo Soso, merci à toi pour les supers soirées qui permettent de penser à autres choses, Camille, merci pour tes nombreux encouragements et de m'avoir aidé à relativiser, Tiph', merci pour tous les moments partagés au cours de ces 3 ans, j'en garde des supers souvenirs, Val', le mec sur qui on peut compter, je te remercie de m'avoir dépanné sur certains aspects de mon programme, Marion, merci d'avoir été présente.

Merci à ma famille en particulier ma mère pour m'avoir encouragé à travers toutes ces années.

Merci à Pierre-Vincent pour ton soutien infallible et d'avoir toujours cru en moi, surtout dans les moments de doute, j'ai pu compter sur toi. Comme dirait Mister MV "je m'énerve pas, je reste frais".

# Sommaire

|   |           |
|---|-----------|
| Liste des tableaux  | xv        |
| Abréviations  | xvii      |
| Notations   | xix       |
| Introduction générale   | 1         |
| <b>Chapitre 1 Photodiagnostic tissulaire <i>in vivo</i>, cadre et objectifs de la thèse</b> | <b>7</b>  |
| 1.1 Introduction . . . . .  | 7         |
| 1.2 Interactions entre la lumière et les tissus biologiques . . . . .                       | 8         |
| 1.2.1 Généralités . . . . .   | 8         |
| 1.2.2 Biophotonique, nature des milieux et des interactions . . . . .                       | 8         |
| 1.2.3 Propriétés optiques des tissus biologiques . . . . .                                  | 9         |
| 1.3 Méthodes optiques pour le diagnostic <i>in vivo</i> des cancers de la peau . . . . .    | 17        |
| 1.3.1 Physiopathologie et optique cutanée . . . . .   | 17        |
| 1.3.2 Méthodes optiques pour le diagnostic <i>in vivo</i> de la peau . . . . .              | 24        |
| 1.4 Étude et dispositif SpectroLive . . . . .   | 27        |
| 1.4.1 Problématique - positionnement - Essai clinique . . . . .                             | 27        |
| 1.4.2 Dispositif expérimental : spectroscopie optique multimodale . . . . .                 | 27        |
| 1.5 Positionnement et objectifs de la thèse . . . . .                                       | 30        |
| 1.5.1 Diagnostic à l'aide de la biopsie optique . . . . .                                   | 30        |
| 1.5.2 Objectifs de la thèse . . . . .   | 32        |
| <b>Chapitre 2 Modélisation de la propagation de la lumière dans les tissus biologiques</b>  | <b>35</b> |
| 2.1 État de l'art . . . . .   | 36        |
| 2.1.1 Équation du transfert radiatif . . . . .  | 36        |
| 2.1.2 Solutions à l'ETR . . . . .   | 36        |
| 2.1.3 Exemple de solutions analytiques . . . . .  | 39        |

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 2.1.4 | État de l'art sur les modèles de simulation Monte Carlo . . . . .         | 41 |
| 2.2   | Simulation Monte Carlo multi-modalités & multi-couches accéléré . . . . . | 46 |
| 2.2.1 | Description du simulateur développé . . . . .                             | 46 |
| 2.2.2 | Intégration de la géométrie de la sonde . . . . .                         | 51 |
| 2.2.3 | Intégration des longueurs d'onde . . . . .                                | 52 |
| 2.3   | Validations et études numériques . . . . .                                | 52 |
| 2.3.1 | Validation des données simulées . . . . .                                 | 52 |
| 2.3.2 | Validation de fluorescence . . . . .                                      | 54 |
| 2.3.3 | Validation avec un fantôme expérimental . . . . .                         | 59 |
| 2.3.4 | Étude numérique sur le nombre de photons . . . . .                        | 60 |
| 2.4   | Temps de simulation . . . . .   | 62 |
| 2.4.1 | Optimisation CPU . . . . .  | 63 |
| 2.4.2 | Optimisation GPU . . . . .  | 63 |
| 2.5   | Conclusion . . . . .  | 66 |

**Chapitre 3 Résolution du problème inverse : estimation des propriétés optiques de milieux multicouches en spectroscopie tissulaire. 67**

|       |  |    |
|-------|--|----|
| 3.1   | Description générale du problème à résoudre . . . . .                          | 67 |
| 3.2   | État de l'art sur la résolution du problème inverse en spectroscopie . . . . . | 69 |
| 3.2.1 | Fonctions coûts . . . . .  | 69 |
| 3.2.2 | Algorithme d'optimisation . . . . .  | 71 |
| 3.2.3 | Stratégie de prise en compte du bruit de modèle . . . . .                      | 74 |
| 3.2.4 | Erreurs d'estimation : les limites du problème inverse . . . . .               | 75 |
| 3.3   | Travaux réalisés . . . . .   | 77 |
| 3.3.1 | Étude sur les fonctions coûts . . . . .  | 77 |
| 3.3.2 | Étude sur les algorithmes d'optimisation . . . . .                             | 78 |
| 3.3.3 | Multimodalité : intégration au problème inverse . . . . .                      | 82 |
| 3.3.4 | Nouvelles fonctions coûts proposées . . . . .                                  | 87 |
| 3.3.5 | Choix de l'algorithme d'optimisation globale . . . . .                         | 88 |
| 3.3.6 | Résultats d'estimation des propriétés optiques . . . . .                       | 88 |
| 3.4   | Conclusion . . . . .   | 99 |

**Chapitre 4 Étude des modifications des propriétés optiques estimées de la peau humaine au cours d'un processus de clarification optique 101**

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 4.1   | Matériels & Méthodes . . . . .                    | 102 |
| 4.1.1 | Fantôme hybride . . . . .                         | 102 |
| 4.1.2 | Calcul du rapport d'aire sous la courbe . . . . . | 103 |

---

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 4.1.3 | Modèle optique de la peau . . . . .                                       | 103 |
| 4.1.4 | Processus d'inversion de modèle . . . . .                                 | 104 |
| 4.2   | Résultats & Discussion . . . . .  | 105 |
| 4.2.1 | Spectres en RD et en AF après 36 minutes d'application d'un ACO . . . . . | 105 |
| 4.2.2 | Cinétique temporelle et propriétés optiques estimées . . . . .            | 107 |
| 4.2.3 | Épaisseurs de peau et ACO . . . . .                                       | 110 |
| 4.3   | Conclusion . . . . .  | 112 |

**Chapitre 5 Méthode de séparation de sources appliquée aux spectres d'autofluorescence** **113**

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 5.1   | Configuration expérimentales et méthode de séparation de sources . . . . .                    | 114 |
| 5.1.1 | Spectres d'AF à multiples excitation . . . . .  | 114 |
| 5.1.2 | ACO et les effets sur les spectres de fluorescence . . . . .                                  | 115 |
| 5.2   | État de l'art : techniques de séparation de sources . . . . .                                 | 115 |
| 5.2.1 | Modèle de mélanges et factorisation en matrices non négatives . . . . .                       | 115 |
| 5.2.2 | Fonctions coûts . . . . .   | 117 |
| 5.2.3 | Gradient projeté . . . . .  | 118 |
| 5.2.4 | Algorithme ALS . . . . .  | 118 |
| 5.2.5 | Algorithme de mise-à-jour multiplicative . . . . .  | 119 |
| 5.3   | Cinétique des fluorophores en utilisant l'ACO . . . . .                                       | 120 |
| 5.3.1 | Données expérimentales . . . . .  | 121 |
| 5.3.2 | Resultats sur les données expérimentales . . . . .  | 123 |
| 5.3.3 | Discussion . . . . .  | 125 |
| 5.4   | Modèle Candecomp Parafac . . . . .  | 128 |
| 5.4.1 | Contraintes de positivité . . . . .   | 129 |
| 5.4.2 | Résultats sur nos données expérimentales d'une méthode de décomposition tensorielle . . . . . | 129 |
| 5.4.3 | Conclusion sur les méthodes de décomposition tensorielle . . . . .                            | 132 |
| 5.5   | Conclusion . . . . .  | 132 |

**Conclusion générale** **139**

**Annexe A Modèle Monte Carlo CUDA** **141**

|       |                                   |     |
|-------|-----------------------------------|-----|
| A.1   | Généralités sur le code . . . . . | 141 |
| A.1.1 | Fichier d'entrée . . . . .        | 141 |
| A.1.2 | Fichier de Sortie . . . . .       | 143 |
| A.1.3 | Autres . . . . .                  | 143 |

|  |            |
|--|------------|
| <b>Annexe B Algorithme de fluorescence</b> | <b>145</b> |
| <b>Bibliographie</b>                       | <b>147</b> |

# Table des figures

|      |  |    |
|------|--|----|
| 1.1  | Plage des longueurs d'onde du visible . . . . .  | 8  |
| 1.2  | Schéma de Snell-Descartes . . . . .  | 10 |
| 1.3  | Ouverture numérique d'une fibre optique avec l'angle d'acceptance $\theta_0$ . . . . .   | 10 |
| 1.4  | Schéma du phénomène d'absorption . . . . .   | 11 |
| 1.5  | Coefficient d'absorption des chromophores de la peau. . . . .  | 12 |
| 1.6  | Résumé des différents types de régimes de diffusion [Péry, 2007] . . . . .   | 13 |
| 1.7  | Direction de propagation de la lumière en fonction du régime de diffusion : (a) Rayleigh, (b) Mie pour de petites particule, (c) Mie pour de grosses particules [Péry, 2007] . . . . .   | 13 |
| 1.8  | Événement de diffusion avec l'angle $\theta$ , $\Omega$ et $\Omega'$ les directions avant et après diffusion de la lumière. . . . .  | 13 |
| 1.9  | La fonction de phase $\rho_{HG}(\theta)$ en fonction du coefficient d'anisotropie $g$ . . . . .  | 15 |
| 1.10 | Diagramme de Jablonski : émission d'un photon de fluorescence [Tuchin, 2007] . . . . .   | 16 |
| 1.11 | Exemple d'un spectre d'émission de fluorescence mesuré. . . . .  | 17 |
| 1.12 | Organisation schématique de la peau . . . . .  | 17 |
| 1.13 | Propriétés optiques de la peau extraites de la littérature . . . . .   | 19 |
| 1.14 | Images d'OCT de la peau . . . . .  | 20 |
| 1.15 | Schéma de la stratification de la peau avec les couches détaillées de l'épiderme et du derme. . . . .  | 21 |
| 1.16 | Image d'une coupe histologique de la peau avec présence d'une tumeur réalisée par Samuel Louviot et Marine Amouroux. . . . .   | 24 |
| 1.17 | test . . . . .   | 25 |
| 1.18 | <b>a</b> Configuration géométrique des fibres à l'extrémité de la sonde optique. La fibre d'excitation est placée au milieu (disque jaune) tout autour les fibres de détection.<br><b>b</b> L'appareil de SMMRS spectroscopie. . . . .   | 28 |
| 1.19 | Configuration de la sonde - distances entre la sources et les fibres de détection . . . . .  | 29 |
| 1.20 | Illustration des différents modes d'interaction lumière-tissu. . . . .   | 29 |
| 1.21 | Schéma du problème direct / inverse pour les spectres de réflectance diffuse, avec $\mathbf{p} = [\mu_a(\lambda), \mu_s(\lambda)]$ et $\hat{\mathbf{p}} = [\hat{\mu}_a(\lambda), \hat{\mu}_s(\lambda)]$ le vecteur des paramètres estimés. $R_{mod}(\lambda)$ : réflectance simulée par le modèle, $R_{exp}(\lambda)$ : réflectance expérimentale. . . . . | 31 |
| 2.1  | Organigramme général de la simulation Monte Carlo avec $w$ le poids d'un photon fixé à 1 au moment de l'initialisation. . . . .  | 42 |
| 2.2  | Configuration d'un modèle numérique bicouche utilisant une simulation Monte Carlo. Pour chaque couche $i=\{1,2\}$ , les paramètres principaux sont $\mu_a^i, \mu_s^i, n^i, g^i$ and $z^i$ . . . . .  | 43 |

|      |   |    |
|------|---|----|
| 2.3  | Organigramme général de la version MC développée et implémentée avec le poids $w$ fixé à 1 au moment de l'initialisation. . . . .   | 47 |
| 2.4  | Configuration d'un modèle numérique bicouche utilisant la simulation Monte Carlo. . . . .   | 48 |
| 2.5  | Modèle monocouche contenant un fluorophore. . . . .   | 50 |
| 2.6  | Exemple de somme cumulée pour déterminer la longueur d'onde d'émission $\lambda^{\text{emi}}$ . . . . .   | 51 |
| 2.7  | Modèles monocouches et bicouches numériques utilisés pour la validation. . . . .  | 52 |
| 2.8  | Modèles monocouches 1 et 2, respectivement les deux premières figures et modèle bicouche en 3, dernière figure. Les graphes de la colonne de droite (b) montrent un zoom des graphes de la colonne de gauche (a). . . . .                                 | 53 |
| 2.9  | Spectre d'émission normalisé d'un fluorophore simulé numériquement à l'aide d'une gaussienne. . . . .   | 55 |
| 2.10 | Variation de la réflectance diffuse pour 4 valeurs de rendement quantique $\xi$ comprises entre 0 et 1. . . . .   | 55 |
| 2.11 | Fluorescence pour la première distance SD $D_1 = 0,04\text{cm}$ et pour différentes valeurs de rendement quantique $\xi$ . . . . .  | 56 |
| 2.12 | Spectres d'émission normalisée de deux fluorophores . . . . .   | 57 |
| 2.13 | Fluorescence pour la première distance SD $D_1$ pour un fluorophore dans chaque couche . . . . .  | 58 |
| 2.14 | Spectres de fluorescence avec deux fluorophores contenus dans la couche supérieure avec des variations de rendement quantique. . . . .  | 58 |
| 2.15 | Spectres de réflectance diffuse (a) et d'autofluorescence (b) d'un fantôme bicouches en trait plein pour les données expérimentales et les données simulées avec notre simulation Monte Carlo en '•' pour la distance SD $D_2$ . . . . .                  | 59 |
| 2.16 | Resultats des réflectances diffuses simulées avec les barres d'écart-type en fonction du nombre de photons pour les paramètres optiques de $Sim_1$ et pour chaque distance $D_{1:4}$ . . . . .  | 61 |
| 2.17 | Erreurs relatives issues de la simulation $Sim_1$ . Les erreurs normalisées diminuent en fonction du nombre de photons. Elles augmentent avec la distance SD. . . . .   | 61 |
| 2.18 | Resultats des réflectances diffuses simulées avec les barres d'écart-type en fonction du nombre de photons pour les paramètres optiques de $Sim_2$ . . . . .  | 62 |
| 2.19 | Comparaison des temps de simulation en fonction du nombre de photons pour le calcul des spectres RD dans un milieu monocouche. . . . .  | 63 |
| 2.20 | Schéma du code Cuda/GPU implémenté . . . . .  | 65 |
| 3.1  | Schéma général du problème inverse avec $R_{exp}(\lambda)$ et $F_{exp}(\lambda, \lambda^{\text{exc}})$ les données expérimentales et $R_{mod}(\lambda; \mathbf{p})$ et $F_{mod}(\lambda, \lambda^{\text{exc}}; \mathbf{p})$ les données simulées. . . . . | 68 |
| 3.2  | Illustration du problème inverse et des différentes sources d'erreur d'estimation. . . . .  | 76 |
| 3.3  | Représentation des fonctions coûts . . . . .  | 79 |
| 3.4  | Bruit de Poisson . . . . .  | 80 |
| 3.5  | Illustration des différentes positions des points initiaux en fonction de la position de référence en rouge dans 3 zones de voisinage autour de $(\mu_a, \mu_s)_{ref}$ avec a) $< 50\%$ , b) $50 - 100\%$ et c) $> 100\%$ . . . . .                       | 81 |
| 3.6  | Schéma par bloc des différentes étapes du processus d'inversion effectué dans l'environnement Matlab. . . . .   | 84 |

|      |   |     |
|------|---|-----|
| 3.7  | Spectre d'absorption de fluorescence (à gauche) et d'émission de fluorescence (à droite) des fluorophores Chlorine e6 (en haut) et flavines (en bas) utilisés dans nos fantômes expérimentaux. Ces spectres sont également utilisés dans le milieu numérique à deux couches correspondant. . . . .  | 86  |
| 3.8  | Spectre du coefficient d'absorption de l'encre de Chine à 0.06% (vol./vol.) dilué à 1/20 dans l'eau distillée (à gauche) et spectre du coefficient de diffusion de l'intralipide - 5 % extrait de [Wen et al., 2009] . . . . .  | 86  |
| 3.9  | Initialisation des particules PSO . . . . .   | 91  |
| 3.10 | Positions des particules en fonction des paramètres $cf$ et $\xi$ . . . . .   | 92  |
| 3.11 | Positions des particules en fonction de $\mu_a$ et $\mu_s$ . . . . .  | 93  |
| 3.12 | Zoom des 40 particules pour $N = 21$ itérations de l'algorithme Algorithme d'essai à particules ou <i>Particle Swarm Optimization</i> (PSO) . . . . .   | 94  |
| 3.13 | Spectres de réflectance diffuse acquis expérimentalement (trait continu) et reconstruits (points) avec les fonctions coûts $f_R$ en haut et $f_{RF}$ en bas. . . . .  | 97  |
| 3.14 | Spectres de fluorescence acquis expérimentalement (trait continue) et reconstruits (points) avec les différentes fonctions pour $\lambda^{exc} = 405 \text{ nm}$ avec les fonctions coûts $f_R$ (a) et $f_{RF}$ (b). . . . .  | 97  |
| 4.1  | Spectres d'absorption et d'émission de fluorescence des NP AGuIX <sup>®</sup> Tb@P1 . . . . .   | 102 |
| 4.2  | Modèle optique du fantôme hybride . . . . .   | 103 |
| 4.3  | Spectres de RD et d'AF sur le milieu Peau sur Gel . . . . .   | 106 |
| 4.4  | Analyses des spectres de RD dans le modèle Gel+NP . . . . .   | 107 |
| 4.5  | Évolution de la fluorescence (ratios d'aires sous courbes des spectres de Fluorescence AUC normalisés par rapport à leur valeur initiale à T0) en fonction du temps d'exposition à l'ACO. . . . .   | 108 |
| 4.6  | Résultats des propriétés optiques estimées de la peau . . . . .   | 108 |
| 4.7  | Spectres reconstruits de réflectance diffuse, comparaison avec les spectres expérimentaux pour les différents temps d'application topique des ACO. . . . .  | 109 |
| 4.8  | Influence des ACO dans trois épaisseurs de peau différentes . . . . .   | 111 |
| 5.1  | Organisation des spectres avec la matrice des données $X$ en 2D, la matrice des contributions $A$ et la matrice des sources $S$ , valable pour $N_{exc} = 1$ . . . . .  | 116 |
| 5.2  | Représentation schématique (à gauche) et image (au centre) de la configuration expérimentale comprenant le modèle hybride à deux couches constitué d'une bande de peau <i>ex vivo</i> reposant sur un substrat de gel fluorescent et la sonde multifibre optique en contact avec l'épiderme. Les spectres de fluorescence $x(\lambda; D_i, \lambda_j^{exc}, t_k)$ sont collectés en fonction de la SDS $D_i$ ( $i \in \{1, \dots, N_D = 4\}$ ), des 5 longueurs d'onde d'excitation $\lambda_j^{exc}$ ( $j \in \{1, \dots, N_{exc} = 5\}$ ) et 8 temps de points de mesures $t_k$ ( $k \in \{1, \dots, N_t = 8\}$ ). Photo de droite : L'hématoxyline et l'éosine ont coloré la lame histologique de la bandelette cutanée testée (barre d'échelle = 200 $\mu m$ ). . . . . | 121 |
| 5.3  | Les spectres d'absorption (à gauche) et d'émission de fluorescence (à droite) de la Chlorine e6 sont normalisés à leurs valeurs maximales respectives. Les spectres d'émission ont été obtenus avec une longueur d'onde d'excitation de 403 $nm$ (correspondant à la longueur d'onde d'absorption maximale). . . . .  | 122 |
| 5.4  | Les spectres d'absorption (à gauche) et d'émission de fluorescence (à droite) des principaux fluorophores présents dans la peau (Figures extraites de [Wagnieres et al., 1998])   | 122 |

|      |   |     |
|------|---|-----|
| 5.5  | Spectres de fluorescence mesurés (lignes continues) et récupérés (lignes pointillées) en utilisant l'algorithme ALS avec un nombre fixe de 5 sources ( $N_S = 5$ ). Les couleurs bleu, rouge, jaune et violet correspondent aux courbes des distances $D_{1:4}$ respectivement. Les résultats sont tracés (i) pour les 5 longueurs d'onde d'excitation de fluorescence $\lambda_{1:5}^{exc}$ en rangées de haut en bas et (ii) pour 4 instants dans le processus de compensation optique à $T_0$ , $T_0 + 13$ , $T_0 + 20$ et $T_0 + 25$ minutes respectivement de gauche à droite. . . . .   | 124 |
| 5.6  | Sources spectrales estimées $\hat{\mathbf{S}}$ obtenues par la méthode Factorisation en matrice non négative ou <i>Non-negative matrix factorization</i> (NMF) basée sur l'algorithme ALS, pour $N_S = 5$ . . . . .   | 125 |
| 5.7  | Évolution temporelle des coefficients de pondération dans la matrice d'abondance estimée $\hat{\mathbf{A}}$ avec un nombre total de sources fixé à $N_S = 5$ . Chaque point correspond à la valeur d'un coefficient $a_{l,m} = a_{i+N_D \times (j-1) + N_D \times N_{exc} \times (k-1), m}$ avec $i \in \{1, \dots, N_D = 4\}$ , $j \in \{1, \dots, N_{exc} = 5\}$ , $k \in \{1, \dots, N_t = 8\}$ et $m \in \{1, \dots, N_S = 5\}$ la distance SD, la longueur d'onde d'excitation, le moment et les nombres sources respectivement. Les résultats (poids normalisés à leur valeur initiale à $T_0$ ) sont tracés en bleu, rouge, jaune et violet correspondant aux couleurs des distances $D_{1:4}$ respectivement, (i) pour les 5 longueurs d'onde d'excitation de fluorescence $\lambda_{1:5}^{exc}$ en ligne de haut en bas et (ii) pour les 5 sources $S_{1:5}$ de gauche à droite. . . . . | 133 |
| 5.8  | Organisation des données pour l'utilisation d'une méthode de décomposition tensorielle. . . . .   | 134 |
| 5.9  | Résultats de la méthode Candecomp Parafac (3D) pour $\lambda^{exc} = 365$ nm . . . . .  | 134 |
| 5.10 | Résultats de la méthode Candecomp Parafac (3D) avec l'estimation des sources (en haut à gauche), avec les différentes contributions en fonction de la distance SD (en haut à droite) et du temps (en bas à gauche) pour $N_S = 4$ et $\lambda^{exc} = 395$ nm . . . . .   | 135 |
| 5.11 | Résultats de la méthode Candecomp Parafac (3D) avec l'estimation des sources (en haut à gauche), avec les différentes contributions en fonction de la distance SD (en haut à droite) et du temps (en bas à gauche) pour $N_S = 4$ et $\lambda^{exc} = 415$ nm . . . . .   | 135 |
| 5.12 | Spectres de fluorescence reconstruits - 3D . . . . .  | 136 |
| 5.13 | Résultats de la méthode Candecomp Parafac (4D) avec 5 sources . . . . .   | 137 |
| 5.14 | Spectres de fluorescence reconstruits - 4D . . . . .  | 138 |

# Liste des tableaux

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 1.1 | Résumé des principaux fluorophores de la peau, avec $\lambda^{\text{exc}}$ les pics des longueurs d'onde d'excitation et $\lambda^{\text{emi}}$ les pics des longueurs d'onde d'émission de fluorescence.  | 18 |
| 1.2 | Propriétés optiques de l'épiderme . . . . .  | 22 |
| 1.3 | Propriétés optiques du derme . . . . .   | 23 |
| 1.4 | Erreurs quadratiques moyennes des propriétés optiques estimées par différentes méthodes d'inversion de la littérature. . . . .   | 33 |
| 2.1 | Valeurs de l'intensité d'émission pour un fluorophore simulé. . . . .  | 50 |
| 2.2 | Les propriétés optiques de chaque modèle . . . . .   | 54 |
| 2.3 | Les nombres de photons $N_{\text{photons}}$ utilisés pour réaliser les simulations. . . . .  | 60 |
| 2.4 | Résumé des propriétés optiques utilisées pour l'étude, les deux modèles optiques $Sim_1$ et $Sim_2$ . . . . .  | 60 |
| 2.5 | Tableau récapitulatif du temps de calcul en fonction des cartes graphiques, du nombre de longueurs d'onde d'excitation $N_{\lambda^{\text{exc}}} = 15$ et du nombre de photons pour une simulation Monte Carlo. . . . .  | 64 |
| 2.6 | Variation du temps de simulation Monte Carlo (MC) sur GPU en fonction du nombres de blocks et de Threads pour $10^7$ photons. . . . .  | 66 |
| 3.1 | Résultats des EQMN $\mu_a$ et $\mu_s$ d'un milieu monocouche . . . . .   | 82 |
| 3.2 | Résultats erreurs relatives obtenues des paramètres $\mu_a^{1,2}$ et $\mu_s^{1,2}$ d'un modèle numérique bicouche contenant du bruit de Poisson pour les algorithmes d'optimisation LM, TRR, GA et PSO et les fonctions coûts $f_{ls}$ , $f_{lsnorm}$ et $f_{lslog}$ . . . . .   | 83 |
| 3.3 | Tableau récapitulatif des erreurs relatives des paramètres estimés selon différentes itérations maximales (Max.iter.) dans l'algorithme PSO pour les fonctions de coût des moindres carrés $f_R$ , $f_F$ et $f_{RF}$ dans le cas d'un milieu monocouche. " > 100" indique des erreurs relatives supérieures à 100 %. " < 1" indique des erreurs relatives inférieures à 1 %. . . . . | 90 |
| 3.4 | Tableau récapitulatif des erreurs relatives des paramètres estimés selon différentes itérations maximales ( $N_{iter}$ ) de l'algorithme PSO pour les fonctions de coût des moindres carrés $f_R$ et $f_{RF}$ dans le cas d'un milieu bicouche. " > 100" indique des erreurs relatives supérieures à 100 %. " < 1" indique des erreurs relatives inférieures à 1 %. . . . .          | 95 |
| 3.5 | Erreurs relatives moyennes des spectres reconstruits de réflectance diffuse par rapport aux spectres expérimentaux en fonction des distances SD pour les deux fonctions coûts $f_R$ et $f_{RF}$ . . . . .  | 98 |

|     |   |     |
|-----|---|-----|
| 3.6 | Erreurs relatives moyennes des spectres reconstruits par rapport aux spectres de fluorescence expérimentaux pour les fonctions coûts $f_R$ et $f_{RF}$ en fonction de la distance SD et des longueurs d'excitation $\lambda_{1:5}^{\text{exc}}$ . . . . . | 98  |
| 4.1 | Erreurs relatives entre les spectres reconstruits et les spectres expérimentaux en RD pour l'ensemble des longueurs d'onde (Ens.), [385 - 590] nm et [650 - 735] nm. . . . .  | 110 |
| 5.1 | Algorithme de mise-à-jour multiplicative . . . . .  | 120 |
| A.1 | Organisation des fichiers CUDA . . . . .  | 141 |
| A.2 | Quelques commandes basiques pour la programmation <i>bash</i> /commandes <i>shell</i> et pour <i>slurm</i> . . . . .  | 144 |

# Abréviations

**ACO** Agent de Clarification Optique.

**AF** Autofluorescence.

**ALS** Alternating Least Squares.

**CO** clarification optique.

**CP** Candecomp Parafac.

**CPU** processeur ou *Central Processing Unit*.

**CRAN** centre de recherche en automatique de Nancy.

**ETR** équation du transfert radiatif.

**GA** Algorithme génétique ou *Genetic Algorithm*.

**GPU** processeur graphique ou *Graphics Processing Unit*.

**Hb** désoxyhémoglobine.

**HbO<sub>2</sub>** oxyhémoglobine.

**Hgb** hémoglobine.

**IL** Intralipides.

**LM** Levenberg-Marquardt.

**LUT** *Look-up table*.

**MC** Monte Carlo.

**NMF** Factorisation en matrice non négative ou *Non-negative matrix factorization*.

**NP** Nanoparticules.

**ON** ouverture numérique.

**PSO** Algorithme d'essaim à particules ou *Particle Swarm Optimization*.

**RD** Réflectance Diffuse.

**RS** résolue spatialement.

**SD** Source-Détecteur.

**TRR** *Trust-Region-Reflective*.



# Notations

|                 |   |   |
|-----------------|---|---|
| $\mu_a$         | - | coefficient d'absorption [ $cm^{-1}$ ]                                    |
| $\mu_s$         | - | coefficient de diffusion [ $cm^{-1}$ ]                                    |
| $\lambda$       | - | longueur d'onde [ $nm$ ]  |
| $\lambda^{exc}$ | - | longueur d'onde d'excitation [ $nm$ ]                                     |
| $\lambda^{emi}$ | - | longueur d'onde d'émission de fluorescence [ $nm$ ]                       |
| $\xi$           | - | rendement quantique de fluorescence                                       |
| $cf$            | - | concentration de fluorophore  |
| $g$             | - | coefficient d'anisotropie   |
| $n_i$           | - | indice de réfraction du milieu $i$  |
| $\mu'_s$        | - | coefficient de diffusion réduit ( $\mu'_s = \mu_s(1 - g)$ ) [ $cm^{-1}$ ] |
| $R_{exp}$       | - | Réflectance diffuse expérimentale   |
| $R_{mod}$       | - | Réflectance diffuse modélisée   |
| $F_{exp}$       | - | Intensité d'autofluorescence expérimentale                                |
| $F_{mod}$       | - | Intensité d'autofluorescence modélisée                                    |
| $D_i$           | - | distance entre la source et le détecteur $i$ [ $\mu m$ ]                  |



# Introduction générale

La biopsie est un acte médical consistant à prélever un échantillon d'un tissu biologique, ou plusieurs si nécessaire, dans le but de diagnostiquer l'état de ce tissu, en particulier pour déterminer le type et le stade d'un cancer dans le cadre d'examens d'anatomopathologie ou histopathologiques [INC, 2018b]. Cet examen est réalisé à l'aide d'un microscope et permet, par exemple, de connaître jusqu'à quelle profondeur le cancer s'est développé. Pour diagnostiquer un cancer de la peau, on parle d'exérèse diagnostique [INC, 2018a]. Après une chirurgie (résection chirurgicale du tissu cancéreux), un autre examen peut être réalisé pour vérifier la non récurrence du cancer. Ces examens médicaux sont très répandus et permettent d'établir un diagnostic. Cependant, ce sont des procédures coûteuses et invasives traumatisantes nécessitant des prélèvements qui peuvent laisser des cicatrices au patient. Des méthodes sont donc apparues dans le but d'améliorer le diagnostic, le bien-être du patient en limitant les procédures invasives et en diminuant le coût.

La **biopsie optique** est l'une d'entre elles et rassemble un ensemble de techniques non-invasives exploitant la physique de l'optique dans le but d'obtenir des informations sur l'état d'un tissu biologique. Le terme « biopsie optique » est composé du mot « biopsie » qui renvoie à l'examen histologique, décrit précédemment, et du mot « optique » qui indique le caractère non-invasif de ces techniques.

Le clinicien peut ainsi avoir accès aux informations portant sur la composition et la structure du tissu. Pour les obtenir, il est nécessaire de faire appel à des méthodes de classification et/ou d'inversion de modèles de propagation de la lumière.

La spectroscopie de réflectance diffuse, qui est une technique de biopsie optique, a été appliquée à la caractérisation des tissus biologiques issus de différents organes tels que la peau, les seins, le côlon, le cerveau [Du Le et al., 2017, Spliethoff et al., 2016a]. Elle permet de détecter des pré-cancers et des cancers de la peau pour la résection des tissus, c'est-à-dire aider à localiser et caractériser la/les zone.s de tissus cancéreux parmi le tissu sain. Les spectres de réflectance diffuse contiennent des informations à propos de la structure et de la composition des tissus sondés [Yudovsky and Pilon, 2010, Spliethoff et al., 2016b].

La peau est organisée sous forme de couches : l'épiderme, le derme et l'hypoderme et elle possède un certain nombre de chromophores tels que la mélanine et l'hémoglobine. Les propriétés optiques de la peau (absorption, diffusion...) reflètent ainsi sa structure et sa composition de l'échelle subcellulaire à l'échelle tissulaire. En présence d'une lésion cancéreuse, l'organisation cellulaire et tissulaire est modifiée et la composition biologique et biochimique change aussi. Cela peut s'observer avec la modification des propriétés optiques de la peau. La principale difficulté réside dans l'identification des paramètres optiques situés dans les couches profondes de la peau. En effet, les spectres associés à ces profondeurs présentent un niveau de bruit très élevés et de faibles intensités mesurées dus au tissu biologique qui possède la propriété d'être très diffusant.

L'ensemble des données expérimentales exploitées dans cette thèse proviennent d'acquisitions réalisées à l'aide d'un système de spectroscopie optique multimodalité résolue spatialement, couplant les mesures de spectres de réflectance diffuse et de spectres d'autofluorescence sous multiples excitations. Ce dispositif ("Spectrolive") fait l'objet d'un essai clinique de validation pour l'aide au diagnostic de carcinomes cutanés (CHR Metz-Thionville, 100 patients inclus au 09/2019). Les spectres acquis par cet instrument nécessitent un traitement pour déterminer les propriétés optiques.

L'objectif de ma thèse est de proposer une méthode d'inversion précise et robuste tenant compte de l'ensemble des données spectroscopiques multimodales pour une meilleure caractérisation des tissus cutanés.

Ce travail s'inscrit en amont de la mise en place d'une classification supervisée des spectres basée sur une caractérisation physique et biologique des tissus cutanés. Par la suite, l'enjeu clinique sera d'exploiter cette classification lors d'une opération de résection à partir des spectres acquis à l'aide du système d'acquisition de spectres optiques développé au centre de recherche en automatique de Nancy (CRAN) et de compléter voire d'éviter la biopsie qui peut être délicate à interpréter dans certaines situations.

## Organisation du manuscrit

Le **chapitre 1** est consacré à l'optique tissulaire et introduit les outils physiques nécessaires à la suite de notre étude. L'objet d'étude, la peau, est présenté avec ses caractéristiques structurales et biochimiques en lien avec ses paramètres optiques. Le contexte médical est introduit avec les problématiques de la peau, en particulier le carcinome. Le dispositif médical, utilisé pour collecter l'ensemble des données expérimentales exploitées dans cette thèse, est présenté avec sa géométrie de sonde et les différents spectres acquis en réflectance diffuse et en autofluorescence.

Le **chapitre 2** se focalise sur la simulation numérique de la propagation de photons dans la peau basée sur la méthode Monte Carlo avec l'intégration des différents phénomènes physiques intervenant dans l'interaction lumière-tissu présentés dans le chapitre 1. Ce modèle permet de simuler des spectres en Réflectance Diffuse (RD) et Autofluorescence (AF). Le modèle présenté tient compte de la géométrie de l'instrument et permet de simuler les deux modalités (RD et AF). L'implémentation technique de la simulation repose aussi sur une parallélisation en GPU pour réduire le temps d'exécution. L'objectif est donc d'intégrer ce modèle à une résolution de problème inverse.

Le **chapitre 3** s'intéresse à la résolution du problème inverse spectroscopique par une approche variationnelle, visant à minimiser une fonction coût représentant l'écart entre les données et le modèle direct simulé. Une fonction coût basée sur les moindres carrés combinant les spectres de réflectance diffuse et d'autofluorescence est proposée en s'appuyant sur une comparaison avec d'autres fonctions coûts ne tenant compte que d'une seule modalité spectrale, spectres de réflectance diffuse ou spectres d'autofluorescence, pour différentes configurations numériques et expérimentales.

---

Le **chapitre 4** développe une étude expérimentale basée sur l'utilisation d'un agent de clarification optique (ACO). L'objectif est d'étudier les modifications des paramètres optiques de la peau au cours de la diffusion de l'ACO à partir d'une application topique dans les couches inférieures de la peau. Les effets de l'agent hyperosmotique sont mis en avant notamment *via* la diminution des coefficients optiques d'absorption et de diffusion des couches supérieures de la peau entraînant une transparence de celles-ci.

Dans le **chapitre 5**, l'étude de l'impact d'un ACO sur la peau est étudiée à l'aide d'une méthode basée sur la séparation des sources pour traiter conjointement un ensemble de spectres observés. La diversité temporelle des spectres est permise par le recours à un agent hyperosmotique. La factorisation en matrices non négatives s'appuie sur l'estimation de deux matrices : la matrice des sources et la matrice des abondances. Cette méthode exploite les fluorophores de la peau. L'emplacement des fluorophores est rendu possible avec l'utilisation d'un agent hyperosmotique. De plus, les effets provoqués sur la peau par l'agent hyperosmotique permet de suivre différentes phases de diffusion de l'agent hyperosmotique.

## Contributions

Le manuscrit se base sur les publications suivantes :

### Revue internationale à comité de lecture

1. Rakotomanga P., Soussen C., Khairallah G., Amouroux M., Zaytsev S., Genina E., Chen H., Delconte A., Daul C., Tuchin V. and Blondel W. (2019) "Source separation approach for the analysis of spatially resolved multiply excited autofluorescence spectra during optical clearing of ex vivo skin." *Biomedical Optics Express*, 10(7) :364338

### Conférences, communications orales (avec et sans acte)

#### Internationales

1. W. Blondel, P. Rakotomanga, M. Kholodtsova, C. Daul, V.B. Loschenov, M. Amouroux and C. Soussen (2016) "On the estimation of tissue optical parameters from diffuse reflectance spectroscopy", In ICONO/LAT 2016 International Conference on Coherent and Nonlinear Optics (ICONO) Conference on Lasers, Applications, and Technologies (LAT), Sept. 26-30, Minsk, Biolorussia
2. Rakotomanga, P., Soussen C. and Blondel W. (2017) "Influence of cost functions and optimization methods on solving the inverse problem in spatially resolved diffuse reflectance spectroscopy", In SPIE Photonics West – BiOS 2017, January 28th – February 2nd, The Moscone Center, San Francisco, California, USA, Proc. SPIE 10063, Dynamics and Fluctuations in Biomedical Photonics XIV, 100630Y (March 3, 2017) doi :10.1117/12.2249607 hal-01588550v1
3. Rakotomanga, P., Khairallah G., Soussen C., Amouroux M., Marchal F., Delconte A., Feng W., Zhu D. and Blondel W. "Human skin optical property modifications upon optical clearing agents estimated from spatially-resolved tissue optical spectroscopy." In Saratov Fall Meeting SFM'17 International Symposium "Optics and Biophotonics-V", Sep 26-29 2017, Saratov, Russia. hal-01644770

4. Blondel, W., Rakotomanga P., Soussen C., Daul C., Khairallah G., Marchal F., Amouroux M., Delconte A., Kholodtsova M. and Loschenov V. (2017) "Overview on inverse problem solving techniques to estimate optical properties from fibered spectroscopic devices." In 2nd International school for young scientists "Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine, October 08-09, Moscow, Russia. hal-01637674v1
5. Blondel, W. Rakotomanga P., Khairallah G., Amouroux M., Marchal F., Delconte A. and Soussen C. (2017) "Estimation of in vivo optical properties of human skin carcinomas using spatially resolved multimodal spectroscopy : clinical study preliminary results." In 2nd International Symposium on Physics, Engineering and Technologies for Bio-Medicine (PETBM), October 10-15, Moscow, Russia. hal-01637578v1
6. Khairallah G., Amouroux M., Rakotomanga P., Soussen C., Marchal F., Delconte A., Feng W., Zhu D. and Blondel W. "Preliminary study investigating depth sensitivity of spatially resolved bimodal spectroscopy combined to optical clearing agents on a human skin based-hybrid model." OSA - Asia Communications and Photonics Conference (ACP) 2017, November 10-13, Guangzhou, China. hal-01637545v1
7. Khairallah G., Amouroux M., Plénat F., Rakotomanga P., Soussen C., Marchal F., Delconte A., Chen H. and Blondel W. (2018) "Spatially resolved spectroscopy for guiding margin delineation during human skin carcinomas resection : first clinical results on diffuse reflectance and autofluorescence spectra and in vivo skin optical properties", In SPIE Photonics Europe 2018 - Biophotonics : Photonic Solutions for Better Health Care Conference, Strasbourg, France, April, vol. 9129
8. Blondel W., Rakotomanga P., Khairallah G., Soussen C., Feng W., Zhu D., Chen H., Daul C., Delconte A., Marchal F. and Amouroux M. (2018) "Skin optical properties modifications using optical clearing agents : experimental and modelling results", In 18th International Conference on Laser Optics ICLO 2018 – 5th International AM Prokhorov Symposium on Lasers in Medicine and Biophotonics, St Petersburg, Russia, June 4-8. (invited speaker)
9. Khairallah G., Rakotomanga P., Delconte A., Blondel W., Soussen C., Marchal F. and Amouroux M. (2018) "Probe pressure impact on optical spectra acquired on ex vivo and in vivo human skin", In 18th International Conference on Laser Optics ICLO 2018 – 5th International AM Prokhorov Symposium on Lasers in Medicine and Biophotonics, St Petersburg, Russia, June 4-8. (invited speaker)
10. Rakotomanga, P., Khairallah G., Amouroux M., Feng W., Zhu D., Chen H, Daul C., Delconte A., Marchal F., Soussen C. and Blondel W. (2018) "Spatially resolved autofluorescence and diffuse reflectance spectroscopy-based evaluation of human skin optical properties subjected to optical clearing agents", In 8th International Symposium Europe-China Stem Cells and Regenerative Medicine, Wuhan , China, June 19-22.
11. Vadim D. Genin, Prisca Rakotomanga, Sergey M. Zaytsev, Elina A. Genina, Ekaterina N. Lazareva, Grégoire Khairallah, Marine Amouroux, Charles Soussen, Hang Chen, Wei Feng, Dan Zhu, Alexey N. Bashkatov, Walter Blondel, and Valery V. Tuchin "Research and development of effective optical technologies for diagnostics in dermatology", Proc. SPIE 11065, Saratov Fall Meeting 2018 : Optical and Nano-Technologies for Biology and Medicine, 1106505 (3 June 2019)

---

## Nationales

1. Rakotomanga P., Soussen C., Amouroux M., Delconte A. et Blondel W. (2018) « Inversion de modèle d'interactions entre lumière et tissus biologiques pour la caractérisation de la peau par spectroscopie optique »In GDR ISIS & GDR ONDES - Journées Imagerie Optique Non Conventiionnelle, Paris, France
2. Rakotomanga P., Soussen C., Khairallah G., Amouroux M., Marchal F., Delconte A., Chen H., Feng W., Zhu D. et Blondel W. (2018) « Estimation des propriétés optiques de peau humaine modifiées par un agent de clarification optique et mesurées par spectroscopie tissulaire bimodale »In OPTDIAG, Paris, France



# Chapitre 1

## Photodiagnostic tissulaire *in vivo*, cadre et objectifs de la thèse

*Les livres étaient là, rendaient la chose possible, dicible, partageable.*

---

*King Kong Théorie. Virginie Desportes*

### Sommaire

---

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 1.1 | Introduction . . . . .   | 7  |
| 1.2 | Interactions entre la lumière et les tissus biologiques . . . . .          | 8  |
| 1.3 | Méthodes optiques pour le diagnostic <i>in vivo</i> des cancers de la peau | 17 |
| 1.4 | Étude et dispositif SpectroLive . . . . .                                  | 27 |
| 1.5 | Positionnement et objectifs de la thèse . . . . .                          | 30 |

---

### 1.1 Introduction

Ce chapitre pose les bases nécessaires à l'étude de la caractérisation optique de la peau pour déterminer sa nature (saine, cancéreuse, etc). Tout d'abord, l'interaction lumière-tissu est définie avec les différents phénomènes physiques associés (voir le paragraphe 1.2). La biopsie optique repose sur cette interaction.

Ensuite, le paragraphe 1.3.1 présente l'objet d'étude : la peau. Les paramètres pour représenter la peau comme milieu diffusant sont présentés et accompagnés d'exemple de valeurs recueillis à partir de l'état de l'art. Les principaux constituants de la peau sont également introduits. Une partie sur les anomalies possibles de la peau est développée. Des méthodes de caractérisation basées sur la biopsie optique pour caractériser la peau sont citées.

Enfin, le contexte clinique et le dispositif utilisé pour acquérir les mesures expérimentales sont présentés dans le paragraphe 1.4.

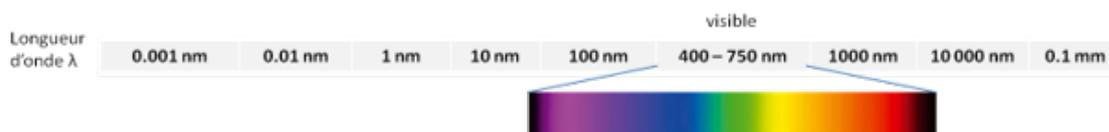


FIGURE 1.1 – Plage des longueurs d’onde du visible

## 1.2 Interactions entre la lumière et les tissus biologiques

### 1.2.1 Généralités

La lumière est régie par le principe de dualité onde-corpuscule. Dans certaines situations expérimentales, la lumière est décrite comme une onde électromagnétique située sur la plage des longueurs d’onde du visible (à l’œil humain) entre 380 - 780 nm, voir Fig. 1.1.

La longueur d’onde  $\lambda$  indique la période spatiale d’une onde monochromatique dans un milieu homogène, c’est-à-dire la distance entre deux sommets d’une sinusoïde.  $\lambda$  s’exprime en nm telle que :

$$\begin{aligned}\lambda &= \nu \times T \\ &= \frac{\nu}{f}\end{aligned}\tag{1.1}$$

avec :

$T$  : la période temporelle en secondes

$f = \frac{1}{T}$  : la fréquence temporelle en Hertz

$\nu$  : la vitesse de propagation de l’onde lumineuse (célérité ou vitesse de phase) dans un milieu d’indice de propagation  $n$  définie comme  $\nu = \frac{c_0}{n}$  avec  $c_0 \approx 3 \times 10^8 \text{ m.s}^{-1}$ , constante physique de célérité dans le vide  $n = 1$

La lumière peut aussi être décrite comme un ensemble de particules nommées photons dont l’énergie est définie par  $E(\lambda)$  en Joules.

$$E(\lambda) = \frac{h \times c_0}{\lambda}\tag{1.2}$$

avec  $h = 6.64 \times 10^{-34} \text{ J.s}$  la constante de Planck. Sous cette forme, des principes probabilistes issus de la physique quantique et de la physique statistique peuvent être appliqués.

### 1.2.2 Biophotonique, nature des milieux et des interactions

La photonique est la science qui étudie la lumière et ses interactions avec la matière, et développe les technologies capables de la contrôler : sources (lasers, DELs, lampes), guides d’ondes (fibres optiques, cristaux), détecteurs (dispositifs à transfert de charge ou CCD, photodiodes, photomultiplicateurs).

La biophotonique utilise les sciences basées sur la lumière (la photonique) pour répondre à des problématiques d’ordre biologique. Trois catégories d’applications biophotoniques peuvent être distinguées :

1. Les applications pour la biologie et la biotechnologie avec la création de nouvelles classes de microscopes optiques, d'imageurs des mécanismes génétiques par bioluminescence et fluorescence ;
2. Les applications à visée thérapeutique telle que la thérapie photodynamique (PDT) ;
3. Les applications de « biopsie optique » basées sur l'exploitation des variations des propriétés optiques du tissu (absorption, fluorescence, diffusion). La biopsie optique regroupe l'ensemble des méthodes de spectro-imagerie optique qui visent à caractériser l'état d'un tissu biologique *in vivo* afin d'aider à son diagnostic non invasif. C'est dans ce cadre applicatif que s'inscrivent les travaux de cette thèse.

La lumière se propage dans un milieu turbide (très diffusant) lié à l'organisation structurale et à la composition cellulaire des tissus biologiques qui varient en fonction du temps et des pathologies présentes. Cela engendre différentes interactions physiques telles que notamment l'absorption, la diffusion et la fluorescence. Ces interactions sont la base du développement de nombreuses méthodes de biopsie optique (listées dans le paragraphe 1.3.2).

### 1.2.3 Propriétés optiques des tissus biologiques

La propagation de la lumière évolue dans le tissu biologique qui est un milieu turbide (très diffusant). Cela engendre différentes interactions physiques telles que l'absorption, la diffusion et la fluorescence. Le milieu biologique peut être décrit à l'aide de propriétés optiques telles que le coefficient d'absorption  $\mu_a(\lambda)$ , le coefficient de diffusion  $\mu_s(\lambda)$ , l'indice de réfraction du milieu  $n$  et le facteur d'anisotropie  $g$ .

#### Réfraction - Réflexion

La présence d'interfaces entre le tissu et son environnement et entre les structures internes du tissu lui-même permettent l'application de la relation Snell-Descartes :

$$n_1 \times \sin(\theta_1) = n_2 \times \sin(\theta_2) \quad (1.3)$$

avec :

$n_1$  : l'indice de réfraction du milieu 1

$\theta_1$  : l'angle incident  $\theta_1$

$n_2$  : l'indice de réfraction du milieu 2

$\theta_2$  : l'angle réfracté  $\theta_2$

La relation (1.3) intervient également lors des mesures acquises par une fibre de détection possédant une ouverture numérique (ON). Cette dernière est définie ci-dessous :

$$ON = \sin(\theta_0) \quad (1.4)$$

avec :

$\theta_0$  : l'angle limite permettant de guider la lumière dans la fibre optique et dépendant des indices de réfraction du cœur  $n_1$  et de la gaine  $n_2$  composant la fibre ( $\sin(\theta_0) = \sqrt{n_1^2 - n_2^2}$ ).

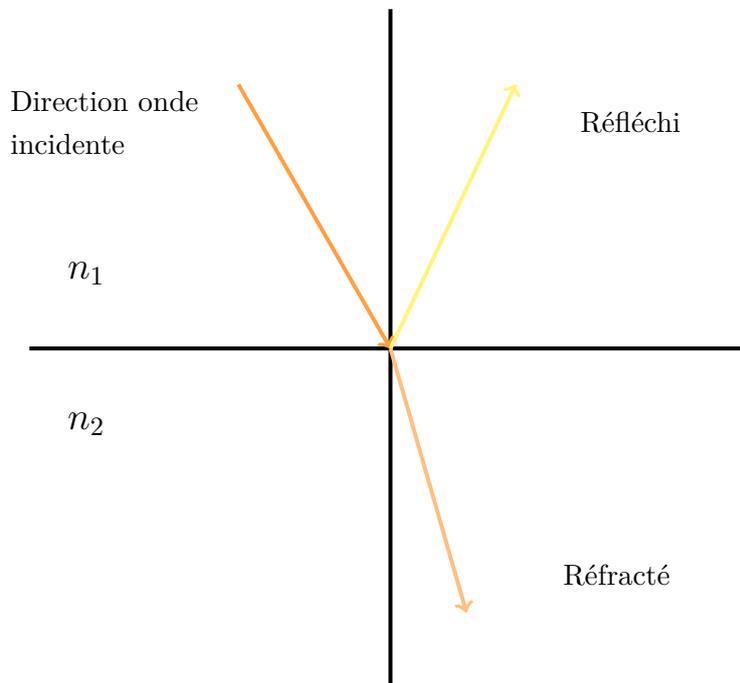


FIGURE 1.2 – Schéma de Snell-Descartes avec deux milieux d'indice de réfraction  $n_1 \neq n_2$ , avec l'onde incidente devient une onde réfractée en rencontrant le milieu d'indice de réfraction  $n_2$ ; une partie de l'onde incidente peut être réfléchie.

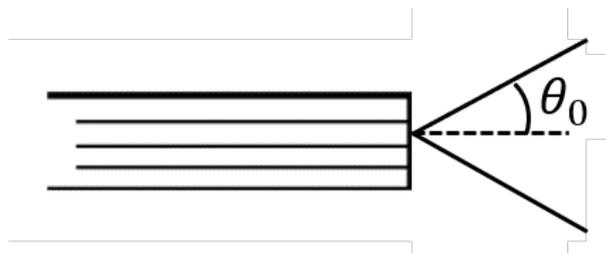


FIGURE 1.3 – Ouverture numérique d'une fibre optique avec l'angle d'acceptance  $\theta_0$

### Coefficient d'absorption

Le coefficient d'absorption  $\mu_a(\lambda)$  [ $cm^{-1}$ ] est un paramètre optique qui permet de caractériser la composition en chromophores (définis dans le 1.3.1) du milieu. Pour un milieu purement absorbant, la loi de Beer-Lambert est formulée ci-dessous :

$$I(\lambda, L) = I_0(\lambda) \cdot \exp(-\mu_a(\lambda) \cdot L) \quad (1.5)$$

avec :

$I_0(\lambda)$  : l'intensité incidente

$L$  : la longueur du trajet en [ $cm$ ].

L'intensité du faisceau incident diminue au cours de sa traversée dans le milieu absorbant (voir Fig.1.4).

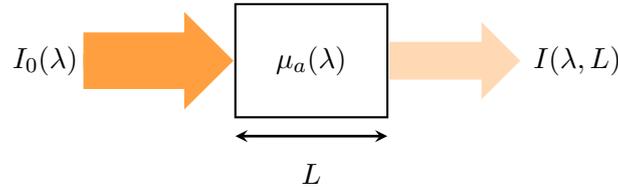


FIGURE 1.4 – Schéma du phénomène d'absorption  $\mu_a(\lambda)$  dans un milieu purement absorbant d'épaisseur  $L$  entraînant une diminution de l'intensité.

On peut introduire la grandeur  $l_a$  [cm] correspondant au chemin « moyen » parcouru par un photon avant son absorption.

$$l_a = \frac{1}{\mu_a}$$

Les chromophores sont présents dans les tissus cutanés et sont considérés comme des absorbeurs sensibles notamment aux rayons ultraviolets (UV). Par exemple, la mélanine est un chromophore de la peau absorbant les rayons UV.

Certains chromophores présentent des propriétés de fluorescence et ont ainsi la possibilité d'émettre de la lumière d'énergie inférieure à la lumière incidente. La lumière absorbée est convertie soit en énergie thermique soit en rayonnement [Tuchin, 2007]. Le choix de la plage des longueurs d'onde qui nous intéresse, visible - proche infrarouge (VIS-IR), est défini à partir de la fenêtre thérapeutique qui dépend des chromophores composant les tissus biologiques et de la longueur d'onde. Cette fenêtre correspond à une zone où les chromophores sont les moins absorbants pour permettre aux photons d'explorer en profondeur les tissus biologiques.

### Coefficient de diffusion

Les tissus biologiques sont des milieux hétérogènes et très diffusants. La lumière qui se déplace dans ces milieux subit plusieurs événements de diffusion. Ces diffusions multiples entraînent des changements de direction de la lumière dus aux différents dioptries liés à la composition structurale du milieu de propagation. Ces diffusions multiples provoquent également une atténuation de l'intensité lumineuse dans la direction d'observation caractérisée par le coefficient de diffusion  $\mu_s(\lambda)$ .

Dans un milieu diffusant, la probabilité que la lumière soit diffusée est formulée de la façon suivante :

$$dp = \mu_s dl$$

avec  $dp$  la probabilité de diffusion,  $\mu_s$ , le coefficient de diffusion en [ $cm^{-1}$ ] et  $dl$  indiquant la distance parcourue moyenne par la lumière diffusée en [cm].

On peut définir le libre parcours moyen  $l_s$ . C'est le chemin parcouru par la lumière avant qu'elle ne soit diffusée.

$$l_s = \frac{1}{\mu_s}$$

Selon les dimensions des particules diffusantes du milieu par rapport à la longueur d'onde de la lumière incidente  $\lambda$ , la résolution des équations de Maxwell dans une sphère conduit à trois « régimes » différents de diffusion dans une sphère (voir Fig.1.6).

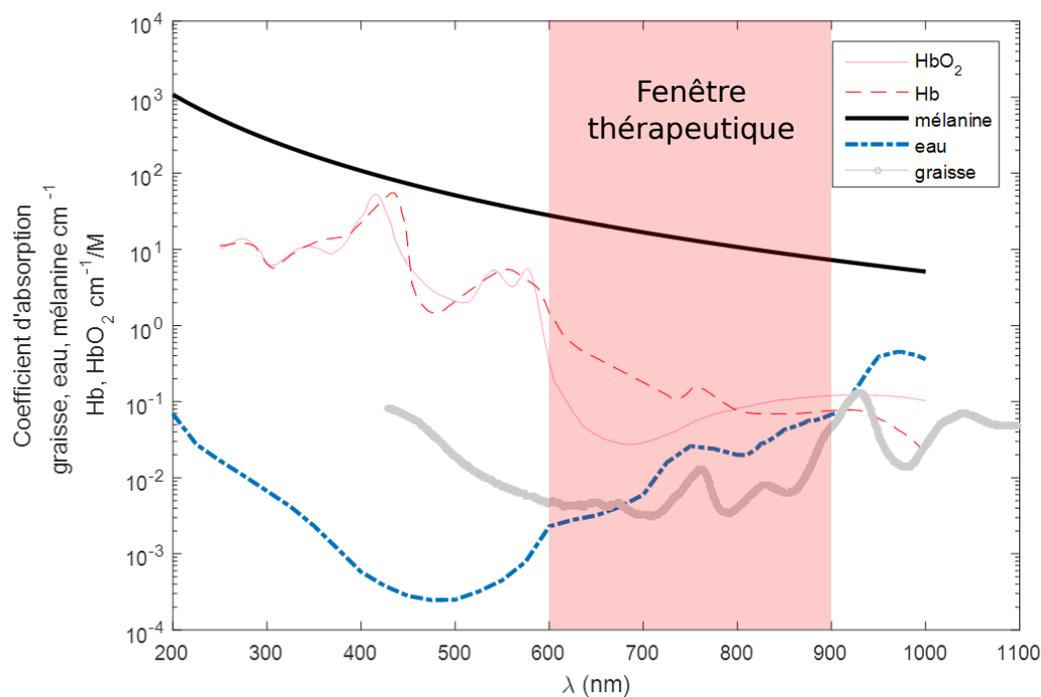


FIGURE 1.5 – Coefficient d’absorption des différents chromophores de la peau. Les données sont tirées de [Prahl and Jacques, 2018]

1. La diffusion de Rayleigh est appliquée à des tailles de particules diffusantes  $p$  très inférieures à  $\lambda$  (voir Fig.1.7 (a))
2. La théorie de Mie est appliquée à des tailles de particules diffusantes  $p$  proches de  $\lambda$  (voir Fig.1.7 (b) et (c))
3. Les lois d’optique géométrique permettent de traiter le cas des particules de taille  $\gg \lambda$

### Facteur d’anisotropie et fonction de phase

La diffusion peut entraîner une perte d’énergie lorsque la lumière rencontre une particule, on parle de diffusion *inélastique* autrement on parle de diffusion *élastique*. Lors d’une diffusion élastique, la fonction de phase  $p(\Omega, \Omega')$  définit la probabilité que la lumière incidente, dans la direction  $\Omega$ , soit diffusée dans un angle solide  $d\Omega$  centré sur la direction  $\Omega'$  (voir Fig. 1.8).

Cette fonction de phase est souvent normée à 1 :

$$\int_{4\pi} p(\Omega, \Omega') d\Omega = 1 \quad (1.6)$$

Le facteur d’anisotropie du milieu  $g$  indique la direction du photon en fonction de l’angle de diffusion. Il intervient au moment de la diffusion de la lumière. Il est formulé de la façon

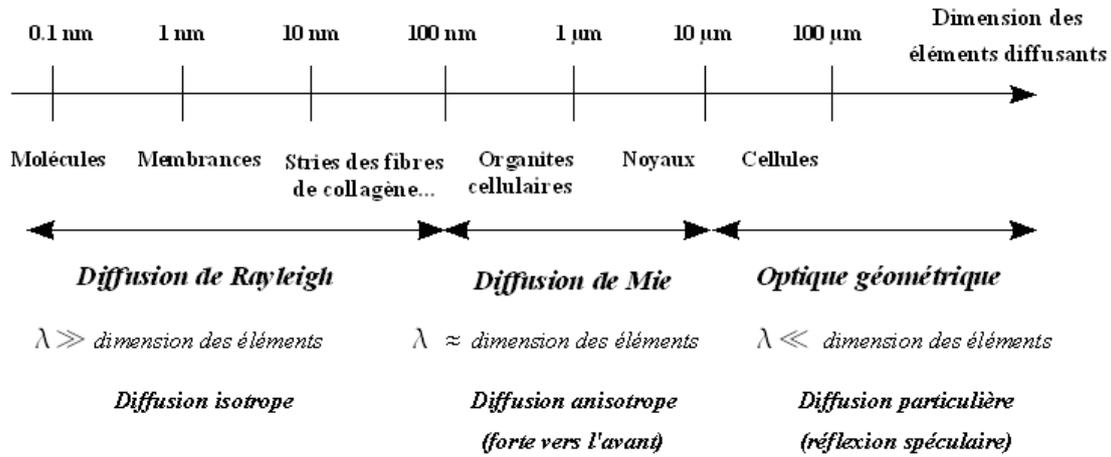


FIGURE 1.6 – Résumé des différents types de régimes de diffusion [Péry, 2007]

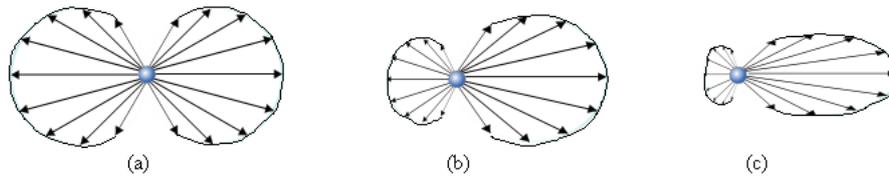


FIGURE 1.7 – Direction de propagation de la lumière en fonction du régime de diffusion : (a) Rayleigh, (b) Mie pour de petites particules, (c) Mie pour de grosses particules [Péry, 2007]

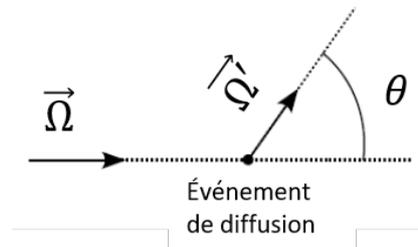


FIGURE 1.8 – Événement de diffusion avec l'angle  $\theta$ ,  $\Omega$  et  $\Omega'$  les directions avant et après diffusion de la lumière.

suivante :

$$g = \frac{1}{4\pi} \int_{4\pi} \cos \theta \cdot p(\Omega, \Omega') d\Omega = \langle \cos \theta \rangle \quad (1.7)$$

avec :

$p(\Omega, \Omega')$  la fonction de phase,

$\theta$  l'angle,

$\Omega$  la direction initiale,  $\Omega'$  la direction finale.

La valeur du facteur d'anisotropie  $g$  varie entre -1 et 1 [Tuchin, 2007] :

- Pour  $g = 0$ , la diffusion du faisceau incident est isotrope, c'est-à-dire que la lumière est diffusée dans toutes les directions. La diffusion de Rayleigh peut être appliquée car elle décrit une diffusion isotrope de la lumière [Rayleigh, 1871].
- Pour  $g = 1$ , la diffusion du faisceau incident est totalement diffusée vers l'avant. Cela signifie que le faisceau se propage dans la direction incidente. La théorie de Mie peut être appliquée car elle permet de modéliser la diffusion anisotrope pour des particules sphériques [Mie, 1908].
- Pour  $g = -1$ , la diffusion du faisceau incident est totalement rétrodiffusée. Le faisceau se propage dans le sens inverse à la direction incidente. Ce cas ne s'applique pas aux milieux biologiques.

Dans le cas des tissus biologiques, le coefficient d'anisotropie  $g$  varie généralement entre 0,7 et 0,97 ce qui indique que les photons sont très largement diffusés vers l'avant.

Plusieurs formes analytiques pour  $\rho$  et  $g$  sont définies dans la littérature.

Le coefficient d'anisotropie  $g$  peut s'écrire en fonction de la longueur d'onde  $\lambda$  [Tuchin, 2007] :

$$g(\lambda) = 1, 1 - 0.58 \times 10^{-3} \times \lambda \quad (1.8)$$

La fonction de phase peut s'exprimer avec la relation d'Henyey-Greenstein [Henyey and Greenstein, 1941] :

$$p_{HG}(\cos \theta) = \frac{1 - g^2}{(1 + g^2 - 2 \times g \cos \theta)^{3/2}} \quad (1.9)$$

La variation du coefficient de  $g$  est représentée sur la Fig. 1.9. Une autre fonction de phase, présentée ci-dessous, correspond à la forme modifiée d'Henyey-Greenstein :

$$p_{mHG}(\cos \theta) = \frac{1}{4\pi} \left[ \beta + (1 + \beta) \frac{(1 - g^2)}{(1 + g^2 - 2 \times g \cos \theta)^{3/2}} \right] \quad (1.10)$$

La fonction de phase basée sur les polynômes de Gegenbauer est une généralisation de la fonction d'Henyey-Greenstein [Hammer et al., 2001] :

$$p_{Gb}(\cos \theta) = \frac{\alpha g}{\pi a} \frac{(1 - g^2)^{2\alpha}}{[(1 + g)^{2\alpha} - (1 - g)^{2\alpha}] (1 + g^2 - 2 \times g \cos \theta)^{1+\alpha}} \quad (1.11)$$

où :

$$g \leq 1,$$

$$\alpha > -\frac{1}{2}, a \text{ est l'albédo.}$$

C'est l'expression d'Henyey-Greenstein  $\rho_{HG}$  (1.9) que nous avons utilisée dans nos travaux de thèse.

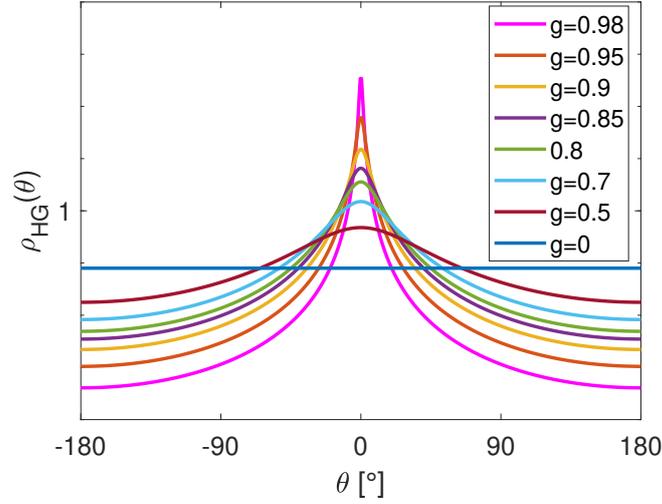


FIGURE 1.9 – Diffusion du faisceau incident décrit par la fonction de phase  $\rho_{HG}(\theta)$  en fonction du coefficient d'anisotropie  $g$  [Henyey and Greenstein, 1941]

### Coefficient de diffusion réduit

Pour prendre en compte l'anisotropie du milieu, on définit le coefficient de diffusion réduit  $\mu'_s$  [ $cm^{-1}$ ] par la relation suivante :

$$\mu'_s = \mu_s (1 - g)$$

avec  $\mu_s$  le coefficient de diffusion [ $cm^{-1}$ ] et  $g$  le coefficient d'anisotropie (sans dimension).

On peut introduire une grandeur similaire à  $l_s$ ,  $l'_s$  en [ $cm$ ] :

$$l'_s = \frac{1}{\mu'_s}$$

$l'_s$  représente le chemin moyen parcouru par le photon avant qu'il ne subisse suffisamment de diffusion pour perdre la mémoire de sa direction initiale de propagation.

### Paramètres de fluorescence

La fluorescence est un phénomène d'émission d'un photon d'énergie  $E(\lambda^{\text{emi}})$  faisant suite à l'absorption d'un photon d'énergie  $E(\lambda^{\text{exc}} > E(\lambda^{\text{emi}}))$ . La longueur d'onde du photon absorbé correspond à la longueur d'excitation  $\lambda^{\text{exc}}$  et la longueur d'onde du nouveau photon réémis correspond à la longueur d'onde d'émission  $\lambda^{\text{emi}} > \lambda^{\text{exc}}$ . Le temps de vie de fluorescence ou la durée de vie de fluorescence est défini par le temps écoulé entre le moment de l'absorption du photon incident et de l'émission du photon de fluorescence. Le phénomène de fluorescence est donc radiatif puisque la perte d'énergie conduit à l'émission d'un photon. Le diagramme de Jablonski illustre cela Fig. 1.10.

Nous appelons fluorophores les constituants de la peau (chromophores par exemple) qui possèdent des propriétés de fluorescence. Chaque fluorophore est caractérisé par des spectres d'absorption et d'émission qui lui sont propres et qui montrent la distribution de probabilités des transitions énergétiques. Par exemple, si le fluorophore possède un pic d'absorption (i.e. excitation) à une longueur d'onde  $\lambda_0$ , cela indique que lors de l'absorption d'un photon, la

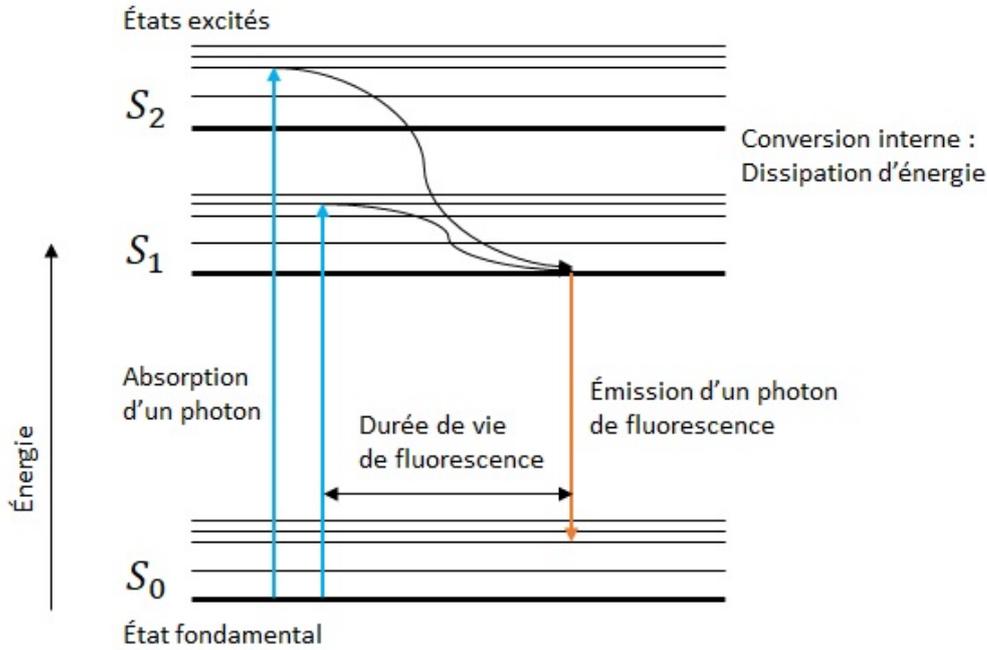


FIGURE 1.10 – Diagramme de Jablonski : émission d'un photon de fluorescence [Tuchin, 2007]

probabilité d'émission d'un nouveau photon à cette longueur d'onde d'excitation  $\lambda_0$  est très élevée.

L'intensité de fluorescence correspond, dans notre étude, au nombre de photons émis par longueur d'onde  $\lambda$  dans des conditions d'excitation données. Ce nombre est proportionnel au nombre de fluorophores présents dans le milieu et sa concentration  $cf$ . Ceci permet une analyse quantitative .

Le rendement quantique  $\xi$  correspond au rapport entre le nombre de photons émis  $\gamma_{\text{émis}}$  et le nombre de photons absorbés  $\gamma_{\text{absorbés}}$ . Il indique la probabilité qu'un photon excité entraîne l'émission d'un nouveau photon.

$$\xi = \frac{\gamma_{\text{émis}}}{\gamma_{\text{absorbés}}} \quad (1.12)$$

Le rendement quantique varie en fonction de l'environnement du milieu, c'est-à-dire de la température, du pH, etc [Toussaint, 2016].

Pour conclure, les paramètres caractérisant un fluorophore présent dans le milieu de propagation sont le spectre absorption  $\mu_{a,f}(\lambda)$  où  $f$  désigne le fluorophore, le spectre d'émission, la concentration  $cf$  et le rendement quantique  $\xi$ .

La figure 1.11 illustre un spectre d'émission de fluorescence mesuré par l'instrument décrit dans le paragraphe 1.4.

Le prochain paragraphe se focalise sur la peau qui est l'objet d'étude de la thèse. La structure et les propriétés optiques de la peau seront développées ainsi que les modifications provoquées par des lésions cutanées, notamment cancéreuses. Des méthodes optiques de détection de ces lésions seront présentées.

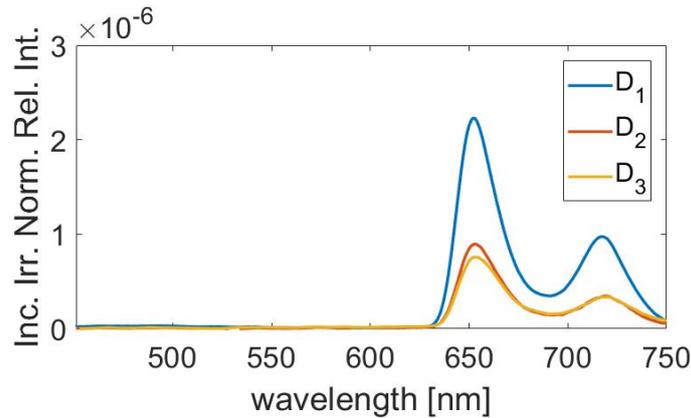


FIGURE 1.11 – Exemple d'un spectre d'émission de fluorescence mesuré.

## 1.3 Méthodes optiques pour le diagnostic *in vivo* des cancers de la peau

### 1.3.1 Physiopathologie et optique cutanée

#### Structure de la peau

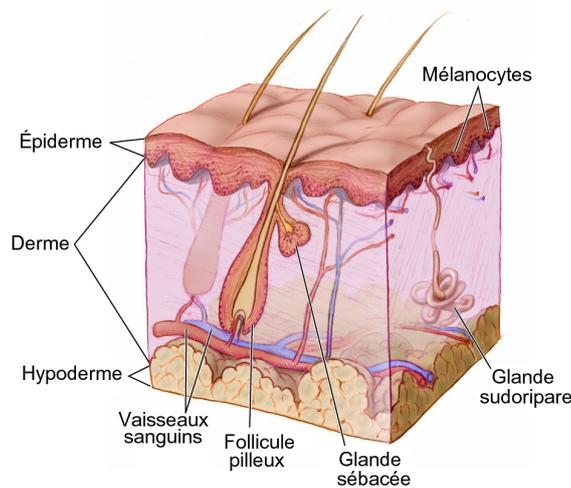


FIGURE 1.12 – Représentation schématique de la peau sous forme de trois couches : épiderme, derme et hypoderme. Image réalisée par le National Cancer Institute.

La peau, avec son organisation stratifiée, est l'organe le plus étendu et le plus lourd du corps humain. Les trois couches principales qui la composent sont l'épiderme, le derme et l'hypoderme (Fig. 1.12). Elles sont elles-mêmes composées de sous-couches.

Les photons pénétrant les tissus cutanés sont limités par les chromophores présents dans le milieu. Dans le cadre de la présente thèse, nous nous intéressons aux deux premières couches qui sont les couches sondées à l'aide de l'outil de spectroscopie.

| Fluorophores | $\lambda^{\text{exc}}$ [nm] | $\lambda^{\text{emi}}$ [nm] | Références               |
|--------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| Collagène    | 335 et 370                  | 380 et 460                  | [Kollias et al., 2002]   |
|              | 380 - 420                   | 440 - 500                   | [Borisova et al., 2012b] |
| Élastine     | 420 et 460                  | 500 et 540                  | [Kollias et al., 2002]   |
|              | 320 - 360, 400              | 480 - 520                   | [Borisova et al., 2012b] |
| NAD/NADH     | 350                         | 460                         | [Kollias et al., 2002]   |
| Flavine      | 450                         | 500 - 540                   | [Borisova et al., 2012b] |
| Porphyrine   | 405                         | 600                         | [Kollias et al., 2002]   |
|              | 400 - 450, 630              | 635 - 690, 704              | [Borisova et al., 2012b] |
| Tryptophane  | 295                         | 340 - 350                   | [Kollias et al., 2002]   |
| Kératine     | 370                         | 460                         | [Kollias et al., 2002]   |
|              | 450 - 470                   | 500 - 530                   | [Borisova et al., 2012b] |

Tableau 1.1 – Résumé des principaux fluorophores de la peau, avec  $\lambda^{\text{exc}}$  les pics des longueurs d’onde d’excitation et  $\lambda^{\text{emi}}$  les pics des longueurs d’onde d’émission de fluorescence.

Chaque couche de la peau est constituée de cellules et d’une matrice extracellulaire (regroupe l’ensemble des éléments situés entre les cellules du tissu et formant le tissu conjonctif) dont certains éléments appelés chromophores (ex : l’hémoglobine, l’oxyhémoglobine, la mélanine, l’eau et la graisse) contribuent au coefficient d’absorption  $\mu_a(\lambda)$  global. Par exemple, l’épiderme n’est pas vascularisé, n’est pas structuré par matrice mais contient beaucoup de cellules telles que la mélanine, responsable de la couleur de la peau et c’est un chromophore très absorbant dans les UV. Le derme, lui, est vascularisé et composé d’une matrice de collagène et d’élastine. Il contient entre autres de l’hémoglobine et de l’oxyhémoglobine.

À partir de l’absorption des chromophores en fonction de la longueur d’onde, on peut introduire une plage de longueurs d’onde entre 600 et 900 nm appelée la fenêtre thérapeutique ou la fenêtre Red-NIR (Near InfraRed pour proche InfraRouge) [Wilson and Jacques, 1990]. Cette zone correspond à l’absorption la plus basse pour les chromophores, c’est-à-dire que la lumière va pouvoir pénétrer plus profondément les tissus (voir figure 1.5).

Plusieurs fluorophores sont présents dans la peau et portent une information permettant de caractériser sa composition. Le tableau 1.1 récapitule l’ensemble des fluorophores avec leur longueur d’onde d’excitation  $\lambda^{\text{exc}}$  et leur longueur d’onde d’émission  $\lambda^{\text{emi}}$ .

L’expression du coefficient d’absorption  $\mu_a(\lambda)$  suivante est mentionnée par Meglinski [Meglinski and Matcher, 2002] et Zhang [Zhang et al., 2005] :

$$\mu_a(\lambda) = (7,84 \times 10^7) \times \lambda^{-3,225} \text{mm}^{-1} \quad (1.13)$$

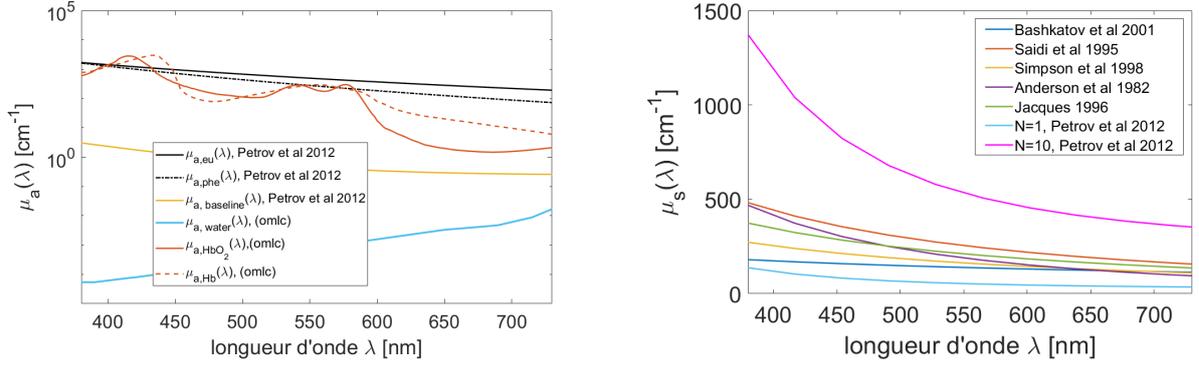


FIGURE 1.13 – Propriétés optiques de la peau extraites de la littérature : à gauche le coefficient d’absorption  $\mu_a(\lambda)$  pour les principaux chromophores (eu : eumélanine, phe : phéomélanine,  $HbO_2$  et Hb oxy- et déoxy- hémoglobines) et à droite, le coefficient de diffusion  $\mu_s(\lambda)$  de l’épiderme et du derme.

Des modèles de courbe spectrale de  $\mu_a$  ont été proposés par différentes équipes. Le coefficient d’absorption d’un tissu correspond à la somme de toutes les absorptions des chromophores contenus dans ce tissu [Jacques, 2013] :

$$\mu_a(\lambda) = \ln(10) \sum_i C_i \varepsilon_i(\lambda) \quad (1.14)$$

avec  $C_i$  (M) la concentration du  $i$ -ème chromophore et  $\varepsilon_i$  ( $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ ) le coefficient d’extinction du  $i$ -ème chromophore.

Le terme  $\ln(10)$  provient du fait qu’historiquement,  $\varepsilon$  était enregistré en base 10 [Jacques, 2013]. À partir de l’expression ci-dessous :

$$e^{-\mu_a L} = 10^{-\varepsilon C L}$$

On applique une fonction logarithmique et on retrouve ainsi le  $\ln(10)$  :

$$\mu_a = \ln(10) \times \varepsilon C$$

Lorsque la composition exacte du tissu n’est pas connue, l’expression suivante peut être utilisée [Jacques, 2013].

$$\mu_a(\lambda) = \sum_i f_v^i \mu_a^i(\lambda) \quad (1.15)$$

avec  $f_v^i$  (sans unité) la fraction volumique d’un composant du tissu.

Le mélange des deux expressions précédentes (1.14) et (1.15) est également possible pour calculer le coefficient d’absorption global d’un tissu [Jacques, 2013].

Les combinaisons équations paramétriques présentées ci-dessous permettent de caractériser la diffusion de l’épiderme et du derme et ont été validées pour des longueurs d’onde comprises entre 400 et 1300 nm en  $[\text{cm}^{-1}]$  [Jacques, 2013].

$$\mu'_s(\lambda) = a \left( \frac{\lambda}{500 \cdot 10^{-9}} \right)^{-b} \quad (1.16)$$

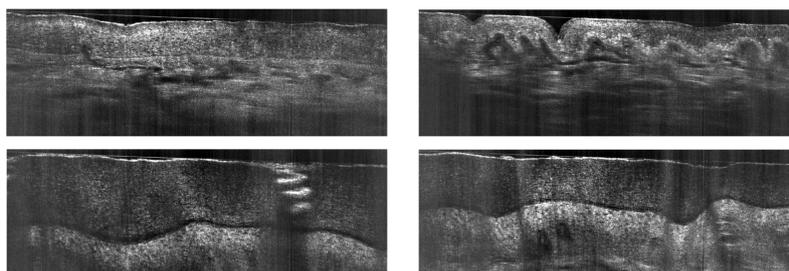


FIGURE 1.14 – Images d’OCT du dessus et de la paume de la main pour illustrer les variations en fonction de l’épaisseur de la peau avec la permission de DAMAE Medical ([www.damaemedical.fr](http://www.damaemedical.fr))

Une moyenne de chaque coefficient  $a$  et  $b$  a été réalisée pour les tissus cutanés avec  $a = 46 \text{ cm}^{-1}$ ,  $b = 1,421$  (Table 2 [Jacques, 2013]).

$$\mu'_s(\lambda) = a' \left( f_{Ray} \left( \frac{\lambda}{500 \cdot 10^{-9}} \right)^{-4} + (1 - f_{Ray}) \left( \frac{\lambda}{500 \cdot 10^{-9}} \right)^{-b_{Mie}} \right) \quad (1.17)$$

L’équation (1.17) tient compte de la diffusion Rayleigh avec le terme  $f_{Ray}$  et de la théorie de Mie avec le terme  $b_{Mie}$ .

D’après [Calabro and Bigio, 2014], pour des faibles distances SD, les mesures de réflectance ne dépendent pas uniquement des paramètres optiques  $\mu'_s$  et  $\mu_a$  mais aussi de la forme de la fonction de phase qui change en fonction du tissu.

Plusieurs équipes utilisent la fonction de phase de Henyey-Greenstein et fixent leur facteur d’anisotropie soit à 0,8 [Kienle and Glanzmann, 1999, Karlsson et al., 2011, Sharma and Banerjee, 2005] soit à 0,9 [Liemert and Kienle, 2012, Liu and Ramanujam, 2006]. Dans notre étude, nous utiliserons donc la fonction de phase de Henyey-Greenstein et pour le facteur d’anisotropie  $g$ , nous avons utilisé  $g = 0,85$  qui correspond à la moyenne des extrêmes des facteurs d’anisotropie  $g$ .

La réponse spectrale varie en fonction de l’indice de réfraction, lui-même modifié selon la morphologie du tissu (sain ou cancéreux par exemple). Pour les tissus biologiques, l’indice de réfraction varie entre 1,35 et 1,4. Dans notre étude, l’indice de réfraction de la peau est fixé à 1,37 pour chaque couche qui correspond à la moyenne des plages de variation des tissus biologiques.

## Épiderme et derme

L’**épiderme** est la couche visible de la peau. Il permet d’être protégé des corps indésirables et aussi d’absorber des rayons UV nocifs. Les cellules présentes en grande majorité sont les kératinocytes et les mélanocytes. Les kératinocytes produisent la kératine. Les mélanocytes produisent la mélanine. La mélanine sert à protéger la peau des rayons UV. Nous pouvons distinguer deux types de mélanine : l’eumélanine et la phéomélanine. La mélanine se positionne en forme de parasol au-dessus des kératinocytes pour réduire les interactions des UV avec les kératinocytes.

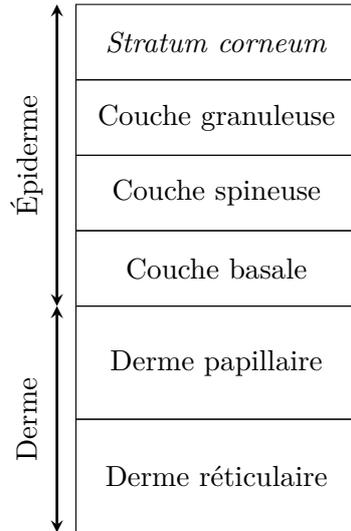


FIGURE 1.15 – Schéma de la stratification de la peau avec les couches détaillées de l'épiderme et du derme.

L'épiderme se divise en plusieurs sous-couches : la couche cornée ou *stratum corneum*, la couche granuleuse, la couche spineuse et la couche basale. L'épaisseur de ces couches varie en fonction de la localisation. Par exemple, la peau est plus épaisse sur la paume de la main, contrairement à l'avant-bras où elle est plus fine, et au niveau du visage, l'épaisseur de la peau change aussi. L'épiderme peut aussi être séparé en deux entre le *stratum corneum* (environ  $20 \mu\text{m}$  d'épaisseur) et l'épiderme vivant (environ  $100 \mu\text{m}$  d'épaisseur). On peut encore affiner la description de ces couches. Le *stratum corneum* est en contact direct avec l'environnement extérieur. Il est composé de cellules mortes de kératinocytes. Ensuite, les deux couches suivantes, la couche granuleuse et la couche spineuse, ont une organisation cellulaire qui leur est propre. La dernière couche est la jonction dermo-épidermique ou membrane basale épidermique. Elle indique la séparation entre l'épiderme et le derme et son épaisseur varie entre 50 et 200 nm [Bordier, 2007].

L'absorption la plus importante est celle de la mélanine. Le coefficient d'absorption de la mélanine (mel) varie en fonction du phénotype de la peau. Pour une peau claire, ce coefficient est plus faible que celui d'une peau sombre.

Pour calculer le coefficient d'absorption de la mélanine, il est possible de prendre en compte les deux principaux types de mélanine : l'eumélanine (eu) et la phéomélanine (phe). Le ratio entre les concentrations en eumélanine et phéomélanine varie en fonction des individus [Krishnaswamy and Baranoski, 2004]. Des expressions analytiques issues de la littérature, les coefficients d'extinction sont exprimés en  $[\text{cm}^2 \text{mol}^{-1}]$  [Jacques, 2013] :

$$\varepsilon_{eu}(\lambda) = (2,37 \times 10^4) \cdot 10^{-0,0056\lambda} \quad (1.18)$$

$$\varepsilon_{phe}(\lambda) = (1,01 \times 10^5) \cdot 10^{-0,0078\lambda} \quad (1.19)$$

À partir de ces expressions, en utilisant l'équation (1.14), on peut calculer le coefficient d'absorption de l'épiderme dont la mélanine est le principal absorbeur  $\mu_a^{mel}$  [Jacques, 2013] :

$$\mu_a^{mel}(\lambda) = \ln(10) [C_{eu}\varepsilon_{eu}(\lambda) + C_{phe}\varepsilon_{phe}(\lambda)] \quad (1.20)$$

Une autre manière simplifiée de calculer le coefficient d'absorption de la mélanine a été proposé par Meglinski [Meglinski and Matcher, 2002] en [ $mm^{-1}$ ] :

$$\mu_a^{mel}(\lambda) = (5 \times 10^9) \times \lambda^{-3,33} \quad (1.21)$$

Le tableau 1.2 récapitule les propriétés optiques publiées dans la littérature pour l'épiderme et ses différentes couches.

| Nom de la couche | $\lambda$ [nm] | $L$ [ $\mu m$ ] | $\mu_s$ | $g$  | $n$  | ref. |
|------------------|----------------|-----------------|---------|------|------|------|
| Stratum Corneum  | 632,8          | 20              | 1000    | 0,86 | 1,5  | 1    |
|                  | 1300           |                 |         |      | 1,52 | 2    |
|                  | 400 - 700      |                 |         |      | 1,55 | 3    |
|                  |                | 24              |         |      |      | 4    |
| Épiderme vivant  | 632,8          | 80              | 450     | 0,8  | 1,34 | 5    |
|                  | 1300           |                 |         |      | 1,34 | 6    |
|                  |                | 43              |         |      |      | 7    |
| Épiderme         | 325 - 633      |                 |         |      | 1,45 | 8    |
|                  |                | 27 - 150        |         |      |      | 9    |

Tableau 1.2 – Propriétés optiques (diffusion) détaillées de l'épiderme, avec  $L$  l'épaisseur moyenne.

Le **derme** est une couche vascularisée contrairement à l'épiderme, fibreuse. Il est composé principalement de cellules de fibroblastes. Les fibroblastes produisent deux protéines, le collagène et l'élastine, présentant des propriétés de fluorescence (voir Tab. 1.1) et participant à la structure du derme. Son épaisseur varie entre 1 et 2  $mm$  en fonction de la zone corporelle. Le derme se divise en deux sous-couches : le derme papillaire et le derme réticulaire. Le derme papillaire est la couche supérieure du derme en contact avec l'épiderme. Le derme réticulaire est la couche inférieure du derme en contact avec le tissu adipeux de l'hypoderme.

L'hémoglobine (Hgb), présente dans le derme, indique la vascularisation du milieu et possède des propriétés absorbantes. C'est l'absorbant le plus absorbant du derme (voir Fig. 1.5). Il est principalement composé de deux chromophores : la désoxyhémoglobine (Hb) et l'oxyhémoglobine (HbO<sub>2</sub>). La quantité de ces deux composants varie en fonction de  $F$  et  $S$ , qui désignent, respectivement, la fraction volumique moyenne du sang et la saturation en oxygène dans les vaisseaux

- 
1. [Meglinski and Matcher, 2002]
  2. [Lister et al., 2012]
  3. [Liu, 2012]
  4. Mesure Exp.
  5. [Meglinski and Matcher, 2002]
  6. [Lister et al., 2012]
  7. Mesure Exp.
  8. [Ding et al., 2006]
  9. [Bordier, 2007]

et sont sans unité. Ainsi, nous pouvons exprimer le coefficient d'absorption du derme à partir des équations (1.14) et (1.15) [Jacques, 2013] :

$$\mu_a^{Hgb}(\lambda) = \ln(10) [FS \times C_{HbO_2} \varepsilon_{HbO_2}(\lambda) + F(1 - S) \times C_{Hb} \varepsilon_{Hb}(\lambda)] \quad (1.22)$$

$$\mu_a^{Hgb}(\lambda) = [FS \times \mu_a^{HbO_2}(\lambda) + F(1 - S) \times \mu_a^{Hb}(\lambda)] \quad (1.23)$$

Le tableau 1.3 récapitule les propriétés optiques du derme.

| Nom de la couche | $\lambda$ [nm] | L [ $\mu m$ ] | $\mu_s$ | $g$  | $n$ | $F$  | ref. |
|------------------|----------------|---------------|---------|------|-----|------|------|
| Derme supérieur  | 632,8          | 150           | 300     | 0,9  | 1,4 | 0,04 | 10   |
|                  |                | 131           |         |      |     |      | 11   |
| Derme inférieur  | 632,8          | 1500          | 250     | 0,8  | 1,4 | 0,04 | 12   |
|                  |                | 1300          |         |      |     |      | 13   |
| Derme            | 325 - 633      |               |         | 1,39 |     |      | 14   |
|                  |                | 633           | 187     |      |     | 0,8  | 15   |

Tableau 1.3 – Propriétés optiques détaillées (diffusion) du derme.

## Lésions de la peau

Différentes lésions de la peau peuvent apparaître à la surface ou à l'intérieur de celle-ci. Ces lésions peuvent être localisées ou étendues. Les lésions qui nous intéressent dans cette thèse sont celles associées aux cancers de la peau. L'exposition au soleil est l'un des facteurs favorisant l'apparition de ce type de lésion. Les principaux cancers cutanés sont le carcinome basocellulaire, le carcinome spino-cellulaire ou épidermoïde et le mélanome.

Le **carcinome basocellulaire** concerne les kératinocytes qui constituent en majorité l'épiderme. C'est le cancer le plus fréquemment rencontré. Il représente 75% des cancers de la peau en France. Il se développe principalement au niveau du visage, par exemple au niveau du nez.

Le second est le **carcinome spino-cellulaire**, appelé aussi le carcinome épidermoïde cutané [Foundation, 2012]. Il peut avoir une évolution plus agressive que le carcinome basocellulaire. Il se développe au niveau du visage, cou, dos de la main principalement.

Le **mélanome** qui est le cancer de la peau le plus mortel. Le mélanome est aussi une tumeur maligne, plus rare mais plus mortelle.

- 
10. [Meglinski and Matcher, 2002]
  11. Mesure Exp.
  12. [Meglinski and Matcher, 2002]
  13. [Lister et al., 2012]
  14. [Liu, 2012]
  15. [Bordier, 2007]

Des lésions pré-cancéreuses telles que la **kératose actinique** peuvent être détectées. Elles se développent au niveau du visage et des mains. Les personnes les plus touchées possèdent un phototype I ou II, c'est-à-dire une peau très claire, et sont souvent exposées au soleil au cours de leur vie. L'intérêt d'un diagnostic à ce stade permet une meilleure prise en charge de la lésion pré-cancéreuse et d'éviter le développement d'un carcinome spinocellulaire.

Ces lésions prennent naissance au niveau de l'épiderme et ont tendance à se développer profondément vers le derme en entraînant une modification du milieu due à la prolifération des cellules tumorales. Cela renforce donc notre intérêt à se focaliser sur les couches de l'épiderme et du derme supérieur pour améliorer une prise en charge précoce de ces lésions et éviter le stade d'apparition des métastases. Les métastases (croissance cellulaire tumorale à distance du site primaire) sont problématiques notamment à cause des vaisseaux sanguins présents dans le derme. Le meilleur moyen actuellement de guérir d'un carcinome cutané est de réaliser une exérèse chirurgicale en délimitant à l'aide de marge la zone à retirer. Cette marge varie en fonction de la gravité de la tumeur et le but est de retirer suffisamment de tissus pour éviter une récurrence tout en limitant au mieux les dégâts fonctionnel et esthétique.

En fonction de l'état du tissu, les propriétés optiques du milieu sont modifiées. La prolifération des cellules cancéreuses augmente la diffusion du milieu et une atténuation de l'intensité spectrale transmise à travers les tissus est observée. La frontière entre différentes couches structurant la peau devient également plus floue.

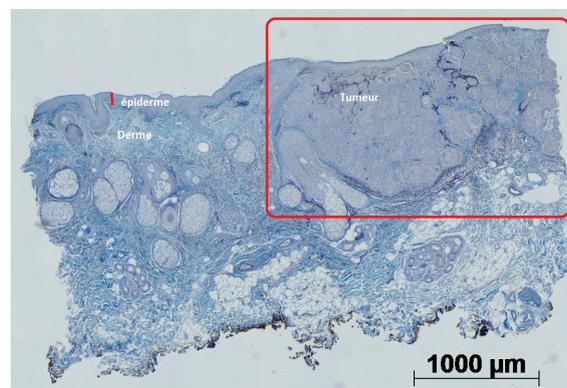


FIGURE 1.16 – Image d'une coupe histologique de la peau avec présence d'une tumeur réalisée par Samuel Louviot et Marine Amouroux.

Le sous-paragraphe suivant développe des méthodes basées sur la biopsie optique permettant de caractériser le tissu biologique et de détecter des anomalies dont la présence d'une tumeur.

### 1.3.2 Méthodes optiques pour le diagnostic *in vivo* de la peau

Des techniques de biopsie optique actuellement utilisées sont présentées succinctement ci-dessous.

La **dermatoscopie** (ou dermoscopie) est un examen réalisé par un dermatologue sur une région cutanée à l'aide d'un dermatoscope ou d'un vidéo-dermoscope. Le dermatoscope per-

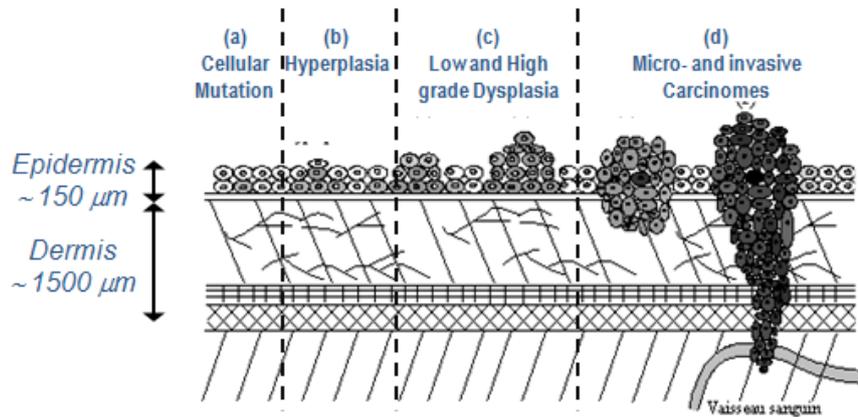


FIGURE 1.17 – Représentation schématique des différents états de la progression du cancer à travers l'épiderme et le derme : a) Mutation cellulaire, b) Hyperplasie, c) Dysplasie, d) Carcinomes [Valette and Bourg-Heckly, 2002]

met de grossir la zone observée à l'aide d'une lentille grossissante et d'une source lumineuse [Nachbar et al., 1994]. La profondeur visitée peut atteindre, pour les tissus cutanés, la limite épiderme - derme, invisible à l'œil nu. Les dermatoscopes récents utilisent une source lumineuse polarisée linéairement. Il existe sur le marché différents dermatoscopes tel que Fotofinder.

La **spectroscopie Raman** est un outil qui permet d'étudier la composition moléculaire des tissus (signatures vibrationnelles). Elle est basée sur la diffusion inélastique. La profondeur visitée par les photons est faible. Elle se limite aux couches superficielles de l'épiderme. Le principal inconvénient est le signal mesuré qui est faible et qui peut être masqué par la présence d'autofluorescence. Malgré les problèmes liés au signal Raman, cette technique prometteuse est en développement [Caspers et al., 2003, Lui et al., 2012]. De plus, des méthodes de séparation de sources ont également été appliquées sur ce type de signaux provenant de biopsies de peaux [Vrabie et al., 2007]. Les bandes obtenues à partir de la spectroscopie Raman permet ainsi de distinguer un tissu tumoral, par exemple un carcinome basocellulaire, d'un tissu sain avec une sensibilité proche de 100 % et une spécificité supérieure à 90 % [Mogensen and Jemec, 2007, Shaikh et al., 2017]. Les termes sensibilité et spécificité sont définis dans le sous-paragraphe 1.4.2. La spectroscopie Raman peut également être utilisée pour définir les marges lors d'une résection chirurgicale [Feng et al., 2019].

L'équipe de Tunnell *et al.* a beaucoup travaillé sur la spectroscopie Raman [Sharma et al., 2014]. Ils ont également proposé une spectroscopie multimodale combinant plusieurs modalités : réflectance diffuse, Raman et autofluorescence en exploitant une seule distance source-détecteur et une seule longueur d'onde d'excitation [Lim et al., 2014].

La **Tomographie par Cohérence Optique** (OCT pour *Optical Coherence Tomography*) est une technique d'imagerie sensible aux variations d'indice, i.e. aux dioptries. Elle permet d'accéder à l'information structurale du tissu, notamment entre l'épiderme et la jonction dermo-épidermique, à partir de différentes images en coupe transversales de la peau. La profondeur maximale explorée par les photons se situe entre  $700 \mu\text{m}$  et  $1 \text{ mm}$  environ [Mordon, 2005, Dubois et al., 2018b, Dubois et al., 2018a].

Dans le cas d'un carcinome basocellulaire invasif, la délimitation de la marge chirurgicale est difficile à déterminer par OCT à cause de la faible profondeur explorée. Cependant, l'OCT peut être couplée à une technique de sensibilité à la polarisation. Cette méthode permet la distinction entre tissu sain et tissu tumoral et ainsi de délimiter des marges chirurgicales pour un carcinome basocellulaire invasif [Mogensen and Jemec, 2007].

L'institut Langevin travaille sur la tomographie optique cohérente, notamment sur l'accès au tissu profond *in vivo* [Mazlin et al., 2017].

La **Spectroscopie de Réflectance Diffuse** (SRD) ou *Diffuse Reflectance Spectroscopy* (**DRS**) consiste à éclairer la peau, en lumière blanche, un tissu biologique (ici la peau) et à mesurer avec un spectrophotomètre, à différentes distances du point source (distance source-détecteur ou distance SD). On obtient ainsi le spectre de la lumière rétrodiffusée par le tissu. Le dispositif mesure le signal pour un certain nombre de distances source-détecteur. En fonction de la résolution axiale représentée par la distance SD, la profondeur visitée varie. Généralement, la profondeur maximale visitée, dans le cadre de l'étude des tissus cutanés, se situe au niveau du derme. Plusieurs travaux portant sur le sujet sont disponibles dans la littérature [de Boer et al., 2018, Wilson and Jacques, 1990, Hennessy et al., 2015, Kanick et al., 2011, Keller et al., 2018]

La **Spectroscopie d'Autofluorescence / de Fluorescence** donne des informations sur la composition des fluorophores présents dans les tissus sondés en fonction de la longueur d'onde d'excitation  $\lambda^{exc}$ . La profondeur maximale visitée dépend fortement de la longueur d'onde d'excitation  $\lambda^{exc}$ .

Les techniques d'autofluorescence sont utilisées pour détecter différentes anomalies de la peau, en particulier pour la détection de tumeur [Borisova et al., 2012b, Brancalion et al., 2001]. Il est possible également d'introduire un fluorophore exogène et d'éliminer l'autofluorescence des tissus biologiques pour détecter des tumeurs situées en profondeur. Pour éliminer l'autofluorescence naturelle de la peau, les méthodes de séparation de sources en aveugle sont efficaces [Montcuquet et al., 2011, Brancalion et al., 2001, Brancalion et al., 1999].

## Agent de clarification optique

L'Agent de Clarification Optique (ACO) ou *Optical Clearing Agent* est une solution hyperosmotique qui modifie la structure et les propriétés optiques des tissus [Zhu et al., 2013][Sdobnov et al., 2018]. Cet agent permet d'améliorer l'estimation des propriétés optiques des couches inférieures et de réduire la diffusion dans les tissus. La peau devient transparente. Vargas *et al.* ont montré que l'ACO rend la peau moins diffusante et trouble pour les longueurs d'onde visibles [Vargas et al., 1999]. Plusieurs études montrent l'amélioration de l'imagerie et des spectres en profondeur. Pires *et al.* ont montré que l'utilisation d'un ACO topique améliore la résolution du contraste et la localisation de la tumeur [Pires et al., 2016]. Peu d'études portent sur l'impact de l'autofluorescence mesurée pour une longueur d'onde d'excitation en raison de l'utilisation de compositions ACO différentes [Migacheva et al., 2010]. Une étude est réalisée en utilisant cet agent dans le but d'améliorer l'estimation des paramètres optiques de la deuxième couche d'un milieu bicouche dans le chapitre 4. Les données de cette étude sont également utilisées pour extraire de l'information sur la cinétique des fluorophores présents dans la peau et sur la diffusion de l'ACO en utilisant une méthode de séparation de sources en aveugle.

Après avoir développé quelques techniques de caractérisation du tissu cutané, nous allons, dans le paragraphe suivante, spécifier l'instrument utilisé pour réaliser l'acquisition des mesures.

## 1.4 Étude et dispositif SpectroLive

### 1.4.1 Problématique - positionnement - Essai clinique

L'application clinique de notre étude est l'aide à la détection d'anomalie des tissus cutanés et en particulier l'aide au contourage chirurgical. Le but est d'aider le chirurgien à définir sa marge avant la résection du tissu cancéreux sans passer par un examen d'anatomopathologie. Notons qu'après une résection chirurgicale, un autre examen peut être réalisé pour vérifier l'état du tissu. L'examen d'anatomopathologie est un examen efficace, mais qui peut poser des désagréments aux patients tels que la présence de cicatrices. C'est également un examen coûteux, c'est pourquoi un instrument de spectroscopie, non-invasif et peu coûteux, a été développé pour proposer des informations en temps réel sur l'état du tissu.

L'analyse quantitative des spectres mesurés est un enjeu important, car cela permet d'avoir des informations plus précises sur l'état des tissus.

Nous nous intéressons dans le cadre de ce travail à l'exploitation des jeux de données issues de la **spectroscopie bimodale** regroupant les spectroscopies en **réflectance diffuse** et en **autofluorescence** résolue spatialement (RS) dont les principales caractéristiques technologiques et métrologiques sont introduites ci-après [Péry, 2007, Péry et al., 2009a, Liu et al., 2012, Nie et al., 2015, Volynskaya et al., 2008, Zhu et al., 2008, Jayanthi et al., 2011].

L'intérêt de notre approche, par rapport aux autres approches multimodales est que nous proposons 4 distances source-détecteurs et 5 longueurs d'onde d'excitation.

### 1.4.2 Dispositif expérimental : spectroscopie optique multimodale

Cet outil de diagnostic a été développé au sein du laboratoire CRAN et valorisé par le dépôt d'un brevet [Amouroux et al., 2015]. Cet instrument a servi à réaliser les mesures expérimentales tout au long de ces travaux de thèse.

Cet instrument d'acquisition est basé sur la spectroscopie multimodale résolue spatialement. Les deux modalités utilisées sont la réflectance diffuse (RD) et l'autofluorescence (AF) dans le but d'améliorer la caractérisation de l'état d'un tissu avec une augmentation de la sensibilité et de la spécificité. La sensibilité et la spécificité évaluent l'efficacité d'un diagnostic ou d'un test sur un ensemble de patients, sains ou malades. La sensibilité ( $Se$ ) est la probabilité de détecter les personnes malades, les vrais positifs, et la spécificité ( $Sp$ ) est la probabilité de détecter les personnes non-malades, les vrais négatifs.

$$Se = \frac{VP}{VP + FN} \quad (1.24)$$

$$Sp = \frac{VN}{VN + FP} \quad (1.25)$$

avec  $VP$  le nombre de vrais positifs,  $FN$  le nombre de faux négatifs,  $VN$  le nombre de vrais négatifs et  $FP$  le nombre de faux positifs.

Les intensités spectrales mesurées dépendent de la longueur d'onde  $\lambda$  et de la résolution spatiale, c'est-à-dire de la distance source-détecteur et du milieu de propagation.

### Configuration de la sonde optique

L'instrument est composé d'une sonde optique de forme circulaire composée de plusieurs fibres optiques. La fibre d'excitation (source lumineuse) a un diamètre de cœur de  $600 \mu\text{m}$  (disque jaune sur la Fig. 1.18) tandis que les fibres de détection possèdent un diamètre de cœur de  $200 \mu\text{m}$ . L'ON est égale à 0,22 pour l'ensemble des fibres optiques Si/Si<sup>16</sup> présentes dans le dispositif.

La fibre d'excitation est positionnée au centre de la sonde optique. Autour de cette fibre d'excitation, les fibres de détection sont placées sur 4 distances source-détecteurs, d'après la Fig.1.18 a)  $D_1 = 400 \mu\text{m}$  en bleu,  $D_2 = 600 \mu\text{m}$  en rouge,  $D_3 = 800 \mu\text{m}$  en orange et  $D_4 = 1000 \mu\text{m}$  en violet. Cela correspond ainsi à 4 anneaux de 6 fibres de détection par anneau (voir Fig. 1.18).

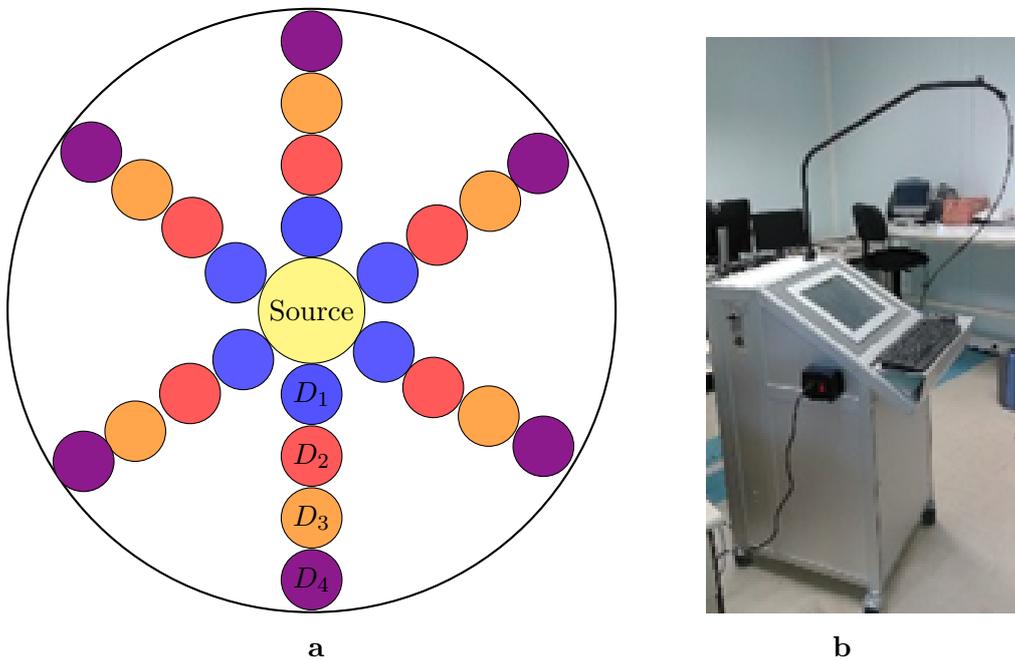


FIGURE 1.18 – **a** Configuration géométrique des fibres à l'extrémité de la sonde optique. La fibre d'excitation est placée au milieu (disque jaune) tout autour les fibres de détection. **b** L'appareil de SMMRS spectroscopie.

Pour réaliser une acquisition spectrale, la sonde optique est placée au contact du tissu cutané. Les photons provenant de la source lumineuse se propagent dans le milieu et subissent différents phénomènes physiques (voir le paragraphe 1.2). Les photons détectés par les fibres optiques portent des informations sur le milieu visité en fonction du chemin emprunté. En effet, les photons détectés par les fibres proches de la source ont visité les couches superficielles du milieu tandis que les photons détectés par les fibres les plus éloignées ont visité plus profondément le milieu sondé. Les signaux mesurés sont représentatifs des propriétés optiques (absorption, diffusion et fluorescence) du tissu, elles-mêmes modifiées par les transformations pathologiques du tissu. Plus la distance S-D est faible, plus le signal mesuré est fort. Plus la distance S-D augmente, plus les spectres mesurés contiennent des photons ayant parcouru le tissu en

16. Si indique la silice qui est le matériel utilisé pour fabriquer les fibres optiques

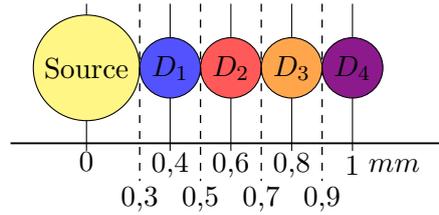


FIGURE 1.19 – Configuration de la sonde - distances entre la sources et les fibres de détection

profondeur (voir Fig. 1.20).

En fournissant des données informatives complémentaires sur la profondeur, la résolution spatiale a prouvé son efficacité pour améliorer la classification diagnostique basée sur les spectres de RD et d'AF [Abdat et al., 2012].

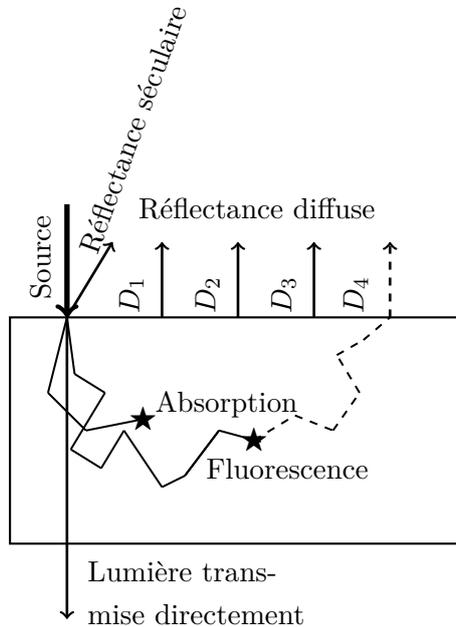


FIGURE 1.20 – Illustration des différents modes d'interaction lumière-tissu.

### Acquisition et pré-traitement des données

Le dispositif expérimental permet d'obtenir des spectres mesurés en réflectance diffuse et en autofluorescence. Pour réaliser une acquisition, la sonde doit être positionnée au contact de la peau. Les spectres d'émission d'AF en RS sont mesurés consécutivement pour cinq sources lumineuses LED (ou *light-emitting diode* ou diode électroluminescente en français) à filtre passe-bande ( $\sim 10$  nm largeur mi-hauteur) centré en  $\lambda_1^{exc} = 365$  nm,  $\lambda_2^{exc} = 385$  nm,  $\lambda_3^{exc} = 395$  nm,  $\lambda_4^{exc} = 405$  nm et  $\lambda_5^{exc} = 415$  nm. Les spectres d'AF sont mesurés pour chaque distance S-D en fonction de la longueur d'onde  $\lambda$  et de la longueur d'onde d'excitation  $\lambda^{exc}$ . Au total, le nombre de spectres acquis pour chaque point de tissu est 20.

Pour pouvoir être exploités, les spectres d'AF bruts acquis sont systématiquement pré-traités avec 6 étapes principales :

1. Suppression des pics étroits de grande amplitude (artefacts haute-fréquence) : un filtre médian de dimension 3 est appliqué sur la totalité du spectre d'amplitude
2. Correction du courant d'obscurité et du bruit de fond : on soustrait de chaque spectre, un spectre de fond et d'obscurité, i.e., mesuré par la chaîne d'acquisition complète sans source active, avec la sonde dans le noir.
3. Lissage (filtrage passe-bas) : les bruits résiduels de haute fréquence sont supprimés par l'application d'un filtre polynomiale Savtisky-Golay d'ordre 3 sur une dimension de fenêtre spectrale glissante de 20 nm.
4. Sous-échantillonnage par pas de 1 mm : les spectres de résolution spectrale initiale  $\sim 0,26$  nm sont ré-échantillonnés pour obtenir une résolution en longueur de 1 nm.
5. Correction spectrale : la réponse spectrale de chaque chaîne d'acquisition (4 distances  $\implies$  4 spectromètres) a été caractérisée à l'aide d'une lampe de calibration appropriée. Les courbes de correction spectrales ainsi obtenues sont appliquées à l'ensemble des spectres d'AF acquis et pour chaque distance  $D_i$ .
6. Normalisation en intensité d'AF : afin de pouvoir comparer les amplitudes des spectres d'intensité d'AF acquis pour les différentes excitations, une correction en intensité est appliquée sous la forme de facteurs de normalisation d'intensité d'AF par rapport à l'irradiance incidente mesurée par un puissance-mètre (pour chaque longueur d'excitation). Les spectres d'AF finaux peuvent ainsi être exprimés en intensité relative normalisée ( $W/m^2/mm$ ).

Pour les spectres de RD, les pré-traitements sont identiques pour les étapes 1 à 4. Ensuite, le principe de calcul de la RD consiste à faire le rapport entre l'intensité rétrodiffusée mesurée sur le tissu et l'intensité mesurée sur un étalon en réflectance (diffuseur lambertien, spectralon, réponse spectrale plate), ce qui compense les corrections / normalisations spectrales.

## 1.5 Positionnement et objectifs de la thèse

### 1.5.1 Diagnostic à l'aide de la biopsie optique

La spectroscopie optique multimodale à fibres optiques est une technique de biopsie optique ponctuelle combinant la réflectance diffuse à résolution spatiale (SR) et la mesure des spectres d'intensité d'autofluorescence (AF). C'est un outil d'étude non-invasif des propriétés optiques de la peau dans la gamme spectrale UV-Visible, d'un intérêt particulier pour le diagnostic et la caractérisation des stades de carcinogenèse cutanée [Amouroux et al., 2009, Abdat et al., 2012, Calin et al., 2013]. Les mesures acquises expérimentalement sont traitées pour obtenir de l'information sur la nature des tissus biologiques. L'analyse des spectres mesurés peut être réalisée par :

- l'exploitation des mesures expérimentales par des critères des formes spectrales sans lien direct avec la biologie et la physique du tissu,
- une inversion de modèle avec la mise en place d'un modèle basé sur les connaissances physiques de l'interaction lumière-tissu.

## État de l'art sur la classification supervisée des spectres

L'une des possibilités d'analyse des spectres acquis est de recourir à la classification supervisée basée sur l'extraction de caractéristiques discriminantes des données spectroscopiques pour améliorer le diagnostic des tissus pré-cancéreux, hyperplasie compensatoire, hyperplasie atypique et la dysplasie [Amouroux et al., 2009, Abdat et al., 2012].

La classification supervisée est souvent basée sur des informations sur la forme des spectres telle que l'aire sous la courbe, les amplitudes ou les pentes des courbes. Ce sont des paramètres non-physiques, c'est-à-dire qui ne sont pas spécifiques à la nature du milieu de propagation mais sont liés à la forme des spectres. Cette approche ne permet pas de retourner à une interprétation biologique des tissus.

## État de l'art sur l'implémentation d'un modèle de propagation de la lumière dans les tissus biologiques

Une autre façon d'extraire de l'information à partir des spectres est de faire appel à un modèle de propagation des photons dans les tissus biologiques et d'estimer les propriétés optiques du milieu de propagation en résolvant un problème inverse. L'information extraite dépend de la modalité des spectres. Les spectres de RD permettent de connaître la structure des tissus et de remonter à la concentration des chromophores, alors que les spectres d'AF donnent des informations portant sur la composition biochimique des tissus. Pour résoudre un problème inverse non-linéaire, il est nécessaire de définir un modèle direct, une fonction coût et un algorithme d'optimisation. Le modèle direct simule les spectres expérimentaux. Il permet d'obtenir une interprétation physique possible basée sur la nature des tissus. La fonction coût calcule un écart, souvent quadratique, entre les données expérimentales  $R_{exp}$  et les données du modèle direct  $R_{mod}$  (voir Fig.1.21). L'algorithme d'optimisation permet de converger / tendre vers le paramètre estimé  $\hat{\mathbf{p}}$  qui minimise la fonction coût.

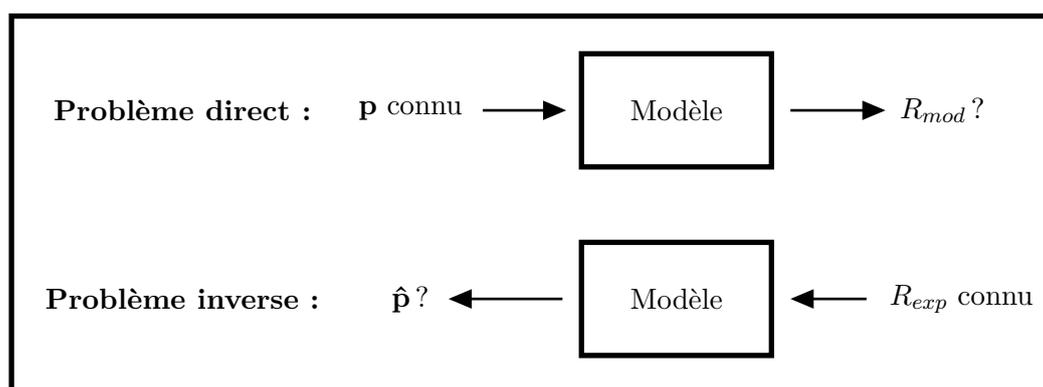


FIGURE 1.21 – Schéma du problème direct / inverse pour les spectres de réflectance diffuse, avec  $\mathbf{p} = [\mu_a(\lambda), \mu_s(\lambda)]$  et  $\hat{\mathbf{p}} = [\hat{\mu}_a(\lambda), \hat{\mu}_s(\lambda)]$  le vecteur des paramètres estimés.  $R_{mod}(\lambda)$  : réflectance simulée par le modèle,  $R_{exp}(\lambda)$  : réflectance expérimentale.

Plusieurs modélisations sont possibles pour résoudre le problème présenté sous forme simplifiée dans la figure 1.21 :

- numérique à l'aide d'un modèle déterministe ou stochastique ;

- expérimental à l'aide d'un fantôme expérimental mimant les propriétés optiques de la peau.

Le tableau 1.4 présente les erreurs relatives de paramètres optiques estimés en fonction du type de données exploitées et du modèle direct utilisé que l'on trouve dans la littérature. Les erreurs varient en fonction de la géométrie de la sonde, du modèle direct choisi, de la stratégie d'inversion et du choix de la fonction coût.

Les tissus de la peau peuvent se modéliser sous forme de plusieurs couches. Dans le tableau 1.4, un modèle monocouche de la peau conduit donne de faibles erreurs d'estimation sur les paramètres  $\mu_a$  et  $\mu'_s$  avec des valeurs inférieures à 10 % (voir les trois premières lignes du tableau [Hennessy et al., 2013, Rajaram et al., 2008, Du Le et al., 2017]). Un modèle multicouches de la peau est plus fidèle à la représentation des tissus cutanés. Cependant, la précision de l'estimation des propriétés optiques diminue car le nombre de propriétés optiques à estimer est plus important que dans le cas d'un modèle monocouche et cela augmente la complexité du problème inverse (voir [Naglič et al., 2016]). Cependant, les deux dernière lignes montrent que diminuer les erreurs d'estimation sur un modèle bicouche est possible en appliquant des exploitants les informations liées aux distances source-détecteur en fonction de la profondeur sondée [Tseng et al., 2011].

### 1.5.2 Objectifs de la thèse

Le but de ma thèse est de proposer une méthode d'inversion qui intègre l'ensemble des données spectroscopiques mesurées en RD et en AF pour améliorer la caractérisation des tissus cutanés.

Les trois axes principaux de ma thèse sont les suivants :

1. Proposer un modèle intégrant la multi-modalité et les paramètres géométriques de la sonde utilisée. J'ai donc choisi un simulateur existant développé sous CUDA. J'ai proposé de nouvelles fonctionnalités telles que la modalité de fluorescence avec un algorithme adapté (voir 2), la prise en compte de la géométrie de la sonde optique, le calcul de l'ensemble des longueurs d'onde d'un spectre en une seule simulation et l'ajout en entrée de paramètres du processeur graphique ou *Graphics Processing Unit* (GPU) pour contrôler le temps de calculs. Ce simulateur a été validé. L'ensemble de ces contributions sont présentées dans le chapitre 2.
2. Proposer une résolution du problème inverse tenant compte de l'ensemble des modalités spectrales mesurées expérimentalement. J'ai d'abord analysé différentes configurations de fonctions coûts et d'algorithmes d'optimisation dans le chapitre 3 et [Rakotomanga et al., 2017]. Ensuite, j'ai proposé une résolution utilisant un modèle direct et une fonction coût qui intègrent la multimodalité. Nous avons réalisé différents tests sur des modèles numériques monocouche et bicouches ainsi que sur des données réelles (voir chapitre 3).
3. Étudier l'influence d'un agent de clarification optique sur la peau, pour extraire de l'information située en profondeur, avec des méthodes d'estimation de paramètres optiques et des méthodes de séparation de sources. Tout d'abord, nous avons réalisé une estimation des propriétés optiques des tissus *ex vivo* de la peau en fonction du temps d'exposition à l'ACO pour analyser la variation de ces propriétés optiques (chapitre 4, [Khairallah et al., 2017, Rakotomanga et al., 2018b, Blondel et al., 2018, Rakotomanga et al., 2018a, Genin et al., 2019]). Ensuite, nous avons suivi la diffusion des ACO à travers les tissus de la peau révélée par l'application de méthodes de sépa-

| SD | Do.      | Modèle       | $\mu_a$                       | $\mu'_s$                      | [ <i>htb</i> ] | autres                     | réf.                    |
|----|----------|--------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------|----------------------------|-------------------------|
| 2  | exp. (f) | MC LUT       | 0.74 %                        | 1.74 %                        | 2.42 %         | -                          | [Hennessy et al., 2013] |
| 2  | exp. (f) | LUT exp.     | 11.6 %                        | 5.9%                          | 9.6 % (check)  | -                          | [Rajaram et al., 2008]  |
| ?  | exp. (f) | LUT exp.     | 9 %                           | 6%                            | ?              | -                          | [Du Le et al., 2017]    |
| 5  | sim.     | MC LUT       | 14.8 %   6.3 %                | 6.1 %   2.7 %                 | -              | 4.5 %   3.0 % ( $\gamma$ ) | [Naglič et al., 2016]   |
| 5  | exp. (f) | MC LUT       | 15.6 %   8.4 %                | 5.8 %   2.5 %                 | -              | 4.8 %   3.3 % ( $\gamma$ ) | [Naglič et al., 2016]   |
| 5  | exp. (f) | MC LUT       | 8.4 %                         | 2.5 %                         | -              | 3.3 %                      | [Naglič et al., 2016]   |
| 8  | sim.     | MC sc. iter. | $c_2$ : 8.1 %                 | $c_2$ : 1.8 %                 | -              | 4 % ép. $c_1$              | [Tseng et al., 2011]    |
| 8  | sim.     | MC sc. iter. | $c_1$ : 6.0 %   $c_2$ : 4.7 % | $c_1$ : 4.3 %   $c_2$ : 1.4 % | -              | -                          | [Tseng et al., 2011]    |

Tableau 1.4 – Erreurs quadratiques moyennes des propriétés optiques estimées par différentes méthodes d'inversion de la littérature.

ration de sources sur nos spectres d'autofluorescence. L'ensemble est explicité dans le chapitre 5 et [Rakotomanga et al., 2019].

## Chapitre 2

# Modélisation de la propagation de la lumière dans les tissus biologiques

*Si tu sais d'où tu viens, il n'y a pas de limite à là où tu peux aller.*

---

*La prochaine fois, le feu.* James Baldwin

### Sommaire

---

|            |  |           |
|------------|--|-----------|
| <b>2.1</b> | <b>État de l'art . . . . .</b>   | <b>36</b> |
| <b>2.2</b> | <b>Simulation Monte Carlo multi-modalités &amp; multi-couches accéléré .</b> | <b>46</b> |
| <b>2.3</b> | <b>Validations et études numériques . . . . .</b>                            | <b>52</b> |
| <b>2.4</b> | <b>Temps de simulation . . . . .</b>   | <b>62</b> |
| <b>2.5</b> | <b>Conclusion . . . . .</b>  | <b>66</b> |

---

Ce chapitre se focalise sur la description d'un modèle de propagation de la lumière dans les tissus à l'aide d'une simulation MC reproduisant les spectres de réflectance diffuse et d'auto-fluorescence acquis expérimentalement. Ce modèle prend en compte les paramètres optiques du tissu biologique en entrée et génère des données simulées telles que des spectres de RD. De façon générale, les modèles peuvent être expérimentaux, simulés/numériques ou semi-empiriques. Ils produisent des données de type déterministes ou stochastiques. Le recours à un modèle permet de mesurer l'adéquation entre les données observées et les propriétés optiques mais aussi de faire des tests supplémentaires lors du développement d'un protocole expérimental. La construction d'un modèle de propagation de la lumière dans les tissus repose sur des phénomènes physiques et/ou biologiques existants (voir la sect. 1.2 du Chapitre 1). Un état de l'art sur différents modèles existants pour simuler les données spectroscopiques et en particulier ceux exploitant la simulation MC sont rappelés dans les paragraphes 2.1 et 2.2. Le choix et les étapes d'implémentation du modèle numérique choisi pour cette thèse sont détaillés dans le paragraphe 2.2. Les paragraphes 2.3 et 2.4 présentent les validations numériques réalisées et des résultats sur les temps de simulation.

## 2.1 État de l'art

### 2.1.1 Équation du transfert radiatif

L'équation du transfert radiatif (ETR), appelée aussi équation de transport de Boltzmann est une équation phénoménologique permettant de décrire la propagation de l'énergie lumineuse dans des milieux diffus tels que les tissus biologiques, et caractérisés par leurs propriétés optiques macroscopiques  $(\mu_a, \mu_s, g)$ . Elle est basée sur les équations de Maxwell et exprime l'égalité entre les gains et les pertes d'énergie dans l'élément de volume considéré.

L'expression de l'ETR quand les sources dépendent du temps est :

$$\frac{\partial}{\partial t} I(\vec{r}, \hat{s}, t) + \nabla \cdot [\hat{s} I(\vec{r}, \hat{s})] + \mu_t I(\vec{r}, \hat{s}, t) = \mu_s \int_{4\pi} p(\hat{s}, \hat{s}') I(\vec{r}, \hat{s}', t) d\Omega' + \epsilon(\vec{r}, \hat{s}, t) \quad (2.1)$$

Avec :

- L'intensité spectrale (ou la luminance) est indiquée par  $I(\vec{r}, \hat{s}, t)$  à la position  $\vec{r}$  et à la direction  $\hat{s}$ .
- $\mu_t = \mu_a + \mu_s$  représente l'atténuation de l'intensité spectrale due à l'absorption et à la diffusion du milieu de propagation.
- La fonction de phase  $p(\hat{s}, \hat{s}')$  désigne la probabilité de diffusion de la radiation dans un angle solide élémentaire  $d\Omega'$  de la direction  $\hat{s}'$  à la direction  $\hat{s}$ .
- $\epsilon(\vec{r}, \hat{s}, t)$  désigne une source intrinsèque.

On peut reformuler l'expression précédente dans le cas où les sources sont continues (et indépendantes du temps) [Martelli et al., 2010] :

$$\nabla \cdot [\hat{s} I(\vec{r}, \hat{s})] + \mu_t I(\vec{r}, \hat{s}) = \mu_s \int_{4\pi} p(\hat{s}, \hat{s}') I(\vec{r}, \hat{s}') d\Omega' + \epsilon(\vec{r}, \hat{s}) \quad (2.2)$$

Ces conditions correspondent à notre configuration expérimentale.

Compte-tenu de sa forme intégral-différentielle, il n'existe pas de solution générale pour l'ETR sauf dans des cas bien définis (diffusion nulle ou isotrope, géométries simples). Dans les autres cas, des méthodes déterministes ou stochastiques permettent de résoudre de façon plus ou moins précises l'équation de transfert radiatif.

### 2.1.2 Solutions à l'ETR

Dans le cas d'un milieu diffusant qui caractérise les tissus biologiques, plusieurs approches de résolution de l'ETR sont proposées ci-dessous.

#### Résolutions numériques

La plupart de ces résolutions reposent sur l'exploitation des flux comme la méthode  $P_N$  [Storchi, 1984]. À partir de l'approximation  $P_N$ , des solutions analytiques à l'ETR peuvent être établies en supposant le système sphérique. Cela implique donc que les diffuseurs sont contenus dans des sphères et permet ainsi de simplifier les termes  $I$ ,  $p$  et  $\epsilon$  contenus dans l'ETR ((2.1)) en polynômes de Legendre à ordre fini  $N$  ou en harmoniques sphériques [Arridge, 1999].

$$p(\hat{s}, \hat{s}') = \sum_{l=0}^N \sum_{m=-l}^l g_l Y_{l,m}^*(\hat{s}') Y_{l,m}(\hat{s}) \quad (2.3)$$

$$I(r, \hat{s}, t) = \sum_{l=0}^N \sum_{m=-l}^l \sqrt{\frac{2l+1}{4\pi}} \Phi_{l,m}(r, t) Y_{l,m}(\hat{s}) \quad (2.4)$$

$$\epsilon(r, \hat{s}, t) = \sum_{l=0}^N \sum_{m=-l}^l \sqrt{\frac{2l+1}{4\pi}} S_{l,m}(r, t) Y_{l,m}(\hat{s}) \quad (2.5)$$

avec :

$l$  l'ordre du polynôme de Legendre

$Y_{l,m}$  harmoniques sphériques

$\Phi_{l,m}$  et  $S_{l,m}$  sont des coefficients de décomposition

On trouve également la méthode d'*adding-doubling* qui fournit des valeurs de transmission et de réflexion [Prahl, 1995]. Cette méthode permet :

- de trouver des solutions précises à l'ETR avec une diffusion anisotrope et pour des frontières mal délimitées,
- de travailler facilement avec des milieux multicouches et des rendements en réflexion et transmission.

### Simulation stochastique

La simulation Monte Carlo est une méthode numérique et stochastique de résolution de l'ETR où la propagation aléatoire des rayons incidents sont assimilées à des photons en se basant sur l'interaction lumière-tissu [Wang et al., 1995]. Cette méthode de résolution est détaillée dans la suite du chapitre (voir le sous-paragraphe 2.1.4).

### Approximations

La théorie à deux constantes de Kubelka-Munk se base sur la modélisation des transferts de flux et permet d'obtenir des information sur l'absorption et la diffusion de différentes surfaces [Kubelka and Munk, 1931].

Plusieurs applications sont possibles mais les principales sont la peinture et le *rendering* [Vargas and Niklasson, 1997]. Cette méthode est aussi appliquée dans le domaine médical, notamment pour analyser les spectres acquis sur la peau humaine et en extraire des paramètres d'absorption et de diffusion dans le domaine du visible [Van Gemert et al., 1989, Hidović-Rowe et al., 2006]

**Approximation de la diffusion** Des conditions sont nécessaires pour appliquer l'approximation de la diffusion :

1. Le nombre d'événement de diffusion est plus grand que le nombre d'événements d'absorption.
2. La source est isotrope.

3. La variation du flux est lente en fonction du temps (inférieure au temps nécessaire pour parcourir un libre parcours moyen).

On peut ensuite réécrire l'équation de l'ETR, on obtient l'approximation de la diffusion suivante en appliquant les conditions nécessaires :

$$\vec{J}(\vec{r}, t) = -D \left[ \nabla \phi(\vec{r}, t) - 3 \int_{4\pi} \epsilon(\vec{r}, \hat{s}, t) \hat{s} \right] \quad (2.6)$$

Avec

$\vec{J}(\vec{r}, t)$  ( $W.cm^{-2}$ ) le vecteur flux

$\phi(\vec{r}, t)$  ( $W.cm^{-2}$ ) la « fluence » (ou l'irradiance), obtenue en intégrant la radiance sur l'ensemble de l'angle solide

$D$  est le coefficient de diffusion défini comme :

$$D = \frac{1}{3(\mu_a + \mu'_s)} \quad (2.7)$$

où  $\mu'_s = \mu_s(1 - g)$  le coefficient de diffusion réduit

La suite présente des résolutions analytiques basées sur des géométries précises du milieu : homogène infini ou semi-infini.

## Fantômes

Cette méthode permet de préparer des fantômes solides ou liquide mimant les propriétés optiques d'un tissu biologique, notamment en comparant les spectres de réflectance diffuse mesurés sur un tissu biologique et ceux issus d'un fantôme [Van de Hulst and Graaff, 1996]. Le terme fantômes solides, par opposition aux fantômes liquides, est utilisé ici pour désigner les fantômes fabriqués à base de gel. Les principaux constituants des fantômes solides peuvent être de la gélatine de porc ou de l'agarose. Ils peuvent aussi être constitués de PDMS (polydiméthylsiloxane ou silicone). Ce sont des éléments qui vont solidifier le milieu.

La préparation des fantômes requiert l'utilisation de composants permettant de simuler les propriétés optiques d'absorption, de diffusion et de fluorescence du tissu. L'encre de Chine est largement utilisée pour simuler l'absorption de la peau [Dodgson et al., 1986, Liu et al., 2003, Ninni et al., 2010] :

$$\mu_a^{ink}(\lambda) = c \times \mu_a^{purink}(\lambda) [cm^{-1}] \quad (2.8)$$

Souvent décrit à l'aide d'un pourcentage d'encre noire, on peut le calculer de façon suivante avec :  $c = 0.14\%/100\%$ , un coefficient sans dimension.

Les Intralipides (IL), composés de soja, contribuent à augmenter la diffusion du milieu [Van Staveren et al., 1991, Bashkatov et al., 2000, Kinnunen et al., 2006, LaCroix and Haidekker, 2009]. Un ajustement avec une loi de puissance sur les mesures à une concentration d'IL donnée peut être utilisé pour quantifier la diffusion réduite. Pour 5 % d'IL, on obtient l'expression suivante avec une loi de puissance [Wen et al., 2009] :

$$\mu'_s \approx 47565 \times \lambda^{-1.4} [mm^{-1}] \quad (2.9)$$

Des micro billes peuvent également être utilisées pour fabriquer un milieu diffusant.

Cette méthode n'est utilisable que dans le cas d'une approximation de diffusion valide. De plus, elle est limitée par les possibilités de préparation de fantômes ayant des propriétés connues. Les principales limites de cette méthodes sont la possibilité de préparer des fantômes possédant une diversité de propriétés optiques connues (18 pour [Rajaram et al., 2008], 21 pour [Hennessey et al., 2013] et 24 pour [Naglič et al., 2016]) et il faut que l'approximation de la diffusion soit valide pour l'appliquer.

L'utilisation des fantômes a permis dans nos travaux de réaliser des tests et des validations (voir le sous-paragraphe 2.3.3).

### 2.1.3 Exemple de solutions analytiques

Nous présentons dans cette sous-partie quelques solutions analytiques pour calculer la réflectance diffuse (RD).

#### Modèle monocouche de [Farrell et al., 1992]

Ce modèle d'approximation de la diffusion a été développé par l'équipe de Farrell [Farrell et al., 1992]. Il s'appuie sur les solutions de l'équation de la diffusion pour un modèle homogène semi-infini. La source est représentée par un point. La modalité spectrale calculée est la réflectance diffuse RD.

Pour un milieu monocouche, la réflectance diffuse résolue spatialement  $R_{mod}(D; \mathbf{p})$  est calculée ci-dessous :

$$R_{mod}(D; \mathbf{p}) = \frac{1}{4\pi\mu'_t(\mathbf{p})} \left[ (\mu_{eff}(\mathbf{p}) + \frac{1}{d_1(\mathbf{p})}) \times \frac{e^{-\mu_{eff}(\mathbf{p}) \cdot d_1(\mathbf{p})}}{d_1(\mathbf{p})^2} + (1 + \frac{4}{3} A) \times (\mu_{eff}(\mathbf{p}) + \frac{1}{d_2(\mathbf{p})}) \frac{e^{-\mu_{eff}(\mathbf{p}) \cdot d_2(\mathbf{p})}}{d_2(\mathbf{p})^2} \right] \quad (2.10)$$

où

$R_{mod}(D; \mathbf{p})$  est la valeur de réflectance sortante calculée en fonction de la position radiale  $\mathbf{p} = \{\mu_a^1, \mu_s^1\}$  est le vecteur paramètre contenant le coefficient d'absorption  $\mu_a^1$  et le coefficient de diffusion  $\mu_s^1$

$D$  contient les distances Source-Détecteur (SD)

$\mu'_t(\mathbf{p}) = \mu_a + \mu_s(1 - g)$  est le coefficient de transport

$\mu_{eff}(\mathbf{p}) = \sqrt{\frac{\mu_a}{Do(\mathbf{p})}}$  est le coefficient effectif

$Do(\mathbf{p}) = \frac{1}{3 \times \mu'_t(\mathbf{p})}$  est le coefficient de diffusion optique

$d_1(\mathbf{p}) = \sqrt{\frac{1}{\mu'_t(\mathbf{p})^2} + D^2}$  et  $d_2(\mathbf{p}) = \sqrt{\frac{1}{\mu'_t(\mathbf{p})^2} \times (1 + \frac{4}{3} A)^2 + D^2}$

$A = \frac{(1 + r_d)}{(1 - r_d)}$  est une constante

$r_d = -1.440 n_{rel}^{-2} + 0.710 n_{rel}^{-1} + 0.668 \times 0.0636 n_{rel}$

$n_{rel} = \frac{n_{in}}{n_{out}}$  est l'indice de réfraction relative

Les variables d'entrée du modèle analytique sont  $\mu_a, \mu_s, g, D, n_{int}, n_{ext}$ .

Pour rappel, les conditions imposées par l'approximation de la diffusion sont les suivantes :

- Milieu très diffusant :  $\mu_a \ll \mu_s'$ <sup>17</sup>
- Des grandes distances SD

Ce modèle analytique est surtout valable pour des grandes distances source-détecteur (distances SD).

### Modèle monocouche et bicouche de [Kienle et al., 1998]

Le modèle bicouche, présenté ici, a été proposé par l'équipe de Kienle [Kienle et al., 1998]. Ce modèle repose sur des approximations entre autres telles que la source est ponctuelle, la seconde couche est de profondeur infinie. Le modèle bicouche représente une superposition de deux couches aux propriétés optiques différentes. La couche supérieure possède une certaine épaisseur  $z$ , exprimée en *mm*.

Pour un milieu bicouche, la réflectance diffuse résolue spatialement  $R_{mod}(D; \mathbf{p})$  pour une longueur d'onde fixé utilise une transformée de Fourier :

$$R_{mod}(D; \mathbf{p}) = 0.118 \times \Phi_1(D, z = 0) + 0.306 \times D o_1(\mathbf{p}) \frac{\partial}{\partial z} \Phi_1(D, z) |_{z=0} \quad (2.11)$$

avec

$$D o_i(\mathbf{p}) = \frac{1}{3(\mu_a^i + \mu_s^i)}$$
 le coefficient de diffusion optique pour la couche  $i$ ,

$$\text{le vecteur des paramètres } \mathbf{p} = \{\mu_a^1, \mu_s^1, \mu_a^2, \mu_s^2\},$$

$z$  l'épaisseur de la couche supérieure

La fonction  $\Phi_1(D; z)$  représente la mesure d'une intensité par un détecteur situé à une distance  $D$  de la source

$$\Phi_1(D, z) = \frac{1}{2\pi} \int_0^\infty \phi_1(z, s) s J_0(sD) ds \quad (2.12)$$

avec  $J_0$  la fonction Bessel de première espèce d'ordre 0 et  $\phi_1(z, s)$  est donnée par :

$$\begin{aligned} \phi_1(z, s) = & \frac{\sinh[\alpha_1(z_b + z_0)]}{D o_1 \alpha_1} \\ & \times \frac{D o_1 \alpha_1 \cosh[\alpha_1(l - z)] + D o_2 \alpha_2 \sinh[\alpha_1(l - z)]}{D o_1 \alpha_1 \cosh[\alpha_1(l + z_b)] + D o_2 \alpha_2 \sinh[\alpha_1(l + z_b)]} \\ & - \frac{\sinh[\alpha_1(z_0 - z)]}{D o_1 \alpha_1} \end{aligned} \quad (2.13)$$

$$\text{avec } \alpha_i = \sqrt{s^2 + \frac{\mu_a^i}{D o_i}}, i = 1, 2 \text{ indiquant la } i\text{-ème couche, } z_0 = \frac{1}{\mu_a^1 + \mu_s^1}, z_b = \frac{1+R_{eff}}{1-R_{eff}} 2D o_1$$

---

17. Pour rappel,  $\mu_s' = (1 - g) \times \mu_s$

## Autres modèles proposés

Liemert et Kienle ont développé plusieurs modèles analytiques qui dérivent de l'approximation  $P_N$  [Liemert and Kienle, 2011, Liemert and Kienle, 2013]. Un ensemble de leurs scripts développés sous Matlab est accessible<sup>18</sup>. Nous avons utilisé un de leur modèle permettant d'avoir plusieurs couches pour valider notre modèle : `N_layer_steady_state_domain`.

Dans la suite du document, nous utilisons ces solutions analytiques pour réaliser des tests et des validations.

### 2.1.4 État de l'art sur les modèles de simulation Monte Carlo

Le modèle MCML est considéré comme un « *gold standard* » [Wang et al., 1995]. La simulation MC se base sur des algorithmes décrivant les différents phénomènes physiques : absorption, diffusion, fluorescence. La simulation MC est stochastique et simule la propagation des photons dans les tissus.

#### Description générale

Nous développons les étapes clé du modèle MCML pour simuler une RD d'un milieu homogène semi-infini en nous basant sur la figure 2.1 [Wang et al., 1995].

Chaque couche homogène  $i$  est caractérisée par un coefficient d'absorption  $\mu_a^i(\lambda)$ , un coefficient de diffusion  $\mu_s^i(\lambda)$ , un indice de réfraction  $n^i$ , un coefficient d'anisotropie  $g^i$  et une épaisseur  $z^i$  (voir Fig.2.4).

Les photons sont assimilés à des particules individuelles. Ils sont injectés par paquet dans le milieu de propagation. Chaque photon possède les attributs suivants :

- une position définie par un vecteur  $(p_x, p_y, p_z)$
- une direction de propagation  $v$
- un poids  $w$

La position initiale des photons est déterminée par les hypothèses appliquées à la configuration de la sonde optique. Si la source est supposée ponctuelle, alors les photons seront initialisés à  $(0,0,0)$ . Pour une source étendue, les photons sont distribués de façon uniforme sur la surface de la source. Durant la simulation, les photons subissent des événements aléatoires liés à l'interaction lumière-tissu.

La direction  $v$  change en fonction du choix de l'utilisateur :

- soit la direction  $v$  est fixé à  $(0,0,1)$  lorsqu'il ne tient pas compte de l'ouverture numérique (ON),
- soit la direction est défini aléatoirement en fonction de l'angle maximal défini par l'ON.

Le poids  $w$  varie entre 0 et 1. Il est initialement fixé à 1. Il représente la probabilité pour un photon de subir un événement d'absorption lors de son parcours. Ce poids  $w$  décroît à chaque événement d'absorption.

Les photons perdus sont les photons :

- qui ressortent du milieu,
- qui possèdent un poids inférieur à un seuil,
- ou qui ont une durée de vie très longue.

18. <https://www.ilm-ulm.de/forschung/foerderprojekte/material-und-gewebeoptik/software-zur-lichtausbreitung/>

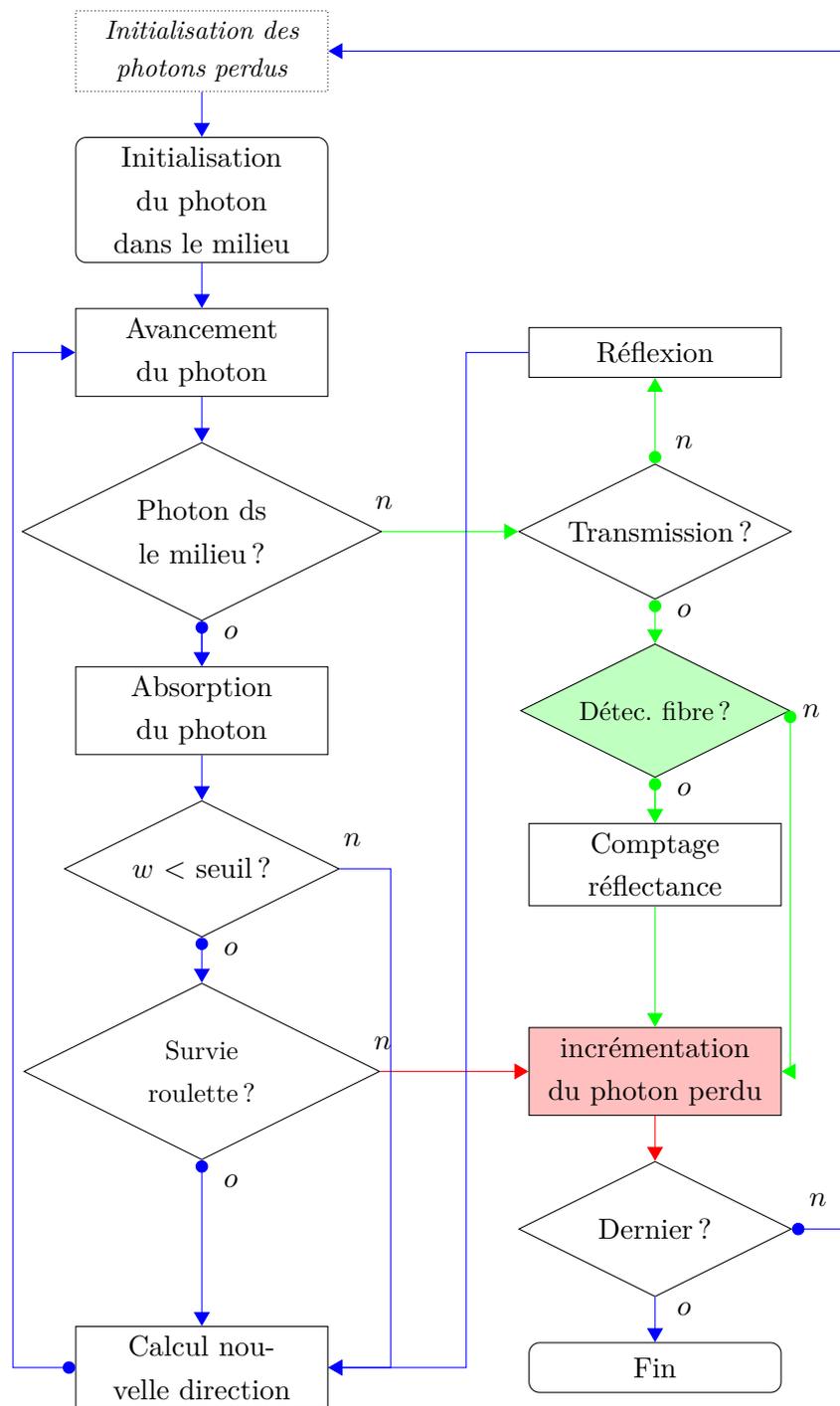


FIGURE 2.1 – Organigramme général de la simulation Monte Carlo avec  $w$  le poids d'un photon fixé à 1 au moment de l'initialisation.

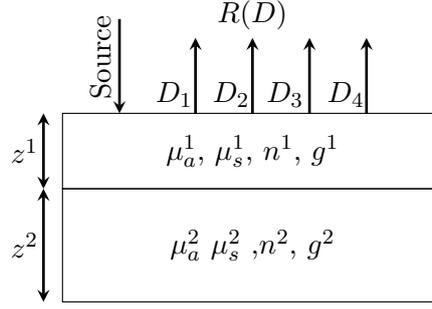


FIGURE 2.2 – Configuration d'un modèle numérique bicouche utilisant une simulation Monte Carlo. Pour chaque couche  $i=\{1, 2\}$ , les paramètres principaux sont  $\mu_a^i, \mu_s^i, n^i, g^i$  and  $z^i$ .

Ils sont ensuite réinitialisés. La perte de tous les photons est le critère d'arrêt de la simulation MC.

Lors de son parcours, le photon subit un événement d'avancement pour se déplacer dans le milieu. La probabilité d'avancement est donc définie par le libre parcours moyen (voir le paragraphe 1.2) :

$$dl = -\frac{\ln u}{\mu_s} \quad (2.14)$$

Avec  $u$  une variable aléatoire comprise entre  $[0,1]$ .

Une autre variante d'implémentation est possible en considérant le coefficient d'absorption en plus du coefficient de diffusion :

$$dl = -\frac{\ln u}{\mu_a + \mu_s} \quad (2.15)$$

Finalement, le milieu de propagation étant considéré comme très diffusant, on a  $\mu_s \gg \mu_a$  et les équations (2.14) et (2.15) sont similaires.

Le photon se déplace donc d'une distance  $dl$  dans le milieu selon la direction  $v$  représentée par le vecteur  $(v_x, v_y, v_z)$  :

$$\begin{cases} p_x \leftarrow p_x + v_x \times dl \\ p_y \leftarrow p_y + v_y \times dl \\ p_z \leftarrow p_z + v_z \times dl \end{cases} \quad (2.16)$$

Ensuite, le photon peut subir un événement d'absorption. Cet événement est associé à une diminution du poids  $w$ . Cette diminution peut se traduire de la façon suivante :

$$w \leftarrow w - kw \quad (2.17)$$

avec  $k = \frac{\mu_a}{\mu_a + \mu_s}$ .

Un autre calcul du nouveau poids  $w$  basé sur la loi de Beer-Lambert est formulé ci-dessous :

$$w \leftarrow w \times \exp(-\mu_a \cdot dl) \quad (2.18)$$

Lorsque le photon atteint une valeur de poids  $w$  inférieure à un certain seuil fixé en entrée du simulateur, il n'est pas directement considéré comme perdu, car un dernier tirage aléatoire, appelé la « roulette russe », permet de déterminer si le photon survit ou meurt.

Le photon peut changer de milieu au niveau d'une interface lors du passage :

- d'une couche à une autre
- d'une couche vers l'extérieur

Le photon transmis à l'extérieur est considéré comme perdu. Un photon transmis peut être détecté en fonction de sa position par rapport aux couronnes de détection et de sa direction de sortie par rapport à l'ON des fibres de détection. Les photons détectés interviennent dans le calcul de la réflectance.

Le coefficient de réflexion  $R$  s'exprime à l'aide des formules de Fresnel :

$$R = \frac{1}{2} \left( \left( \frac{\sin(\theta_i - \theta_t)}{\sin(\theta_i + \theta_t)} \right)^2 + \left( \frac{\tan(\theta_i - \theta_t)}{\tan(\theta_i + \theta_t)} \right)^2 \right) \quad (2.19)$$

avec  $\theta_i$  l'angle d'incidence et  $\theta_t$  l'angle de transmission.

Lors d'un événement de diffusion, le photon peut être dévié et une nouvelle direction  $d$  peut être calculée. Cette déviation dépend de deux angles :

- l'angle polaire  $\theta$  entre  $[0, \pi]$
- l'angle azimutal  $\phi$  entre  $[0, 2\pi]$

La fonction de phase est basée sur la fonction de Henyey-Greenstein (voir (1.9)). Le tirage aléatoire de  $\cos \theta$  est ainsi défini à partir de (1.9) :

$$\begin{cases} \cos \theta \leftarrow \frac{1}{2g} \left( 1 + g^2 - \left( \frac{1-g^2}{1-g+2gu} \right)^2 \right) \\ \phi \leftarrow 2\pi u \end{cases} \quad (2.20)$$

Avec  $u$  la variable aléatoire suivant une loi uniforme entre  $[0, 1]$ .

Les paramètres optiques du milieu représentent des probabilités d'événement : probabilité d'absorption, de diffusion, de fluorescence.

Pour l'étude des signaux spectroscopiques issus des tissus biologiques, l'estimation des paramètres optiques des tissus présuppose l'utilisation d'un modèle de tissus hétérogènes. Un tissu hétérogène est décrit par un modèle multicouches, c'est-à-dire qu'on superpose plusieurs couches parallèlement, les unes sur les autres. Chaque couche est homogène et possède ses propres propriétés optiques. Pour des faibles distances source-détecteur ( $< 2 \text{ mm}$ ), cette approximation reste valide.

Par contre, en présence d'un tissu présentant un cancer invasif (voir Fig. 1.17 d du chapitre 1), les cellules tumorales se propagent à travers les différentes couches de la peau et par conséquent, la modélisation de la peau par couche homogène devient imprécise [Zhu and Liu, 2013, Watté et al., 2015a].

Nous nous intéressons aux simulations Monte Carlo en résolution spatiale et en continu (*steady-state*, qui ne dépend pas du temps). Il existe aussi des simulations Monte Carlo résolues en temps (*time resolved*) ou en fréquence (*frequency-domain*).

Le modèle MC est plus proche de la réalité expérimentale contrairement aux modèles analytiques dont la plupart sont basés sur l'approximation de la diffusion (développée précédemment) [Wang et al., 1995]. Les avantages du MC sont la paramétrisation de la géométrie de la sonde

optique utilisée et la précision du calcul de la réflectance pour des distances source-détecteur proches de la sonde expérimentale ( $< 2 \text{ mm}$ ).

Les principaux inconvénients de ce modèle sont :

- le temps de calcul
- et le bruit de modèle qui dépend du nombre de photons injectés dans la simulation et de la distance source-détecteur.

Certaines simulations MC utilisent d'autres approches numériques pour modéliser les couches de la peau. C'est le cas du maillage MC ou *mesh* en anglais. [Watté et al., 2015a] ont développé un modèle de maillages tétraédriques pour la simulation MC dans le but de s'affranchir des limites imposées par la modélisation en couche homogène des tissus biologiques. Les photons se déplacent ainsi entre les différentes couches mais aussi entre les éléments tétraédriques composant chaque couche à l'aide des équations de Fresnel et de Snell-Descartes. Cette modélisation permet de prendre en compte les discontinuités et les imperfections au sein d'une couche en diminuant les approximations imposées par une simulation MC standard. Cependant les temps de calculs nécessaires restent importants, même si la résolution spatiale est diminuée (moins de maillages).

Différentes stratégies méthodes ont été développées au cours des 10 dernières années pour réduire le temps de calcul des simulations MC et/ou gérer le bruit du modèle.

### Méthodes d'échantillonnage

Les méthodes d'échantillonnage ou *Scaling methods* nécessitent de lancer seulement une simulation (ou un petit nombre de simulations) MC pour obtenir les trajectoires des photons détectés à partir des propriétés optiques issues d'un milieu de référence [Liu and Ramanujam, 2007]. Ensuite, à partir de ce milieu de référence, on peut réaliser des opérations d'échantillonnage basées sur le libre parcours moyen pour déterminer le nombre de collisions, calculer la diminution du poids  $w$  d'un photon et en déduire une réflectance diffuse.

Ces méthodes et leurs relations d'échantillonnage exploitent les caractéristiques des propriétés optiques :

- les coefficients liés à la diffusion prédisent les trajets des photons
- et le coefficient d'absorption influence principalement le poids  $w$  de survie des photons.

L'avantage est que le temps de calcul est réduit.

Cette méthode est également très utilisée pour créer des bases de données, mais des erreurs supplémentaires peuvent être introduites par une représentation en discret ou une interpolation lors de la procédures d'échantillonnage [Zhu and Liu, 2013].

### Perturbation MC

La perturbation MC est une méthode similaire à la méthode d'échelle. Une seule simulation MC permet de déterminer les variations du signal des photons détectés lors de la perturbation des propriétés optiques des tissus biologiques [Zhu and Liu, 2013, Hayakawa et al., 2001].

### MC hybride

Le MC hybride intègre des calculs analytiques (comme le modèle monocouche [Farrell et al., 1992]) et le MC [Zhu and Liu, 2013, Hidović-Rowe and Claridge, 2005]. Une fonc-

tion couplée est créée à partir de différents paramètres optiques et géométrie de sonde calculés avec un modèle MC :  $R_d(D) = R_{mc}(D) + R_{diff}(D)$  [Wang and Jacques, 1993, Wang, 1998].

### Parallélisation des calculs

La parallélisation de la simulation MC permet de réduire significativement le temps de calcul. La propagation de chaque photon est indépendant d'où la possibilité d'optimiser la simulation. Une simulation MC codée en parallèle sous GPU peut être 1000 fois plus rapide qu'une simulation exécutée en séquentiel sur un processeur ou *Central Processing Unit* (CPU) [Zhu and Liu, 2013].

C'est donc cette méthode que nous avons choisi d'implémenter dans la suite de notre étude.

## 2.2 Simulation Monte Carlo multi-modalités & multi-couches accéléré

### 2.2.1 Description du simulateur développé

Après diverses implémentations du modèle MC, il est apparu que le temps d'exécution, notamment dans un processus d'inversion de modèle (où le modèle direct est simulé un grand nombre de fois), était élevé et que diminuer ce temps d'exécution est donc un élément essentiel à prendre en compte dans le développement de l'algorithme. Nous nous sommes donc tournés vers la solution proposée par [Alerstam et al., 2008] (voir le sous-paragraphe 2.4). La simulation s'exécute plus rapidement pour un nombre important de photons.

Mes contributions principales, listées ci-dessous, ont été intégrées au sein de cet algorithme pour être plus proche de la réalité expérimentale :

1. Intégration de la fluorescence en tenant compte des spectres d'absorption et d'émission des fluorophores
2. Prise en compte des caractéristiques de la sonde optique utilisée pour l'acquisition des données expérimentales
3. Intégration du calcul de toutes les longueurs d'onde pour réduire le temps de calcul.
4. Intégration des paramètres de réglage des ressources GPU utilisées (voir Fig. 2.20)

L'algorithme de ce simulateur MC multimodalités et multicouches est décrite en Fig. 2.3.

Les phénomènes physiques liés à l'interaction non-linéaire entre le photon et le milieu de propagation représentent donc les différents événements aléatoires dans la simulation MC. Le détail sur l'implémentation de ces événements aléatoires est disponible en annexe A. Pour la prise en main du simulateur MC sous CUDA, j'ai au début été épaulée par le professeur Sylvain Contassot-Vivier.

### État de l'art sur les modèles de fluorescence

Pour simuler le phénomène de fluorescence, la simulation doit intégrer des paramètres intrinsèques tels que le rendement quantique  $\xi$  [Welch and Richards-Kortum, 1995, Welch et al., 1997]. Au cours de la simulation MC, le rendement quantique  $\xi$  va donc décrire la probabilité qu'un photon absorbé soit réémis sous forme d'un photon de fluorescence à une longueur d'onde d'émission  $\lambda^{\text{emi}}$ .



[Palmer and Ramanujam, 2008] ont proposé un modèle MC de fluorescence basé sur des méthodes d'échelle permettant d'obtenir la trajectoire des photons simulés accompagnés de leur poids et de leur localisation en mono ou multicouches. La simulation ne tient compte que d'une seule longueur d'onde d'excitation. Ils déterminent 4 paramètres en rapport avec le fluorophore du milieu : rendement quantique, concentration, coefficient d'extinction et la forme du spectre d'émission de fluorescence. Dans leur modèle, ils distinguent également les propriétés optiques issues des longueurs d'onde d'excitation et des longueurs d'onde d'émission.

En résumé, pour calculer numériquement les spectres d'AF, tout d'abord des modèles basés sur une simulation MC telle que [Wang et al., 1995] sont utilisés pour obtenir en premier les spectres de RD et en extraire les propriétés optiques. Ensuite, un paramètre intrinsèque à la fluorescence est calculé à partir du coefficient d'absorption et du rendement quantique du fluorophore [Gardner et al., 1996, Zeng et al., 1997, Chen et al., 2007]. Enfin, la fluorescence observée est calculée après avoir exécuté un modèle MC modifié [Chen et al., 2007].

[Milej et al., 2014] ont proposé une simulation MC calculant la fluorescence et valable pour un modèle bicouche. La fluorescence réémise en surface dépend de la probabilité qu'un photon d'excitation (provenant de la source d'excitation) soit converti en photon de fluorescence, de la probabilité de survie du photon d'excitation durant son trajet et de la probabilité de survie du photon de fluorescence durant son trajet.

### Intégration de la fluorescence

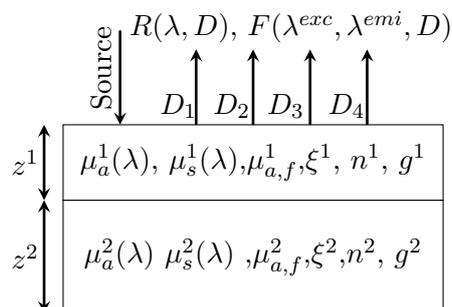


FIGURE 2.4 – Configuration d'un modèle numérique bicouche utilisant la simulation Monte Carlo. Pour chaque couche  $i=\{1,2\}$ , les paramètres principaux sont  $\mu_a^i(\lambda), \mu_s^i(\lambda), \mu_{a,f}^i, \xi^i, n^i, g^i$  and  $z^i$ .

Nous avons intégré la fluorescence à l'algorithme MC choisi pour n'avoir qu'une seule simulation à lancer. Pour cela, l'ajout de la probabilité de fluorescence s'appuie sur les travaux de [Liu et al., 2003, Péry et al., 2009b]. Le nombre de fluorophores par couche est actuellement limité à 3 et il a été fixé arbitrairement. L'algorithme peut tenir compte de plusieurs longueurs d'onde d'excitation dans les données d'entrée.

Dans un milieu pouvant émettre des photons de fluorescence, pour une longueur d'onde d'excitation donnée, deux possibilités d'absorption sont possibles pour les photons se déplaçant :

- Probabilité d'absorption d'un photon sans fluorescence  $P_{abs}$ , donc sans émission d'un nouveau photon à une autre longueur d'onde  $\lambda$ , par un absorbeur, par un fluorophore et par un photon ayant déjà subi un événement de fluorescence.

$$P_{abs} = \frac{\mu_a + \mu_{a,f} \times (1 - \xi)}{\mu_a + \mu_{a,f} + \mu_s} \quad (2.21)$$

avec  $\xi$  le rendement quantique

- Probabilité d'absorption d'un photon avec émission d'un nouveau photon à une longueur d'onde d'émission  $\lambda^{\text{emi}}$  par un fluorophore  $P_{abs,f}$ .

$$P_{abs,f} = \frac{\xi \times \mu_{a,f}}{\mu_a + \mu_{a,f} + \mu_s} \quad (2.22)$$

Nous notons que le rendement quantique  $\xi$ , qui est un paramètre d'entrée (caractérisant le milieu) de la simulation, nous informe sur la probabilité d'un événement de fluorescence spécifique au fluorophore qui lui est associé [Liu et al., 2003]. En effet, si  $\xi$  est nul, la probabilité d'émission d'un photon de fluorescence provenant de ce fluorophore devient nulle.

La probabilité totale d'absorption  $P_{tot}$  est donnée par l'expression ci-dessous :

$$P_{tot} = P_{abs} + P_{abs,f} \quad (2.23)$$

Deux autres probabilités sont introduites dans l'algorithme :

- la probabilité  $P_F$  qui indique quel fluorophore contribue à l'absorption par fluorescence lorsque le milieu contient au moins 2 fluorophores. Cette probabilité est exprimée ci-dessous pour le fluorophore  $F_i$  situé dans une couche du milieu avec  $i = 1 : N_F$  et  $N_F \geq 2$  le nombre maximal de fluorophores :

$$P_F(F_i) = \frac{(\xi \times \mu_{a,f})_{F_i}}{\sum_{i=1}^{N_F} (\xi \times \mu_{a,f})_{F_i}} \quad (2.24)$$

Lorsqu'un seul fluorophore est présent, alors  $P_F = 1$ .

- la somme cumulée  $CS$  correspond à la somme du spectre d'émission d'un fluorophore donné à toutes les longueurs d'onde d'émission considérées,  $Emi(\lambda^{\text{emi}})$  pour déterminer la probabilité d'un photon d'émettre à une longueur d'onde d'émission.

La somme cumulée est calculée de la façon suivante pour une longueur d'émission du spectre d'émission d'un fluorophore présent dans un milieu monocouche :

$$CS(\lambda_j^{\text{emi}}) = \sum_{k=1}^j \left( \frac{Emi(\lambda_k^{\text{emi}})}{\sum_{k'=1}^{N_{\lambda^{\text{emi}}}} Emi(\lambda_{k'}^{\text{emi}})} \right) \quad (2.25)$$

Avec  $j = 1, 2, \dots, N_{\lambda^{\text{emi}}}$  et  $N_{\lambda^{\text{emi}}}$  le nombre de longueurs d'onde d'émission.

Ensuite, pour un événement de fluorescence, le rendement quantique et le coefficient d'absorption  $\mu_{a,f}$  permettent de déterminer par quel fluorophore et pour quelle longueur d'onde  $\lambda$ , un nouveau photon va être émis. Plus un fluorophore possède un rendement quantique et un coefficient d'absorption élevé, plus les probabilités pour qu'il soit à l'origine d'un événement de fluorescence sont élevées. Un algorithme de la fluorescence est détaillé en annexe B.

Pour chaque fluorophore, des informations *a priori* portant sur les spectres d'absorption et d'émission et le rendement quantique  $\xi$  sont saisies et mises à jour en fonction de la longueur d'onde  $\lambda$  dans le fichier d'entrée. Les probabilités présentées précédemment ne dépendent que d'une seule longueur d'onde d'excitation donc il n'est pas nécessaire de faire apparaître la dépendance en longueur d'onde. Par exemple, si  $\mu_a$  et  $\mu_s$  sont saisis dans le simulateur pour une seule longueur d'onde alors  $\mu_{a,f}$  n'aura qu'une seule valeur qui dépendra de cette longueur

$$\begin{aligned} \mu_a &= 0,5 \text{ cm}^{-1} & \mu_s &= 100 \text{ cm}^{-1} \\ \mu_{a,f} &= 0,5 \text{ cm}^{-1}, & \xi &= 0,5 \end{aligned}$$

FIGURE 2.5 – Modèle monocouche contenant un fluorophore.

d'onde. En résumé, la dimension des vecteurs pour  $\mu_a(\lambda)$ ,  $\mu_{a,f}(\lambda)$  et  $\mu_s(\lambda)$  est la même dans le simulateur.

Il est important de noter que le photon peut être absorbé par un fluorophore sans événement de fluorescence. Cela est indiqué par le terme  $\mu_{a,f} \times (1 - \xi)$  dans le calcul de la probabilité de l'absorption sans événement de fluorescence  $P_{abs}$  (voir équation (2.21)). En effet,  $(1 - \xi)$  retire les événements de fluorescence et laisse uniquement les événement d'absorption « classique ».

### Limites de la solution de fluorescence implémentée dans l'algorithme

La fluorescence telle qu'elle est implémentée dans l'algorithme MC, ne tient pas compte de l'effet de cascade. Cela signifie que lorsqu'un photon est émis par fluorescence, il ne peut plus être absorbé et réémis par fluorescence. Lors de l'émission du nouveau photon, l'absorption et la diffusion conservent la longueur d'onde avant émission.

L'implémentation est difficile car elle nécessite d'intégrer en entrée l'ensemble des spectres des propriétés optiques d'absorption et de diffusion aux longueurs d'onde d'intérêt. Ces longueurs d'onde correspondent donc aux longueurs d'onde auxquelles les photons de fluorescence sont émis. Il faut donc gérer, au moment de l'émission du nouveau photon, que la longueur d'onde d'émission est associée à la bonne valeur d'absorption et de diffusion du milieu simulé.

### Exemple d'un photon au moment d'un événement d'absorption/ fluorescence

Nous décrivons ci-dessous un exemple d'événement d'absorption pouvant arriver au cours de la trajectoire d'un photon. Dans un milieu monocouche contenant un fluorophore pour une longueur d'onde d'excitation fixée  $\lambda^{\text{exc}}$ , les propriétés optiques sont les suivantes (voir Fig. 2.5) :

- $\mu_a = 0,5 \text{ cm}^{-1}$
- $\mu_s = 100 \text{ cm}^{-1}$
- $\mu_{a,f} = 0,5 \text{ cm}^{-1}$
- $\xi = 0,5$

Le tableau ci-dessous présente les valeurs de l'intensité du spectre d'émission.

| $\lambda^{\text{emi}} \text{ [nm]}$ | 550 | 600 | 650 | 700 | 750 |
|-------------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| $Emi(\lambda^{\text{emi}})$         | 0,3 | 2,7 | 4   | 2,3 | 0,5 |

Tableau 2.1 – Valeurs de l'intensité d'émission pour un fluorophore simulé.

La probabilité que le photon soit absorbé sans événement de fluorescence d'après l'équation (2.21) est  $P_{abs} = 0,0074$ . Donc la probabilité que le photon soit absorbé par un fluorophore et subisse un événement de fluorescence est  $P_{abs,f} = 0,0025$ .

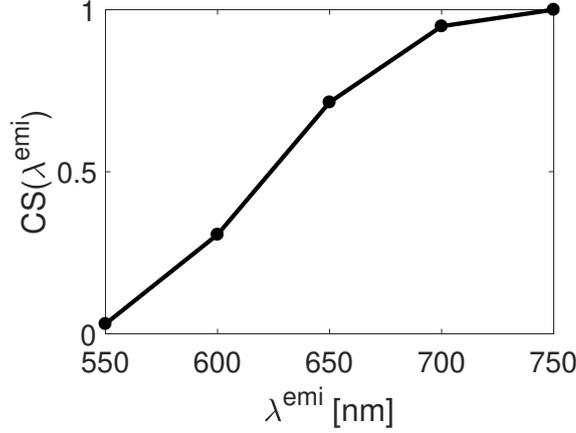


FIGURE 2.6 – Exemple de somme cumulée pour déterminer la longueur d’onde d’émission  $\lambda^{\text{emi}}$ .

Nous remarquons que la probabilité totale d’avoir un événement d’absorption  $P_{\text{tot}} = 0,01$  est faible car le milieu est très diffusant ( $\mu_s = 100 \text{ cm}^{-1}$ ).

Une variable  $u_1$  est tirée aléatoirement entre 0 et 1 avec une loi uniforme. Ainsi,  $u_1 = 0,81$  (voir l. 2 de l’algorithme 2 dans l’annexe).

La variable aléatoire  $u_1$  est multipliée avec la probabilité totale d’absorption  $P_{\text{tot}}$  et cette valeur est ensuite comparée à  $P_{\text{abs}}$  (voir l. 3 de l’algorithme 2).

- Si  $u_1 \times P_{\text{tot}} \leq P_{\text{abs}}$ , le photon est absorbé sans événement de fluorescence.
- Si  $u_1 \times P_{\text{tot}} > P_{\text{abs}}$ , le photon est absorbé et subit un événement de fluorescence.

Dans notre exemple, le photon absorbé par le fluorophore subit un événement de fluorescence car  $u_1 \times P_{\text{tot}} = 0,0081$ .

Le milieu ne contient qu’un seul fluorophore ( $P_F = 1$ ) donc l’étape consistant à déterminer quel fluorophore contribue à l’événement de fluorescence n’est pas nécessaire (l. 5-15 de l’algorithme 2). Pour déterminer la longueur d’onde d’émission du photon, une seconde variable  $u_2$  est tirée selon une loi uniforme entre 0 et 1 (voir l. 17 de l’algorithme 2). En fonction de la valeur de  $u_2$ ,

- $u_2 < CS(\lambda_1^{\text{emi}})$ , le photon émet à la première longueur d’onde d’émission  $\lambda_1^{\text{emi}}$  (voir l. 18-21 de l’algorithme 2)
- $CS(\lambda_k^{\text{emi}}) < u_2 < CS(\lambda_{k+1}^{\text{emi}})$ , le photon émet à la longueur d’onde d’émission  $\lambda_{k+1}^{\text{exc}}$  (voir l. 22-28 de l’algorithme 2)

La figure 2.6 montre les résultats des sommes cumulées obtenus à partir du tableau 2.1.

Nous avons donc  $u_2 = 0,89$ . D’après l’équation (2.25) et la figure 2.6, la longueur d’onde d’émission du nouveau photon émis est  $\lambda^{\text{emi}} = 700 \text{ nm}$ . La valeur initiale du poids  $w$  du nouveau photon émis est fixé à 1.

## 2.2.2 Intégration de la géométrie de la sonde

### Fibres de détection

En sortie du simulateur, j’ai fait le choix de séparer les photons détectés en réflectance diffuse et les photons détectés en fluorescence. Les photons détectés émis à une nouvelle longueur

d'émission  $\lambda^{\text{emi}}$  sont identifiés et comptabilisés dans la partie fluorescence.

Pour la réflectance, les photons détectés sont rangés dans une matrice en fonction de la distance SD à laquelle ils ont été détectés et en fonction de la longueur d'onde d'excitation  $\lambda^{\text{exc}}$ . Le vecteur des  $\lambda^{\text{exc}}$  est compris dans la plage des longueurs d'onde du visible.

Pour la fluorescence, les photons détectés ont subi un événement de fluorescence et sont rangés dans un cube de données dépendant des distances, des  $\lambda^{\text{exc}}$  et des  $\lambda^{\text{emi}}$ .

### 2.2.3 Intégration des longueurs d'onde

Au lieu de mettre à jour le fichier d'entrée à chaque nouvelle longueur d'onde  $\lambda$  et réaliser une simulation MC, les spectres des propriétés optiques dépendant de  $\lambda$  tels que  $\mu_a^i(\lambda)$ ,  $\mu_s^i(\lambda)$  et  $\mu_{a,f}^i(\lambda)$  sont entièrement saisis dans le fichier d'entrée et la sortie nous donne l'ensemble des spectres en RD et AF.

## 2.3 Validations et études numériques

Avant d'utiliser notre modèle direct dans la résolution du problème inverse (voir chapitre 3), nous avons réalisé les validations suivantes :

- Validation générale avec des données simulées de modèles monocouches et bicouches ;
- Validation de différentes configurations de fluorescence en faisant varier le rendement quantique  $\xi$  : un fluorophore dans un modèle monocouche, un fluorophore dans chaque couche dans un modèle bicouches et deux fluorophores dans la couche supérieure d'un modèle bicouches.

### 2.3.1 Validation des données simulées

Nous validons notre simulation MC en la comparant à des modèles analytiques présentés précédemment : [Liemert and Kienle, 2011, Kienle et al., 1998, Farrell et al., 1992] sur la figure 2.8. Pour réaliser les différentes comparaisons, j'ai choisi des modèles monocouches et bicouches avec les paramètres indiqués sur la figure 2.7. Pour le Modèle bicouches, les propriétés optiques du Modèle monocouche 1 ont été utilisées pour la couche supérieure et celles du Modèle monocouche 2 pour la couche inférieure. Pour la simulation MC,  $10^7$  photons ont été injectés.

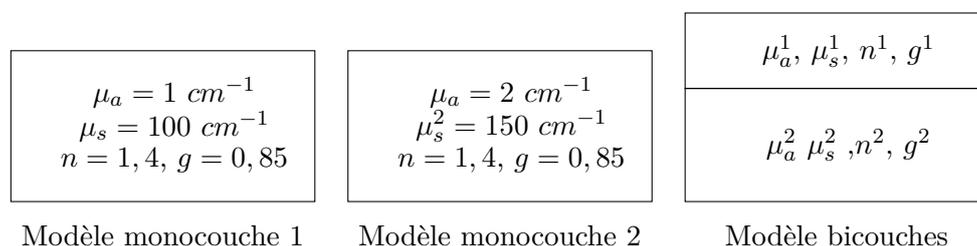


FIGURE 2.7 – Modèles monocouches et bicouches numériques utilisés pour la validation.

Sur la figure 2.8, les graphes à droite sont des zooms des graphes placés à gauche. Les deux premières lignes montrent, respectivement, les modèles monocouches 1 et 2. La dernière ligne de graphes de la figure 2.8 montre les résultats obtenus pour le modèle bicouches. Sur les graphes placés à gauche, nous observons que les tendances des courbes simulées sont similaires pour des

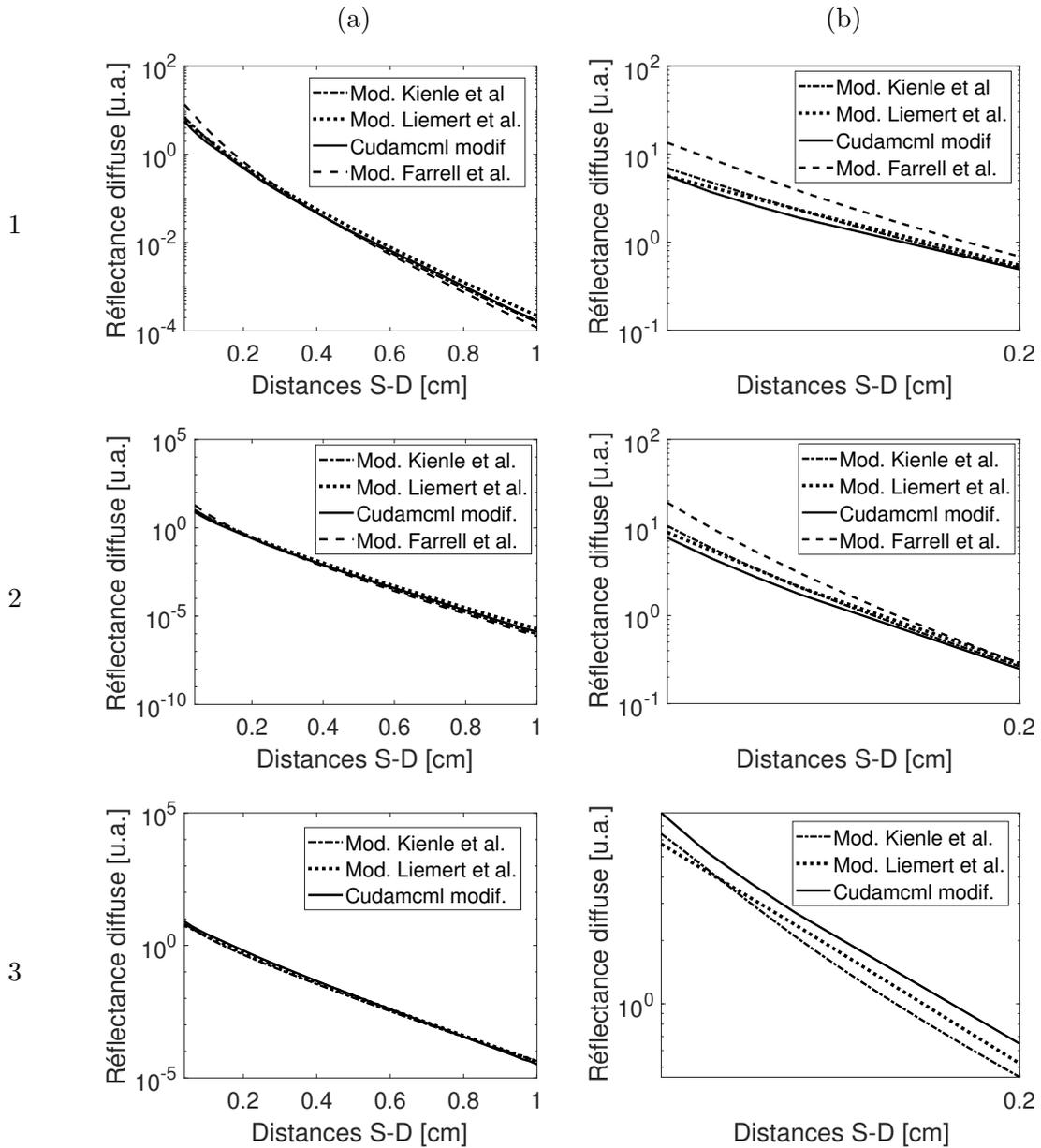


FIGURE 2.8 – Modèles monocouches 1 et 2, respectivement les deux premières figures et modèle bicouche en 3, dernière figure. Les graphes de la colonne de droite (b) montrent un zoom des graphes de la colonne de gauche (a).

| Milieu monocouche 1           | Milieu monocouche 2           | Milieu bicouche                             |
|-------------------------------|-------------------------------|---|
| $\mu_a = 1 \text{ cm}^{-1}$   | $\mu_a = 2 \text{ cm}^{-1}$   | $\mu_a^{1,2} = [1 \ 2] \text{ cm}^{-1}$     |
|                               |                               | $z = 1 \text{ mm}$                          |
| $\mu_s = 100 \text{ cm}^{-1}$ | $\mu_s = 150 \text{ cm}^{-1}$ | $\mu_s^{1,2} = [100 \ 150] \text{ cm}^{-1}$ |
|                               | $n = 1,4$                     | $g = 0,85$                                  |

Tableau 2.2 – Les propriétés optiques de chaque modèle

grandes distances SD (1 cm) car nous utilisons des solutions analytiques dont certaines sont basées sur l’approximation de la diffusion qui s’avère efficace aux grandes distances SD. Cela nous permet de valider notre simulation MC sur des grandes distances SD.

Sur les graphes situés à gauche, on observe un zoom sur des courtes distances SD (0,2 cm) qui incluent notre zone d’intérêt, les distances SD de la sonde optique. Les courbes tracées ne sont absolument pas superposées, ce qui souligne la difficulté des solutions analytiques sur des faibles distances SD. Cela nous permet de valider de notre choix d’utiliser une simulation MC qui se révèle plus performant sur ces courtes distances. Au-delà de 0,2 cm, les courbes des différents modèles commencent à converger.

### 2.3.2 Validation de fluorescence

Il faut ensuite vérifier l’implémentation de la fluorescence. Notamment comment le code réagit en fonction des paramètres associés à la fluorescence tels que le rendement quantique. En fonction d’un rendement quantique nul par exemple ou un rendement quantique maximal, le spectre en sortie sera différent physiquement. Si le modèle respecte la physique attendue, le code sera validé.

Le modèle est d’abord testé avec un seul fluorophore présent dans le milieu avec une variation du rendement quantique. Ensuite, un fluorophore dans chaque couche est testé. Puis la prise en compte de deux fluorophores dans chaque couche est également simulée et validée.

Pour les courtes distances, l’influence de la diffusion est importante, car plus celle-ci est grande, plus les photons détectés augmentent. Pour les grandes distances, l’impact de la diffusion est observable, mais c’est surtout l’impact de l’absorption qui augmente avec la distance SD.

#### Influence du rendement quantique

Pour étudier les paramètres du rendement quantique, j’ai réutilisé les paramètres définis pour le modèle bicouche dans le tableau 2.2. Ensuite, j’ai ajouté un fluorophore dans la couche supérieure pour observer l’impact de la variation du rendement quantique  $\xi$  de celui-ci sur la réflectance obtenue en sortie du MC. Les propriétés du fluorophore sont les suivantes :

- le coefficient d’absorption du fluorophore  $\mu_{a,f} = 0,5 \text{ cm}^{-1}$
- le rendement quantique  $\xi$  avec 4 valeurs testées :  $[0 \ 0,1 \ 0,5 \ 1]$
- le spectre d’émission du fluorophore (voir Fig. 2.9) avec 22 longueurs d’onde d’émission comprises entre  $[510-720] \text{ nm}$

J’ai donc lancé quatre simulations MC pour chaque valeur de rendement quantique.

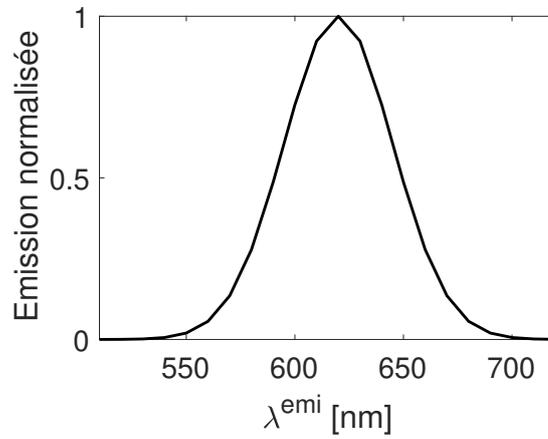


FIGURE 2.9 – Spectre d’émission normalisé d’un fluorophore simulé numériquement à l’aide d’une gaussienne.

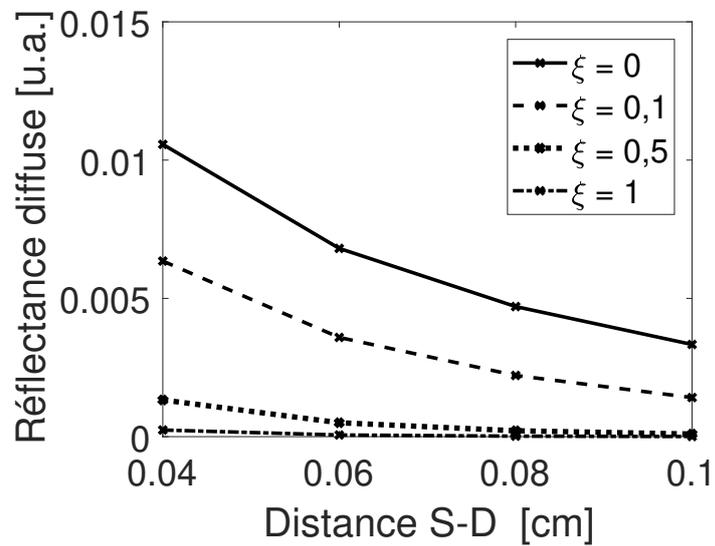


FIGURE 2.10 – Variation de la réflectance diffuse pour 4 valeurs de rendement quantique  $\xi$  comprises entre 0 et 1.

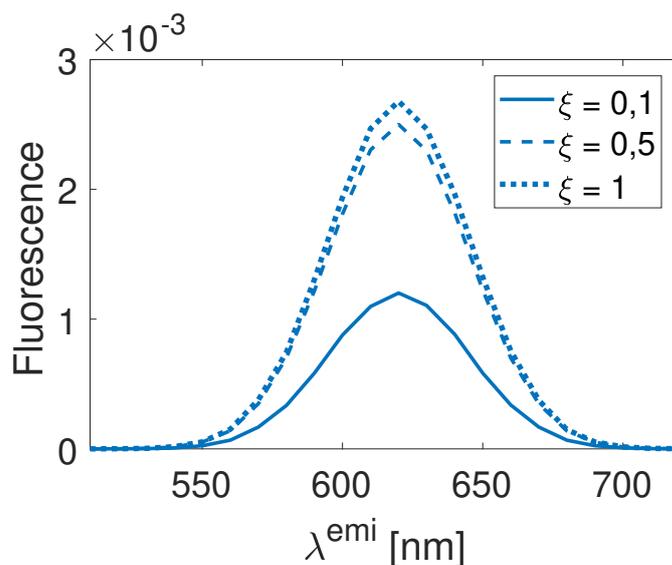


FIGURE 2.11 – Fluorescence pour la première distance SD  $D_1 = 0,04\text{cm}$  et pour différentes valeurs de rendement quantique  $\xi$ .

D'après la figure 2.10, la réflectance diffuse diminue avec l'augmentation du rendement quantique. Pour  $\xi = 0$ , l'absorption du fluorophore se comporte comme un absorbeur normal, puisque la probabilité d'avoir un événement de fluorophore, d'après (2.22) est nulle.

Pour la première distance SD  $D_1 = 0,04\text{ cm}$ , l'augmentation du rendement quantique entraîne une diminution de :

- 40 % environ de la réflectance diffuse calculée entre  $\xi = 0$  et  $\xi = 0,1$
- 88 % environ de la réflectance diffuse calculée entre  $\xi = 0$  et  $\xi = 0,5$
- 98 % environ de la réflectance diffuse calculée entre  $\xi = 0$  et  $\xi = 1$

D'après les figures 2.10 et 2.11, nous observons que l'augmentation du rendement quantique impacte fortement la réflectance diffuse puisque l'augmentation du rendement quantique diminue l'intensité de la réflectance diffuse<sup>19</sup> et augmente la fluorescence calculée. Nous observons aussi la non linéarité des données de fluorescences en fonction du rendement quantique via les résultats de spectres de fluorescences observés sur la figure 2.11. En effet, le spectre de fluorescence de  $\xi = 0,5$  et le spectre de fluorescence de  $\xi = 1$  sont très proches.

### Un fluorophore dans chaque couche

Après avoir testé un fluorophore dans la couche supérieure, j'ai testé la fonctionnalité de l'algorithme avec un fluorophore dans la couche supérieure avec une épaisseur de  $z = 300\ \mu\text{m}$  et un autre dans la couche inférieure. La figure 2.12 montre en trait plein le spectre d'émission de fluorescence normalisé du fluorophore situé dans la couche supérieure et en trait discontinu, le spectre d'émission de fluorescence normalisé du fluorophore situé dans la couche inférieure.

Nous avons comparé les spectres de fluorescence obtenus en fonction du rendement quantique de chaque fluorophore :

19. Dans le cas où la longueur d'excitation n'est pas comprise dans les longueurs d'onde d'émission.

1.  $\xi^1 = 0,5$  et  $\xi^2 = 0,1$
2.  $\xi^1 = 0,1$  et  $\xi^2 = 0,5$

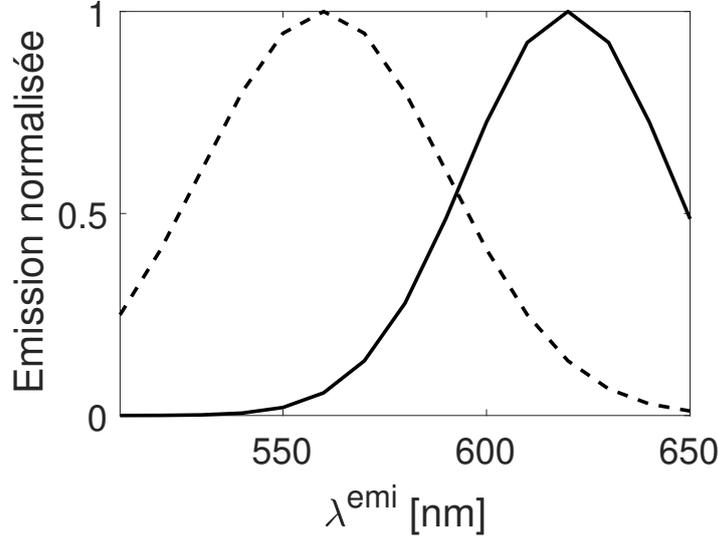


FIGURE 2.12 – Spectres d'émission normalisée de deux fluorophores

La différence d'intensité entre les deux pics de fluorescence est de 50 %. Les photons émis par fluorescence dans la couche inférieure subissent ensuite des événements de diffusion et d'absorption de la couche supérieure. Dans le cas où  $\xi^1 = 0,1$  et  $\xi^2 = 0,5$ , la contribution du fluorophore de la couche supérieure est reconnaissable malgré un faible rendement quantique contrairement au cas inverse.

### Deux fluorophores dans une même couche

Nous reprenons le modèle bicouche avec une épaisseur de la première couche fixée à 300  $\mu m$  et cette fois-ci les deux fluorophores précédents dont les spectres d'émission normalisée sont représentés sur la figure 2.12 sont maintenant situés dans la couche supérieure. Nous avons comparé le spectre de fluorescence obtenu en fonction du rendement quantique de chaque fluorophore situé dans la couche supérieure :

1.  $\xi_{f_1}^1 = 0,1$  et  $\xi_{f_2}^1 = 0,5$
2.  $\xi_{f_1}^1 = 0,5$  et  $\xi_{f_2}^1 = 0,1$

Contrairement au cas précédent (un fluorophore dans chaque couche), la contribution en intensité des deux fluorophores est moins élevée. La différence d'intensité entre les pics de fluorescence est de 30 % environ. La probabilité que l'événement de fluorescence soit dû au fluorophore de la couche supérieure est d'environ 17 %. Le spectre de fluorescence du cas  $\xi_{f_1}^1 = 0,1$  et  $\xi_{f_2}^1 = 0,5$  est moins élevé car les photons fluorescents subissent les événements d'absorption et de diffusion de l'ensemble du milieu (couche supérieure et couche inférieure). Alors que dans le cas  $\xi_{f_1}^1 = 0,5$  et  $\xi_{f_2}^1 = 0,1$ , les photons fluorescents qui contribuent au spectre d'émission de fluorescence ont subi les événements de la couche supérieure principalement.

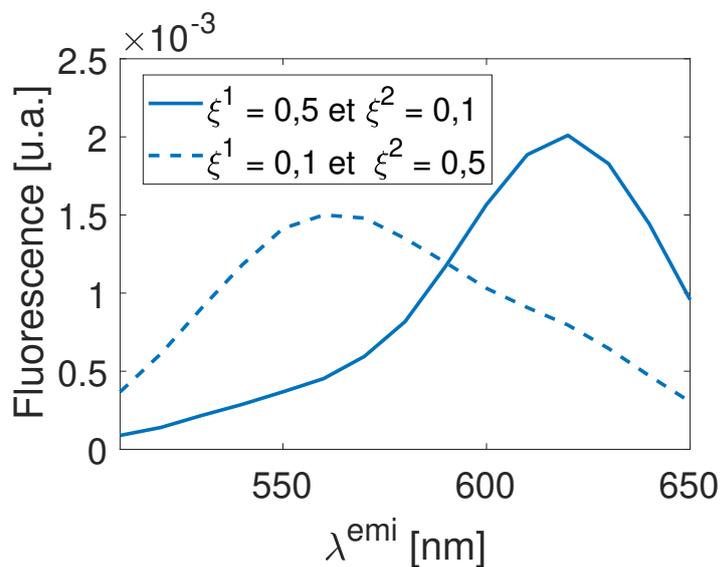


FIGURE 2.13 – Fluorescence pour la première distance SD  $D_1$  pour un fluorophore dans chaque couche

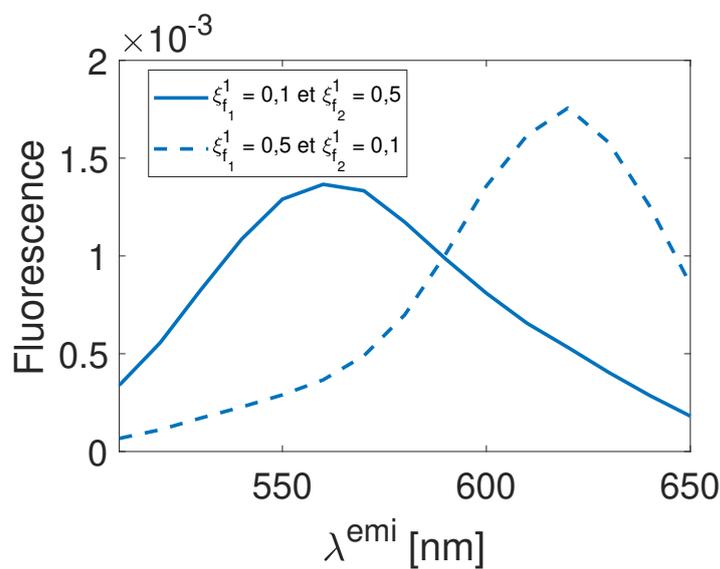


FIGURE 2.14 – Spectres de fluorescence avec deux fluorophores contenus dans la couche supérieure avec des variations de rendement quantique.

### 2.3.3 Validation avec un fantôme expérimental

#### Fantôme bicouches

Nous avons choisi un fantôme bicouches avec la présence d'un fluorophore dans la première couche. Simuler les spectres de fluorescence est compliqué, car la connaissance du rendement quantique est requis dans le modèle, or je n'ai pas la connaissance exacte de celui de la chlorine e6 (fluorophore).

La couche supérieure de 2 mm d'épaisseur est composée de :

- gel d'agarose : 1 % (poids/vol.),
- d'encre de chine : 0,06 % (vol./vol.),
- d'intralipides-20 % : 2 % (vol./vol.)
- et de chlorin e6 :  $83 \mu M$ .

La couche inférieure de 10 mm d'épaisseur est composée de :

- gel d'agarose : 1 % (poids/vol.),
- d'encre de Chine : 0,12 %
- et d'intralipides-20 % : 1 %.

L'ensemble des détails des spectres d'encre et du fluorophore chlorin e6 sont à retrouver dans le sous sous-paragraphe 3.3.3 du chapitre 3.

Pour réaliser les données simulées avec la simulation MC, nous avons injecté  $10^7$  photons, les indices de réfraction des milieux sont fixés à 1 car le gel d'agarose est composée principalement d'eau. Le facteur d'anisotropie est fixé à 0,85.

Nous avons réalisé un calibrage entre les données expérimentales en RD et les données simulées. En effet, les données simulées comptent le nombre de photons alors que celles issues de l'instrument sont exprimées dans une unité arbitraire. Les calibrages appliqués pour réaliser la Fig. 2.15 sont (3.16) et (3.17) détaillés dans le chapitre 3.

Les fantômes et les acquisitions des données expérimentales ont été réalisées par Marine Amoureux et Sergey Zaytsev.

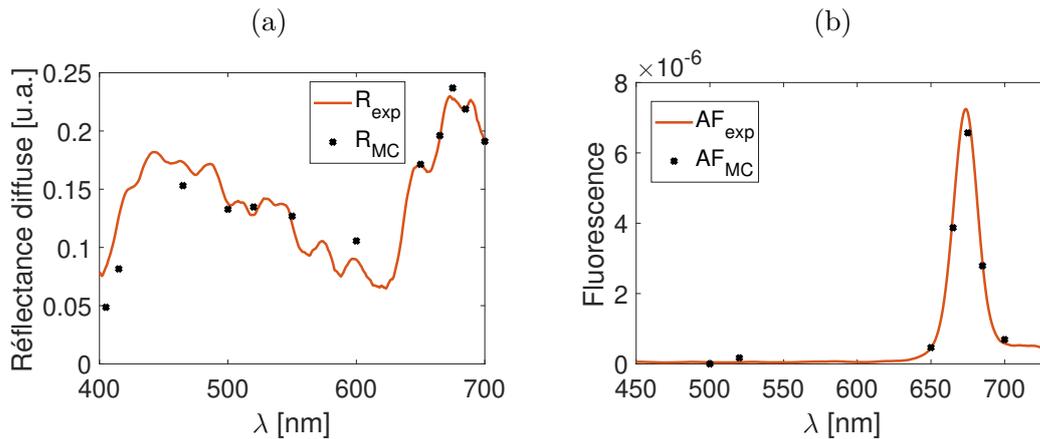


FIGURE 2.15 – Spectres de réflectance diffuse (a) et d'autofluorescence (b) d'un fantôme bicouches en trait plein pour les données expérimentales et les données simulées avec notre simulation Monte Carlo en '•' pour la distance SD  $D_2$ .

### 2.3.4 Étude numérique sur le nombre de photons

Comme nous l'avons vu, la simulation MC est un modèle stochastique et ceci est dû à l'emploi de plusieurs tirages aléatoires au cours de la simulation. Par conséquent, pour des paramètres identiques en entrée, les résultats de la même simulation MC seront sensiblement différents d'une fois sur l'autre (bruit de modèle). Celui-ci est fortement relié au nombre de photons injectés dans la simulation. L'objectif est donc de trouver un compromis entre le temps de calcul et la stabilité des données simulées.

Pour cela, nous avons sélectionné 5 nombres de photons différents à injecter dans notre simulation MC :

|               | (1)    | (2)    | (3)    | (4)    | (5)    |
|---------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| $N_{photons}$ | $10^4$ | $10^5$ | $10^6$ | $10^7$ | $10^8$ |

Tableau 2.3 – Les nombres de photons  $N_{photons}$  utilisés pour réaliser les simulations.

Pour chaque nombre de photons, nous répétons 30 fois la simulation MC pour mettre en évidence les variabilités et pouvoir les quantifier à l'aide de la moyenne et de l'écart-type.

Deux modèles optiques sont simulés avec l'un très diffusant  $Sim_1$  et l'autre très absorbant  $Sim_2$ . Les paramètres optiques sont fixés dans le tableau 2.4 et ne dépendent pas de la longueur d'onde.

**Remarque 2.1** Une simulation de référence à  $10^{10}$  photons est réalisée au préalable pour chaque modèle optique  $Sim_1$  et  $Sim_2$ .

|           | $Sim_1$ | $Sim_2$ |
|-----------|---------|---------|
| $\mu_a$   | 1       | 5       |
| $\mu_s$   | 200     | 50      |
| $g$       | 0.85    | 0.85    |
| $n_{int}$ | 1.37    | 1.37    |
| $n_{ext}$ | 1.45    | 1.45    |

Tableau 2.4 – Résumé des propriétés optiques utilisées pour l'étude, les deux modèles optiques  $Sim_1$  et  $Sim_2$ .

Les résultats de RD des moyennes et écart-types des différents nombre de photons sont détaillés pour chaque distance  $D_{1:4}$  et résumés sur les figures 2.16 et 2.18. Nous voyons que pour  $Sim_1$  et  $Sim_2$ , les écart-types diminuent en fonction du nombre de photons et la moyenne, symbolisée par un point, rejoint la valeur de référence (ligne noire).

Ces variations s'expliquent par la distribution des trajectoires des photons obtenue lors de l'exécution d'une simulation MC. En effet, lorsque le nombre de photons est élevé ( $\geq 10^6$ ), la distribution des trajectoires des photons est simulée avec précision. Pour un nombre de photons moins élevé, la distribution des trajectoires des photons est plus large et donc le bruit de modèle augmente. Nous voyons aussi que l'erreur se propage en fonction de la distance source-détecteur.

La Fig. 2.17 montre les erreurs relatives en fonction de la distance pour les différents nombres de photons. Les erreurs relatives augmentent en fonction de la distance SD.

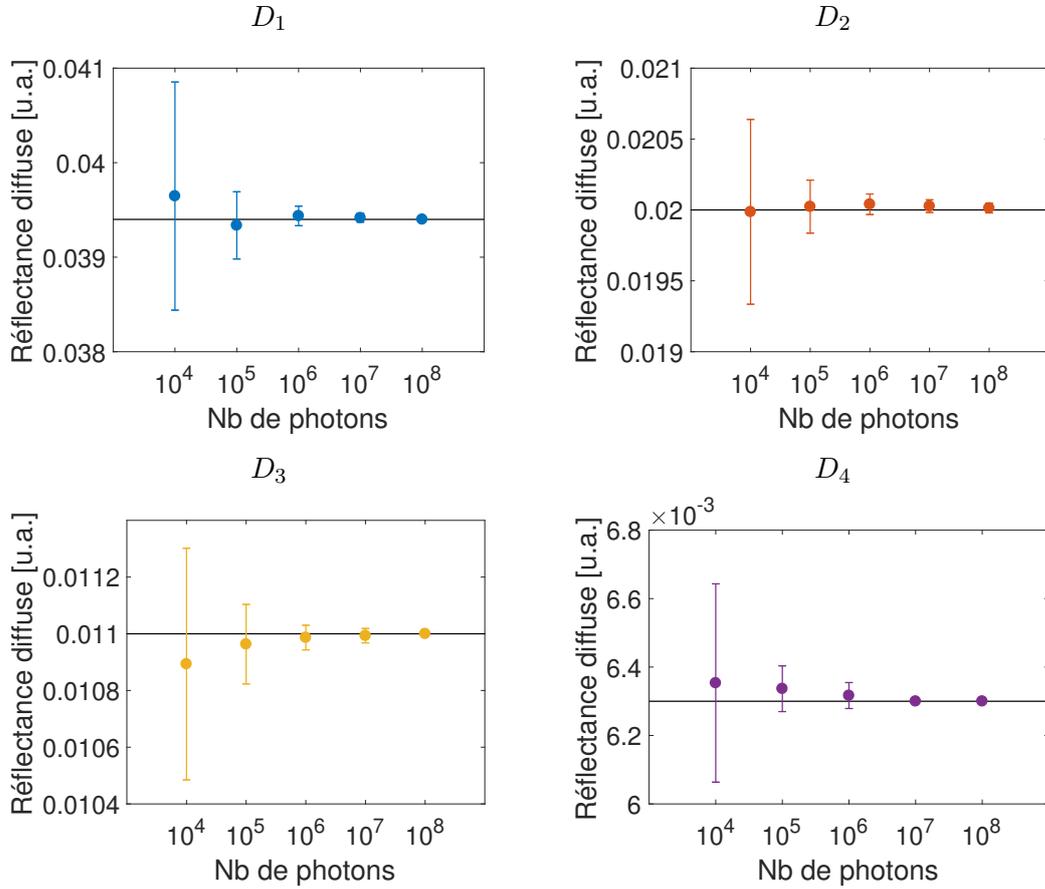


FIGURE 2.16 – Résultats des réflectances diffuses simulées avec les barres d'écart-type en fonction du nombre de photons pour les paramètres optiques de  $Sim_1$  et pour chaque distance  $D_{1:4}$ .

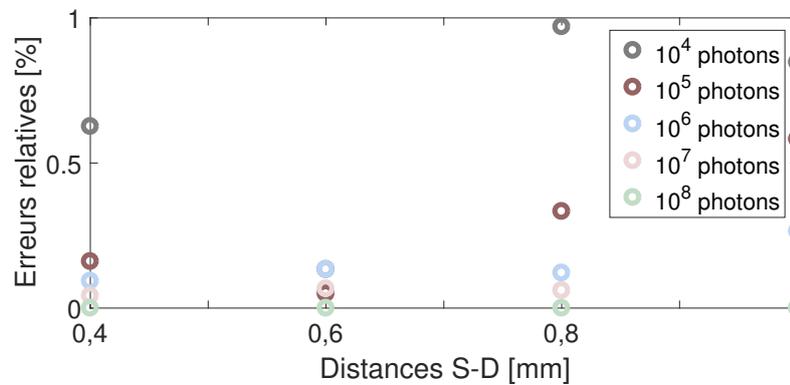


FIGURE 2.17 – Erreurs relatives issues de la simulation  $Sim_1$ . Les erreurs normalisées diminuent en fonction du nombre de photons. Elles augmentent avec la distance SD.

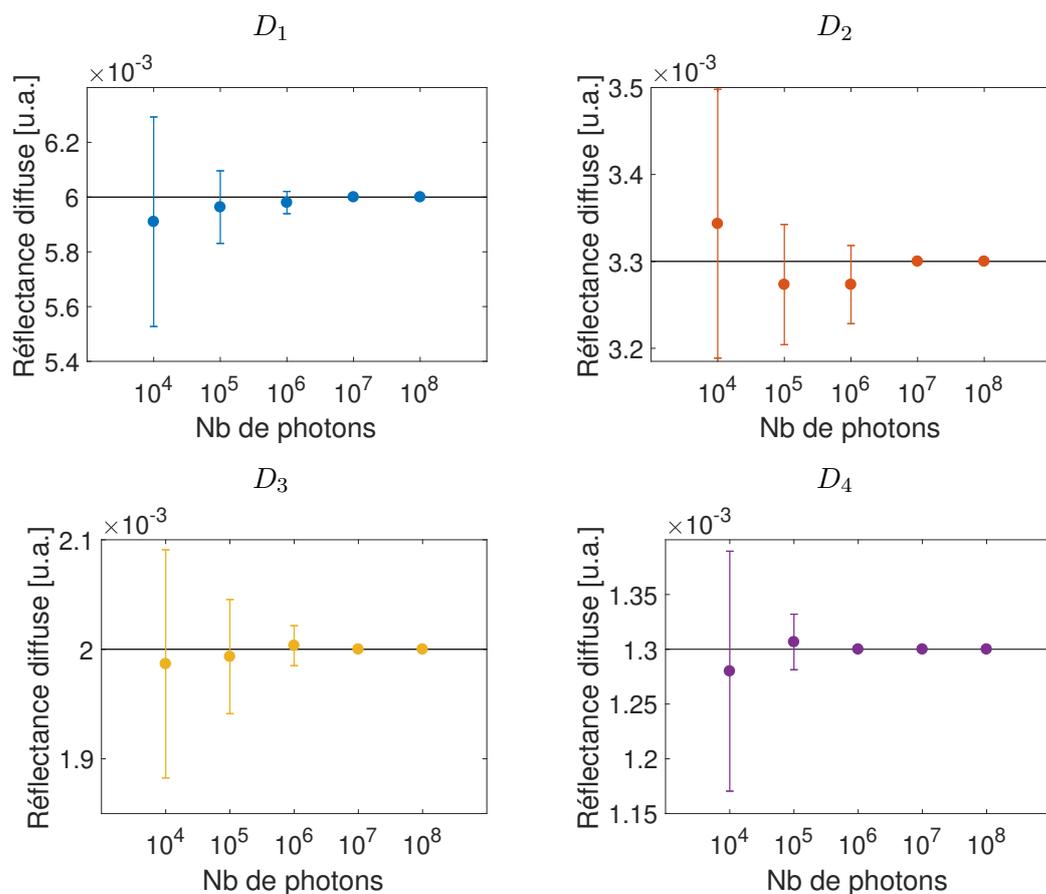


FIGURE 2.18 – Résultats des réflectances diffuses simulées avec les barres d'écart-type en fonction du nombre de photons pour les paramètres optiques de  $Sim_2$

Les figures 2.16 et 2.18 montrent les résultats issus des simulations  $Sim_1$  et  $Sim_2$  dont les propriétés optiques sont résumées dans le tableau 2.4 et en fonction de différents nombres de photons 2.3. Nous observons que le bruit de modèle est plus important pour  $N_{photons} \leq 10^5$  quel que soit le milieu.

Le nombre de photons choisi pour la suite de nos travaux, lors des simulations MC, est  $10^7$  photons.

## 2.4 Temps de simulation

Dans la littérature, les temps de simulations en séquentiel sont élevés. Pour une simulation MC d'échelle en milieu homogène non-absorbant et une seule distance SD de  $200 \mu m$ , le temps de calcul est d'environ 1 h pour  $10^6$  photons [Tseng et al., 2011].

Dans le cas d'une simulation MC programmée sur GPU, le temps de simulation atteint 2 mn pour 400 simulations et une distance SD de  $250 \mu m$  [Hennessy et al., 2013]. Ils ont injecté  $10^6$  photons par simulation dans le but d'obtenir une *Look-up table* (LUT) de dimensions  $[0 - 50] cm^{-1}$  en diffusion et  $[0 - 50] cm^{-1}$  en absorption (un pas de 20 pour chaque paramètre).

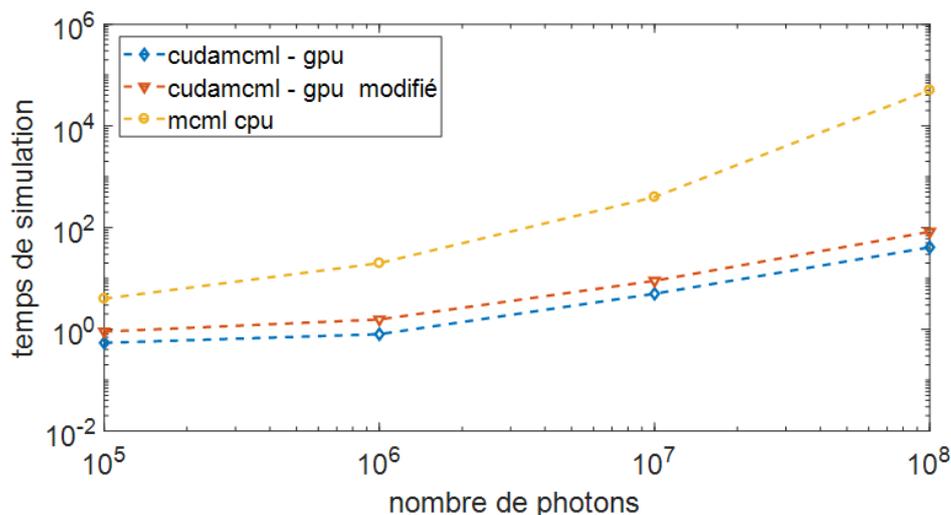


FIGURE 2.19 – Comparaison des temps de simulation en fonction du nombre de photons pour le calcul des spectres RD dans un milieu monocouche.

Pour les mêmes paramètres d'entrée, excepté le nombre de photons, nous évaluons le temps de simulation.

Deux possibilités d'optimiser le code : soit sur *Central Processing Unit* CPU avec OpenMp ou MPI soit sur *Graphics Processing Unit* GPU avec CUDA.

### 2.4.1 Optimisation CPU

Dans un premier temps, je me suis penchée sur la parallélisation du CPU pour accélérer notre simulation en C++. Un processus exécuté en séquentiel ne fait appel qu'à un seul thread<sup>20</sup> tandis qu'en parallèle, le processus est réparti sur plusieurs threads. Le code peut gérer des parties en séquentiel et en parallèle. Dans notre cas, on souhaite exécuter en parallèle le trajet de chaque photon qui contient des opérations identiques. En effet, chaque photon se déplace dans le milieu indépendamment des autres et c'est cette partie de l'algorithme qui est parallélisée. Lorsque le photon arrive en fin de vie, il sort de la parallélisation et nous récupérons ses informations si celui-ci est détecté.

Pour réaliser cela, la bibliothèque OpenMP a été utilisée, car les modifications nécessaires pour l'intégration de la parallélisation dans notre simulation en C++ sont peu élevées et la gestion des communication entre processus est moins complexe que la bibliothèque MPI (un seul nœud de calcul était utilisé).

### 2.4.2 Optimisation GPU

Nous nous sommes ensuite tournée vers les GPU situés sur les cartes graphiques, car nous avons eu accès à des ressources informatiques plus importantes. L'utilisation du langage CUDA (*Compute Unified Device Architecture*) est nécessaire pour faire le lien entre le CPU et le GPU puisque les processus parallélisés seront lancés sur le GPU. Dans notre cas, nous nous sommes

20. Un thread correspond à un processus léger et contient une pile d'exécution.

| Nombre de photons                     | GTX  | P100  | K20m  |
|---------------------------------------|------|-------|-------|
| $15 \lambda^{\text{exc}} \times 10^7$ | 3 s  | 3.5 s | 16 s  |
| $15 \lambda^{\text{exc}} \times 10^8$ | 27 s | 30 s  | 154 s |

Tableau 2.5 – Tableau récapitulatif du temps de calcul en fonction des cartes graphiques, du nombre de longueurs d’onde d’excitation  $N_{\lambda^{\text{exc}}} = 15$  et du nombre de photons pour une simulation Monte Carlo.

tournés vers une simulation MC libre sous licence publique générale GNU implémenté en CUDA et C [Alerstam et al., 2008].

Les paramètres liés au GPU tels que le nombre de *blocks*, *threads* influencent aussi le temps de simulation.

Pour améliorer les temps de nos simulations et plus particulièrement lors de la résolution d’un problème inverse (voir chapitre 3), nous avons implémenté le calcul de la RD et de l’AF pour toutes les longueurs d’onde au lieu d’une longueur d’onde par une longueur d’onde. Le but étant de réduire le temps de transfert des données entre l’*host* et le *device*. L’*host* désigne la mémoire du CPU et le *device* indique celle du GPU (voir Fig.2.20).

D’après le tableau 2.5 réalisé pour un milieu bicouches intégrant un fluorophore différent dans chaque couche, les cartes graphiques NVIDIA GTX 1080 et P100, plus récentes et plus performantes que la K20m, ont été utilisées pour exécuter notre modèle. Ces cartes graphiques sont mises à disposition grâce à un mésocentre de calculs Explor. La connexion à cette plateforme permet de soumettre des jobs de calculs sur la carte graphique choisie. Nous remarquons que les temps de simulations pour notre simulation MC sont plus importants que ceux obtenus par les simulations MC de [Hennessy et al., 2013, Alerstam et al., 2008]. Cela s’explique par les modifications que nous avons intégré dans notre algorithme et en particulier l’intégration du phénomène de fluorescence dans la simulation.

Les données initialisées sur la mémoire CPU nécessaire au déroulement de la simulation sont copiées sur la carte graphique et l’envoi de ces données consomment du temps de simulation (voir Fig. 2.20). Il est possible de contrôler ce temps de communication des données avec l’ajout de nombres de *blocks* et de *threads* dépendant de la carte graphique Nvidia GPU utilisée.

Donc augmenter le nombre total de *blocks* et de *threads* est l’une des premières solutions que nous avons utilisée pour réduire le temps de calculs des simulations MC. Le nombre total de *threads* dépend directement du nombre de *blocks*. Cependant, il faut être vigilant au temps de transition des données du CPU au GPU et des transitions au sein des *threads* (voir Fig. 2.20). D’après le tableau 2.6, nous voyons que l’augmentation du nombre total de *blocks* de *threads* réduit le temps de calcul lorsqu’on compare pour 16, 64 et 500 *blocks*, cela confirme que l’augmentation de ces paramètres réduit le temps de calcul. Par contre, cette affirmation s’avère fautive dans le cas de 128 *blocks* qui possède des temps de simulations plus faibles par rapport à 500 *blocks*. Finalement, ces tests permettent de faire le bon choix de paramétrage, mais ce choix repose aussi en partie sur la documentation spécifique de la carte graphique du constructeur. Le nombre de *blocks* et le nombre de *threads* choisis sont, respectivement, 28 et 8 960.

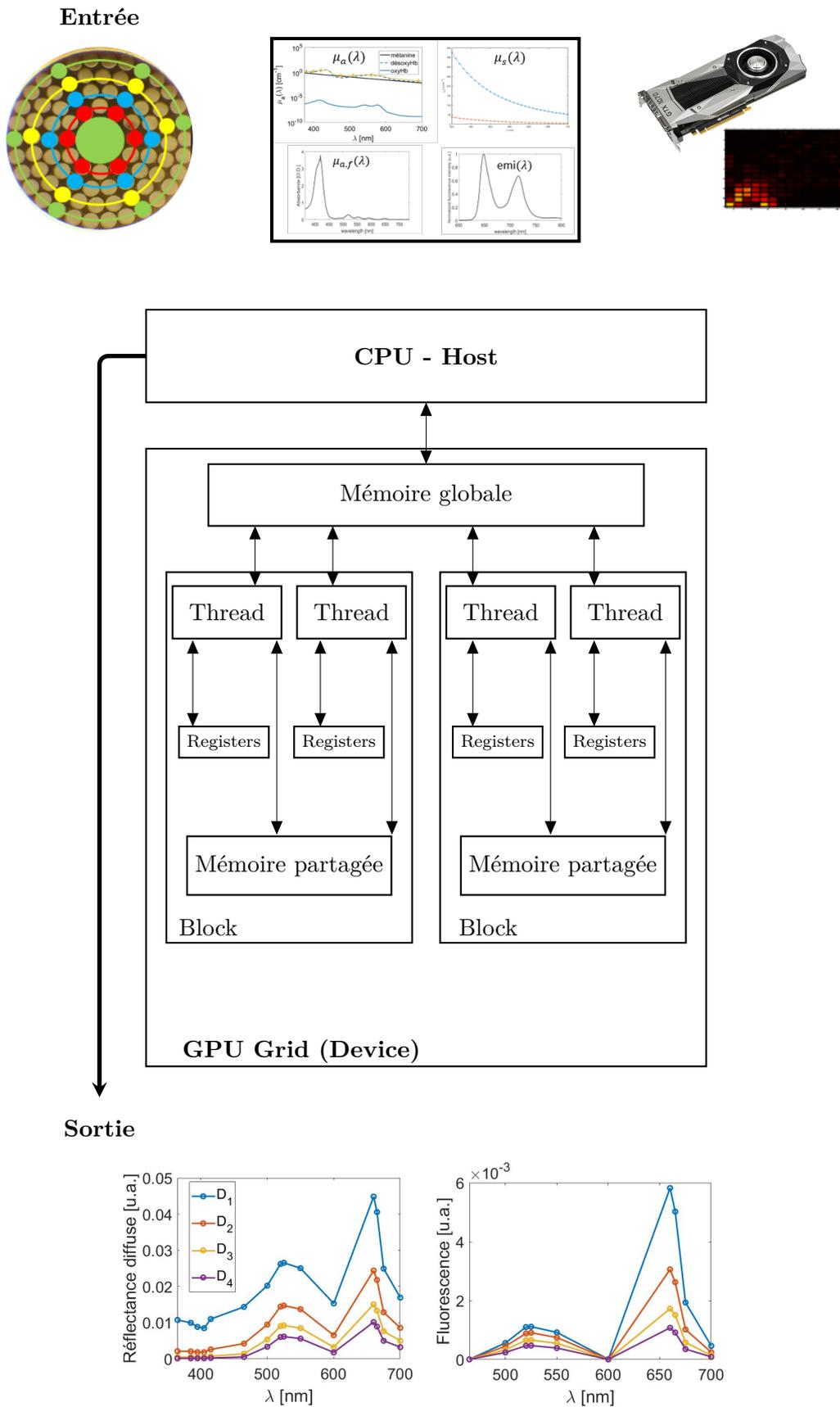


FIGURE 2.20 – Schéma du code Cuda/GPU implémenté

| Nb de <i>blocks</i> | Nb total de <i>threads</i> | Temps [s] |
|---------------------|----------------------------|-----------|
| 500                 | 320000                     | 32        |
| 128                 | 131072                     | 28        |
| 128                 | 81920                      | 30        |
| 64                  | 65536                      | 32        |
| 64                  | 40960                      | 35        |
| <b>28</b>           | <b>8960</b>                | <b>26</b> |
| 16                  | 16354                      | 61        |
| 16                  | 10240                      | 71        |

Tableau 2.6 – Variation du temps de simulation MC sur GPU en fonction du nombres de blocks et de Threads pour  $10^7$  photons.

Nous gardons également en mémoire que le temps d’exécution de la simulation MC augmente proportionnellement avec le nombre de photons.

## 2.5 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons détaillé les étapes de développement et de validation notre simulation Monte Carlo qui simule la propagation des photons dans un tissu biologique. Ce modèle intègre deux modalités spectrales, la réflectance et la fluorescence et la géométrie de la sonde optique utilisée expérimentalement et présenté à le paragraphe 1.4 du chapitre 1. Le modèle implémenté a été validé numériquement en comparaison de résultats publiés dans la littérature et expérimentalement. Les temps d’exécution importants nous ont conduit à des choix techniques, celui de programmer en CUDA pour paralléliser le calcul du trajet des photons en exploitant les architectures GPU des cartes graphiques et d’intégrer le calcul de toutes les longueurs d’onde en une seule simulation.

Cette simulation MC sera donc utilisée dans la suite des travaux présentés. Dans le chapitre suivant, nous nous intéresserons au processus d’inversion de données spectroscopiques en utilisant en particulier la simulation MC. L’objectif est donc d’extraire des informations, en l’occurrence des propriétés optiques des tissus provenant des données spectroscopiques acquises expérimentalement ou simulées à l’aide d’une simulation MC.

## Chapitre 3

# Résolution du problème inverse : estimation des propriétés optiques de milieux multicouches en spectroscopie tissulaire.

*Dans l'espace, rien n'est jamais  
totalement immobile ; on se mettait  
simplement en orbite inverse avec un  
autre objet.*

---

*The expanse tome 1 J.S.A. Corey*

### Sommaire

---

|     |  |    |
|-----|--|----|
| 3.1 | Description générale du problème à résoudre . . . . .                | 67 |
| 3.2 | État de l'art sur la résolution du problème inverse en spectroscopie | 69 |
| 3.3 | Travaux réalisés . . . . .   | 77 |
| 3.4 | Conclusion . . . . .   | 99 |

---

### 3.1 Description générale du problème à résoudre

Le chapitre 2 a introduit le modèle direct de propagation de la lumière dans les tissus biologiques basé sur une simulation MC. Le chapitre 3 se focalise sur la résolution d'un problème inverse pour estimer les propriétés optiques en absorption, diffusion et fluorescence des milieux multicouches à partir de mesures en spectroscopie tissulaire résolue spatialement.

Le problème inverse consiste à déterminer les paramètres physiques (vecteur  $\mathbf{p} = [\mu_a, \mu_s, cf\dots]$ ) d'un modèle multicouches de tissu biologique à partir des données spectroscopiques expérimentalement acquises sur ce tissu.

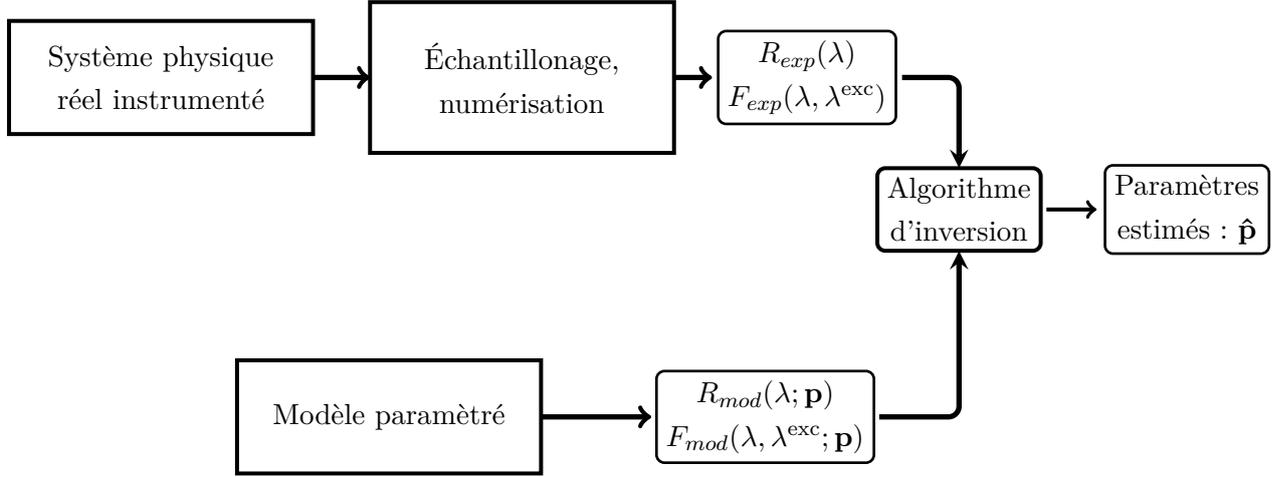


FIGURE 3.1 – Schéma général du problème inverse avec  $R_{exp}(\lambda)$  et  $F_{exp}(\lambda, \lambda^{exc})$  les données expérimentales et  $R_{mod}(\lambda; \mathbf{p})$  et  $F_{mod}(\lambda, \lambda^{exc}; \mathbf{p})$  les données simulées.

La difficulté à résoudre ce problème inverse réside dans le fait qu'il s'agit d'un problème :

- mal posé ou sous-déterminé à cause d'un manque de données, de bruit sur les données et entraîne une nécessité d'ajouter des contraintes et des connaissances *a priori* pour réduire l'espace des solutions ;
- non-linéaire liée à l'estimation des paramètres dans la simulation MC (voir Chapitre 2).

Pour résoudre notre problème inverse, l'écart quadratique entre les réflectances expérimentales  $R_{exp}$  et les réflectances simulées  $R_{mod}$ , représenté par une fonction coût  $f$ , est minimisé pour obtenir une estimation des valeurs d'un vecteur de paramètres optiques  $\mathbf{p}$ . Cette minimisation de  $f$  se formule de la façon suivante :

$$\min_{\mathbf{p}} f(\mathbf{p}) = \{\mathcal{D}(R_{exp}, R_{mod}(\mathbf{p}))\} \quad (3.1)$$

où  $R_{exp}$  correspond à un ensemble de spectres mesurés et  $\mathcal{D}$  est l'écart quadratique entre  $R_{exp}$  et  $R_{mod}(\mathbf{p})$  (somme des carrés des erreurs d'approximation  $R_{exp} - R_{mod}(\mathbf{p})$ ). Le vecteur des paramètres à estimer  $\mathbf{p}$  peut être plus ou moins complexe en fonction du modèle numérique simulé, par exemple :  $\mathbf{p} = [\mu_a^i(\lambda), \mu_s^i(\lambda), Fluor]$  avec  $i$  le numéro de chaque couche d'un modèle multi-couches = 1 :  $N_{layers}$  et  $N_{layers} \geq 1$  le nombre total de couches.

Considérer une distance quadratique s'interprète comme l'estimation des paramètres au sens du maximum de vraisemblance et en supposant le bruit gaussien, indépendant et identiquement distribué. Ici, estimer  $\mathbf{p}$  au sens du maximum de vraisemblance, conduit généralement à minimiser un critère non-convexe. Un algorithme d'optimisation est utilisé pour trouver  $\mathbf{p}$ .

La Fig. 3.1 montre les parties nécessaires à la résolution d'un problème inverse :

1. Les données expérimentales  $R_{exp}$  et  $F_{exp}$  sont mesurées à l'aide du dispositif expérimental (voir Chapitre 1). Ce sont donc les données que l'on souhaite analyser.
2. Le modèle direct calcule les données simulées  $R_{mod}$  et  $F_{mod}$  à l'aide des paramètres physiques rassemblés dans le vecteur  $\mathbf{p}$ . Nous sommes donc dans le cas d'une estimation paramétrique.
3. Un algorithme d'optimisation globale permet d'optimiser  $\mathbf{p}$  en minimisant (3.1). Les paramètres estimés optimaux  $\hat{\mathbf{p}}$  sont obtenus lorsque l'un des critères d'arrêt est atteint.

Le paragraphe 3.2 s'intéresse aux solutions présentes dans la littérature pour résoudre des problèmes inverses mal posés formulés comme un problème d'optimisation numérique et qui possèdent dans la plupart des cas des minima locaux. Les travaux réalisés sont présentés dans le paragraphe 3.3.1 :

- une étude sur les fonctions coûts et les algorithmes d'optimisation associés (paragraphe 3.3.1)
- et la proposition d'une fonction coût intégrant l'ensemble des modalités spectrales (paragraphe 3.3.3).

## 3.2 État de l'art sur la résolution du problème inverse en spectroscopie

### 3.2.1 Fonctions coûts

La fonction coût (ou fonction objectif) calcule une mesure d'écart entre les données expérimentales et les données simulées par le modèle direct.

Nous nous intéressons aux fonctions coûts basées sur les moindres carrés, c'est-à-dire une mesure d'écart quadratique.

Les principales fonctions coûts utilisées dans la littérature se basent sur les moindres carrés. Elles sont reprises et formulées avec les grandeurs de notre problème ci-dessous :

- Une fonction coût basée sur les moindres carrés « simple » :

$$f_{ls}(\mathbf{p}) = \sum_{n=1}^{N_\lambda} \sum_{k=1}^{N_D} (R_{exp}(\lambda_n, D_k) - R_{mod}(\lambda_n, D_k; \mathbf{p}))^2 \quad (3.2)$$

**Remarque 3.1** Dans le cas d'une simulation MC utilisée,  $R_{mod}$  peut être vue comme une variable aléatoire et la fonction  $f_{ls}$  peut s'écrire comme

$$f(\mathbf{p}) = \sum_{n=1}^{N_\lambda} \sum_{k=1}^{N_D} (R_{exp}(\lambda_n, D_k) - \mathbb{E}(R_{mod}(\lambda_n, D_k; \mathbf{p})))^2$$

. Pour un nombre de photons élevé, les variances observées sur  $R_{mod}$  sont négligeables (voir le sous-paragraphe 2.3.4).

L'inconvénient de la fonction  $f_{ls}$  est qu'elle ne tient pas compte des différences entre les valeurs de  $R_{exp}$  qui diminuent « exponentiellement » avec les différentes distances  $D_k$ . Pour illustrer ces propos, nous pouvons prendre un exemple simplifié avec deux vecteurs  $R_{exp} = [0,0394 \ 0,0200 \ 0,011 \ 0,0063]$  et  $R_{mod} = [0,0413 \ 0,0195 \ 0,011 \ 0,0069]$  avec  $N_D = 4$  et  $N_\lambda = 1$ . Le résultat de (3.2) est  $f_{ls} = 4,2E - 6$ . Or, pour  $D_1$ , l'écart au carré entre  $R_{exp}$  et  $R_{mod}$  est de  $3,6E - 6$  et pour  $D_4$  cet écart au carré est de  $3,6E - 7$ . Le résultat de  $f_{ls}$  dépend ainsi plus fortement de l'écart calculé pour  $D_1$  que pour celui calculé pour  $D_4$ .

D'autres fonctions ont été proposées pour corriger cela en pondérant les valeurs d'intensité de  $R_{exp}$  en fonction de  $D_k$ . De plus, les valeurs d'intensité les plus faibles de  $R_{exp}$  (mesurées aux plus grandes distances SD) correspondent aux photons détectés qui ont « visité » les tissus

situés en profondeur et qui sont ainsi affectés par un bruit de mesure plus élevé.

- La fonction coût basée sur les moindres carrés normalisés correspond à une fonction (3.2) normalisée par  $R_{exp}$  afin d'obtenir un meilleur ajustement lorsque  $R_{exp}$  est faible [Sharma et al., 2013]. Cela revient à calculer une erreur relative au carré.

$$f_{lsnorm}(\mathbf{p}) = \sum_{n=1}^{N_\lambda} \sum_{k=1}^{N_D} \left( \frac{R_{exp}(\lambda_n, D_k) - R_{mod}(\lambda_n, D_k; \mathbf{p})}{R_{exp}(\lambda_n, D_k)} \right)^2 \quad (3.3)$$

Si nous reprenons l'exemple précédent avec  $R_{exp} = [0,0394 \ 0,02 \ 0,011 \ 0,0063]$  et  $R_{mod} = [0,0413 \ 0,0195 \ 0,011 \ 0,0069]$ , nous obtenons  $f_{lsnorm} = 0,0121$ . Pour  $D_1$ , l'écart au carré est de 0,0023 et pour  $D_4$ , l'écart au carré est de 0,0091. Donc le résultat de  $f_{lsnorm}$  tient compte des intensités les plus faibles (ici données par  $D_4$ ).

- La fonction coût basée sur les moindres carrés logarithmiques met davantage l'accent sur les données de réflectance obtenues pour les grandes SD [Naglič et al., 2016, Foschum et al., 2011] :

$$f_{lslog}(\mathbf{p}) = \sum_{n=1}^{N_\lambda} \sum_{k=1}^{N_D} (\log(R_{exp}(\lambda_n, D_k)) - \log(R_{mod}(\lambda_n, D_k; \mathbf{p})))^2 \quad (3.4)$$

La même stratégie que la fonction  $f_{lsnorm}$  est visée : donner de l'importance aux faibles intensités de  $R_{exp}$ .

En utilisant l'exemple, on obtient  $f_{lslog} = 0,0112$ . Pour  $D_1$ , l'écart au carré est de 0,0022 et pour  $D_4$ , l'écart au carré est de 0,0083. Ici aussi, l'intensité la plus faible obtenue à  $D_4$  contribue fortement au calcul de la fonction coût.

- fonction ci-dessous, proposée par [Watté et al., 2015b], dérive de la fonction normalisée (3.3) :

$$f_{watte}(\mathbf{p}) = \log(f_{lsnorm}) \quad (3.5)$$

La fonction (3.5) intègre un terme logarithme qui renforce la robustesse de convergence lors du processus d'optimisation [Watté et al., 2015b].

- La fonction coût présenté ci-dessous ne dépend que d'une seule longueur d'onde  $\lambda$ . La fonction coût peut directement tenir compte d'un facteur d'échelle entre les données expérimentales et les données simulées. [Gladytz et al., 2017] :

$$f_{sc}(\mathbf{p}) = \frac{1}{(N_D - 2)} \sum_{k=1}^{N_D} \frac{(S \cdot R_{exp}(D_k) - R_{mod}(D_k; \mathbf{p}))^2}{w_k^2} \quad (3.6)$$

La fonction  $f_{sc}$  considère  $f_{ls}$  (3.2) avec  $w_k$  un terme de pondération et  $S$  un facteur d'échelle appliqué à  $R_{exp}$ . Deux approches sont utilisées pour déterminer le facteur d'échelle  $S$  :

- un calibrage relatif donné par :  $S = S(\mathbf{p}) = \frac{\sum_{k=1}^{N_D} R_{mod}(D_k; \mathbf{p})}{\sum_{k=1}^{N_D} R_{exp}(D_k)}$
- un calibrage absolu en utilisant un vecteur de propriétés optiques connu  $\mathbf{p}_{ref}$  pour calculer  $S_{ref}$  à partir d'un fantôme de référence  $R_{exp,ref}$ . Ce facteur d'échelle est appliqué à tous les fantômes.

**Remarque 3.2** *Le calibrage permet de comparer les données expérimentales, exprimées en unité arbitraire, et les données simulées, basées sur le comptage de photons (MC).*

Nous venons de passer en revue les principales fonctions coûts basées sur des moindres carrés présentes dans la littérature pour résoudre le type de problème inverse correspondant à nos données. La fonction coût dépend ainsi du modèle direct choisi et intègre parfois directement le calibrage entre les données expérimentales et les données simulées. Le sous-paragraphe suivant est consacré aux étapes de minimisation de la fonction coût. Pour minimiser une fonction coût, l'utilisation d'un algorithme d'optimisation est nécessaire et le choix de l'algorithme doit être adapté à la complexité du problème.

### 3.2.2 Algorithme d'optimisation

Pour résoudre les problèmes d'optimisation non-convexes en minimisant une fonction coût basée sur les moindres carrés, le recours à des algorithmes d'optimisation est recommandé. Deux groupes d'algorithmes d'optimisation peuvent être constitués :

- Optimisation locale : souvent utilisée dans des problèmes avec peu de minima locaux, adaptée pour des problèmes convexes ;
- Optimisation globale : souvent utilisée pour trouver le minimum global lorsque le problème présente plusieurs minima locaux et un nombre important de paramètres à estimer. L'idée générale est d'explorer l'espace des paramètres  $\mathbf{p}$  en le quadrillant et en réalisant de multiples tirages aléatoires suivant une stratégie bien définie.

En général, c'est le minimum global qui est cherché ou au moins un minimum local proche de la solution attendue.

#### Algorithmes d'optimisation locale

Les algorithmes d'optimisation locale sont des algorithmes de descentes. Ils sont très efficaces si la fonction coût  $f$  est différentiable. Cependant, cette efficacité dépend des valeurs initiales de départ des paramètres à estimer, en particulier dans des problèmes possédant des minima locaux.

Les algorithmes d'optimisation locale listés ci-dessous sont ceux qui sont les plus utilisés dans les cas de fonctions basées sur les moindres carrés (une étude numérique comparant leur performance est proposée dans le sous-paragraphe 3.3.2) :

1. **L'algorithme de Levenberg-Marquardt (LM)** est une méthode sans contrainte sur les bornes de l'espace de variation des paramètres à estimer. Cet algorithme est de loin le plus utilisé dans la littérature [Tseng et al., 2011, Fredriksson et al., 2012]. Les limites de LM sont sa dépendance à l'initialisation des paramètres à estimer et la convergence vers un minimum local, notamment pour des problèmes non-convexes. Par ailleurs, les paramètres estimés peuvent obtenir des valeurs négatives du fait de l'absence de contraintes sur ces paramètres. Or, dans notre cas, les valeurs des paramètres à estimer (coefficients  $\mu_a$  et  $\mu_s$ ) doivent être positives (voir Chapitre 1), sous peine d'entraîner des problèmes d'interprétation physique des résultats. Les limites de cet algorithme ont été montrées en le comparant à d'autres algorithmes [Alexandrakis et al., 1998, Martelli et al., 2012]. L'équipe d'Alexandrakis a réalisé une comparaison entre deux algorithmes d'optimisation : LM et un algorithme d'optimisation globale, le recuit simulé pour estimer 5 paramètres inconnus à l'aide de données simulées par une simulation MC [Alexandrakis et al., 1998] . Ils ont utilisé le modèle

bicouches défini par [Kienle et al., 1998]. Leur conclusion montre que LM n'est pas adapté, notamment si l'initialisation est très éloignée de la solution attendue.

2. L'algorithme *Trust-Region-Reflective* (TRR) gère des contraintes, comme par exemple, celles liées aux bornes inférieures et supérieures des paramètres à estimer. Ces bornes sont souvent déterminées à partir de connaissances *a priori* sur les propriétés optiques à estimer, pour spécifier, par exemple, la plage des valeurs des paramètres de l'épiderme et du derme [Jacques, 2013]. L'algorithme TRR est très utilisé dans le cas où les contraintes sur les paramètres à estimer sont connues car cela permet d'améliorer l'estimation des paramètres recherchés [Naglič et al., 2016, Liao and Tseng, 2014].

### Algorithmes d'optimisation globale

Les algorithmes d'optimisation globale regroupent des méthodes heuristiques/métaheuristiques qui reposent sur l'exploration de l'espace de variation d'un nombre conséquent de propriétés optiques à estimer, parmi lesquelles les plus utilisées en inversion pour la spectroscopie optique tissulaire sont :

1. Algorithme génétique ou *Genetic Algorithm* (GA)
2. PSO
3. Algorithme recuit simulé ou *simulated annealing*

Ces algorithmes stochastiques sont généralement utilisés dans le cas de problème non-convexe pour estimer le minimum global ou au moins le minimum le plus proche du minimum global. Ils sont détaillés ci-dessous.

L'algorithme génétique (GA) se base sur les hypothèses d'évolution de Darwin. Les particules sont ici appelées chromosomes. Les principales étapes de l'algorithme sont les suivantes [Zhang et al., 2005] :

- Après la répartition initiale des chromosomes dans l'espace de variation, la fonction coût est évaluée pour chaque chromosome. Les chromosomes sont ensuite classés en fonction de leur résidu par ordre croissant. La moitié des chromosomes avec les plus petits résidus sont conservés pour devenir les chromosomes parents de l'ADN de la prochaine génération.
- Les chromosomes rejetés sont remplacés pour éviter de s'enfermer dans un minimum local. Les nouveaux chromosomes enfants sont introduits par deux opérations : un *crossover* et une mutation et sont basés sur les chromosomes parents.

Cette étape de l'algorithme correspond à la reproduction.

On répète les étapes d'évaluation, de croisement et de mutation jusqu'à obtenir la solution optimale.

L'équipe de Zhang [Zhang et al., 2005] a travaillé sur l'estimation de 9 et 13 paramètres dans le cas d'un GA. Ils ont ajouté du bruit blanc (entre 0,01 et 0,02 d'amplitude) à leurs données simulées à l'aide d'un modèle analytique pour rester proches de leurs données expérimentales. La moyenne des erreurs relatives pour les paramètres estimés est inférieure à 20%. Pour améliorer les résultats obtenus, ils proposent également d'utiliser une méthode hybride entre GA et algorithme d'optimisation locale.

L'algorithme *particle swarm optimization* (PSO) est un algorithme évolutif basé sur l'essaimage, capable d'explorer de nouvelles directions dans l'espace des paramètres en fonction

des positions précédentes des points, sans calcul dérivé, ce qui conduit à une solution plus rapide dans des problèmes complexes multidimensionnels inverses [Boussaïd et al., 2013, Tian, 2013].

L'algorithme ne garantit pas d'obtenir le minimum global, car il est basé sur l'exploration, mais le minimum trouvé en sortie est supposé être proche du minimum global. Cependant, cet algorithme est utilisé lorsque le problème présente de nombreux minima locaux [Kholodtsova, 2016, Kholodtsova et al., 2016].

Le principe de l'algorithme PSO consiste à initialiser le processus d'optimisation avec une population de solutions aléatoires, appelées particules, et à rechercher le minimum global en mettant à jour l'ensemble des particules tout en progressant dans l'espace de recherche de solutions. PSO stocke :

- les coordonnées de chaque particule associées à l'espace de variation des paramètres à estimer et se rapportant à la meilleure solution personnelle obtenue jusqu'à présent par chaque particule et calculée à partir de la fonction coût (plus petit résidu personnel ou plus petit résidu du groupe)
- les coordonnées du plus petit résidu global parmi tous les groupes (*global best value* ou *gBest*).

À chaque étape d'itération, l'accélération de chaque particule vers les emplacements *grBest* et *gBest* est modifiée par des termes aléatoires de pondération respectifs.

Nous avons choisi l'algorithme d'optimisation globale PSO pour nos travaux. Ce choix est justifié dans notre étude sur les algorithmes d'optimisation (sous-paragraphe 3.3.2) et a été motivé par les travaux réalisés en amont par Maria Kholodtsova [Kholodtsova, 2016, Kholodtsova et al., 2016]. Notre paramétrage de PSO est détaillé dans le sous-paragraphe 3.3.5.

**L'algorithme du recuit simulé** ou *simulated annealing* est un algorithme d'optimisation globale [Alexandrakis et al., 1998]. Le nom est une analogie avec un phénomène de la physique de la matière le recuit. L'inconvénient est que cet algorithme est coûteux en temps de calcul, mais la convergence vers la solution est assurée.

## Algorithmes Hybrides

Les algorithmes hybrides regroupent l'ensemble des stratégies algorithmiques basées sur des recherches globales et locales dans le but d'augmenter les chances de trouver le minimum global.

Les stratégies consistent souvent à déterminer les points de départ des algorithmes d'optimisation locale :

- soit un ensemble de vecteurs de paramètres déterminés aléatoirement. [Tseng et al., 2011] utilisent cette méthode en déterminant aléatoirement 100 ensembles de vecteurs paramètres à estimer et appliquent LM en recherche globale avec  $10^4$  photons injectés dans la simulation MC. Ensuite, ils font la moyenne des paramètres estimés parmi les 5 meilleurs valeurs de la fonction coût. Puis une recherche plus localisée est réalisée à partir du point estimé à l'étape précédente avec  $10^5$  photons envoyés dans la simulation MC. L'équipe de Fredriksson [Fredriksson et al., 2012] utilise une approche similaire avec LM. Pour éviter les minima locaux dûs en particulier à l'initialisation des paramètres à estimer, plusieurs points de départ sont choisis. À la fin de toutes ces optimisations, si au moins 5 minimums trouvés sont identiques alors le vecteur des paramètres estimés final est une

moyenne des 5 vecteurs de paramètres estimés. L’hypothèse forte est que le minimum trouvé est considéré comme le minimum global.

- soit les entrées d’une table de correspondance ou LUT entière. L’équipe de [Naglič et al., 2016] utilise cette méthode en appliquant un algorithme TRR sur toutes les entrées d’une LUT. Ils ajoutent ensuite une étape d’optimisation supplémentaire à partir de l’estimation précédente.

Divers algorithmes d’optimisation peuvent être utilisés pour retrouver les propriétés optiques de la simulation MC. Cependant, le bruit de la simulation MC peut être un frein à l’estimation robuste et/ou précise des propriétés optiques. Des stratégies ont été développées, dans la littérature, pour diminuer ce bruit.

### 3.2.3 Stratégie de prise en compte du bruit de modèle

La simulation MC possède un bruit inhérent à la nature stochastique du processus mis en jeu. L’amplitude de ce bruit de modèle est notamment liée au nombre de photons injectés dans la simulation MC et c’est la raison pour laquelle nous l’avons étudié dans le chapitre 2.

Pour atténuer ce bruit, la simulation MC peut être intégrée à une fonction analytique dans le cas de métamodèle ou bien une fonction analytique peut être déterminée à partir des spectres calculés à l’aide d’une simulation MC [Zonios and Dimou, 2011]. Une sélection des principales méthodes développées dans la littérature sont présentées ci-dessous.

#### Approches utilisant une LUT

Pour s’affranchir du bruit stochastique du modèle MC, plusieurs équipes utilisent une approche par construction d’une bibliothèque de spectres simulés appelée *look-up table* ou LUT. C’est un modèle direct permettant de comparer les réflectances mesurées avec celles contenues dans la LUT et d’en déduire les propriétés optiques en utilisant un algorithme d’optimisation non-linéaire. L’équipe de Rajaram a construit une LUT qui ne dépend ni d’un modèle analytique ni d’un modèle numérique de propagation de la lumière, mais uniquement de spectres obtenus expérimentalement sur fantômes [Rajaram et al., 2008].

**Remarque 3.3** *La construction d’une LUT expérimentale n’a pas besoin de subir un quelconque calibrage ou lissage des spectres. Cependant, la LUT expérimentale peut rester plus petite et moins échantillonnée qu’une LUT simulée par une simulation MC.*

Certaines équipes appliquent des algorithmes basés sur l’utilisation de fonctions polynômiales permettant de lisser les courbes de réflectances simulées contenues dans la LUT. Par exemple, l’équipe de Grosenick utilise un polynôme de degré 10 (interpolation polynomiale) pour lisser les courbes de réflectance de la LUT en fixant  $r$  et  $\mu_s$  [Grosenick et al., 2013]. Une autre équipe utilise aussi un ajustement dans l’espace log-log et un ajustement polynomial entre les données expérimentales et celles de la LUT. Ils réalisent ainsi une interpolation de type *spline cubique* entre 40 points de contrôle [Radosevich et al., 2015]. L’équipe de Naglič a aussi utilisé l’interpolation avec une fonction *spline* après une estimation initiale à l’aide d’une recherche globale dans la LUT pour améliorer la précision de cette estimée [Naglič et al., 2016].

Les inconvénients majeurs de cette méthode proviennent de la taille importante de la LUT et du fait qu'elle ne soit utilisable que pour une seule géométrie de sonde pré-définie. Le temps nécessaire pour simuler la LUT peut être important, cela dépend du découpage de l'espace des paramètres et de façon critique du nombre de paramètres.

### Approches par metamodèles

Les objectifs de l'utilisation d'un métamodèle est de diminuer le bruit et le temps de calcul engendrés par la simulation MC. Un modèle de substitution rapide mais approximé est utilisé tel que l'approximation de Kubelka-Munk [Hidović-Rowe and Claridge, 2005, Hidović-Rowe et al., 2006, Zidouk, 2014]. Ce modèle de substitution est donc moins précis comparé à la simulation MC.

Le processus d'optimisation se déroule en plusieurs étapes lorsqu'on utilise un métamodèle (ou *surrogate model*) :

- Choisir un modèle déterministe et rapide à calculer :  $R_{det}$
- Modèle plus précis mais stochastique et un peu long en temps de calcul :  $R_{MC}$
- Une fonction qui décrit l'erreur entre les deux modèles  $E(\mathbf{p}) = R_{MC}(\mathbf{p}) - R_{det}(\mathbf{p})$  avec  $p$  les paramètres à estimer
- Le métamodèle qui contient l'erreur :  $S(p) = R_{det}(\mathbf{p}) - E(\mathbf{p})$

Nous voyons que l'intérêt du métamodèle est finalement de réduire le temps, mais aussi d'atténuer l'aspect stochastique de la simulation MC.

Le sous-paragraphe suivant indique les parties du processus d'inversion pouvant entraîner des erreurs importantes sur les paramètres estimés.

### 3.2.4 Erreurs d'estimation : les limites du problème inverse

Diverses sources d'erreurs ont été exposées précédemment. La principale source d'erreur provient souvent du fait que le nombre de données disponibles soit inférieur au nombre de paramètres optiques à estimer. Cela nous renvoie à l'aspect mal posé du problème. Les erreurs d'estimation ont diverses natures. Les principales erreurs répertoriées sont indiquées dans la figure Fig.3.2 et commentées dans les sous-paragraphe suivants.

#### $e_1$ : les erreurs dues à l'implémentation du modèle

La fonction de phase de la simulation MC peut être implémentée de façons diverses (Heynye-Greenstein, Heynye-Greenstein modifié...) dont la plupart sont basées sur des approximations mais largement utilisées [Calabro and Bigio, 2014, Naglič et al., 2016].

#### $e_2$ : les erreurs liées aux hypothèses de départ

Lors de l'inversion à l'aide d'une simulation MC, pour estimer les propriétés optiques à partir des mesures expérimentales réalisées sur des tissus biologiques ou des fantômes, l'indice de réfraction et la fonction de phase de ces milieux sont inconnus [Foschum et al., 2011]. Or, ces paramètres sont *a priori* définis dans la simulation MC. L'équipe de Foschum a montré que cela introduit des erreurs au cours de l'inversion [Foschum et al., 2011].

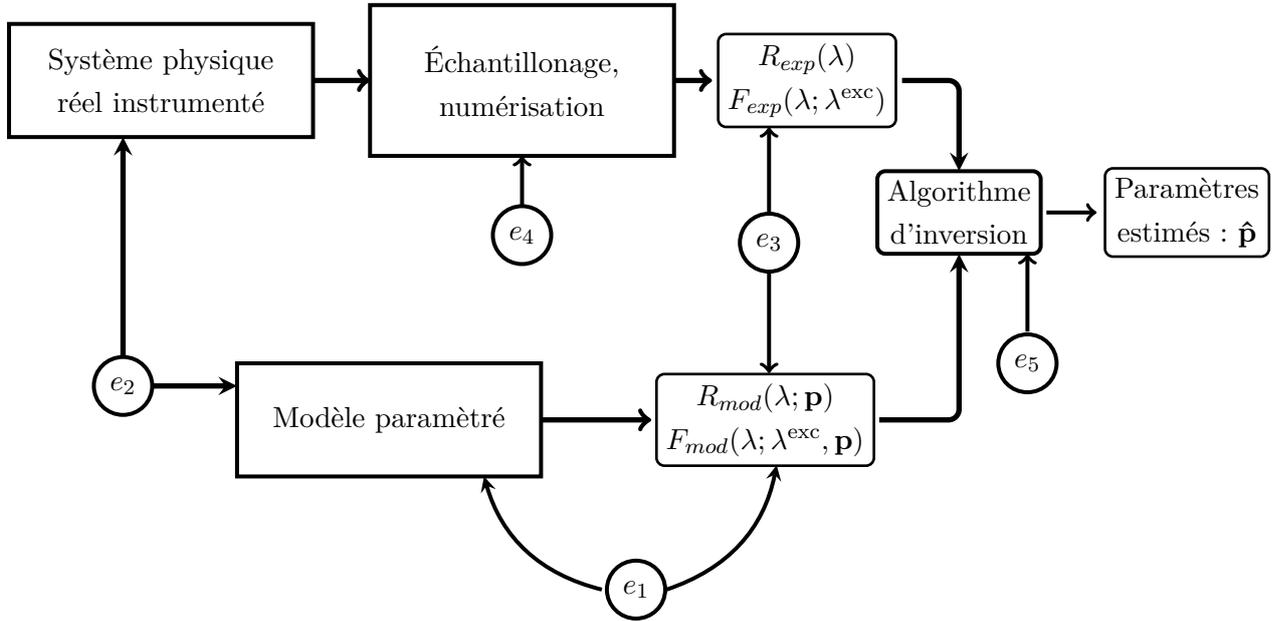


FIGURE 3.2 – Illustration du problème inverse et des différentes sources d’erreur d’estimation.

**$e_3$  : le bruit sur les données expérimentales et les données calculées.**

Le bruit est présent sur les données expérimentales et les données calculées. Les données calculées peuvent être issues d’un modèle stochastique. De plus pour comparer les données expérimentales et les données calculées lors de l’inversion de problème, un facteur d’échelle peut être calculé et introduire des erreurs. En effet, les données calculées comptent le nombre de photons tandis que les données expérimentales sont en unité relative [Karlsson et al., 2012, Hennessy et al., 2015]. Te-Yu Tseng et al. ont étudié la simulation MC donnant des données simulées en réflectance diffuse résolue spatialement. Ils ont comparé les niveaux de bruit liés aux données expérimentales (voir table 3 [Tseng et al., 2011]). Généralement, le bruit expérimental est fixé à 5 %.

**$e_4$  : transformation des données en données numériques**

La transformation des données mesurées en données numériques est basée sur une approximation de l’échantillonnage. Des erreurs peuvent provenir de l’étalonnage et de la numérisation des capteurs. Les données mesurées expérimentalement subissent aussi une série de prétraitement.

**$e_5$  : les erreurs de résolution du problème inverse**

Kienle et son équipe ont testé leur modèle d’approximation de la diffusion (voir éq. 2.11 pour un milieu bicouche [Kienle et al., 1998]). Ils ont simulé les données expérimentales en ajoutant du bruit à leurs données simulées (1%). Ils ont cherché à estimer 4 paramètres optiques,  $(\mu_{a1}, \mu'_{s1})$  et  $(\mu_{a2}, \mu'_{s2})$ , associés respectivement à la couche supérieure et à la couche inférieure. Pour une épaisseur de la couche supérieure connue fixée à  $z = 2 \text{ mm}$ , les erreurs relatives pour  $\mu_{a1}$ ,  $\mu_{a2}$  et  $\mu'_{s2}$  sont comprises entre 10 et 20 % tandis que pour  $\mu'_{s1}$ , l’erreur relative est inférieure à 5%. Ils

ont également cherché à estimer 5 paramètres inconnus (4 paramètres optiques et l'épaisseur de la couche supérieure). Les valeurs estimées sont acceptables lorsque les paramètres initiaux ne sont pas éloignés des valeurs réelles attendues. Ils ont aussi effectué la même étude en prenant cette fois-ci des données expérimentales simulées à partir d'une simulation MC. Le coefficient de diffusion réduit  $\mu'_{s1}$  est toujours bien estimé pour la première couche. Cependant, pour les autres paramètres, une erreur systématique est introduite, car ils comparent des données obtenues par leur modèle d'approximation et celles de simulation MC. Les erreurs relatives peuvent atteindre 50% en fonction de l'épaisseur  $e$  et des distances SD.

L'utilisation des information *a priori* permet d'améliorer la précision des paramètres estimés et d'avoir une procédure d'inversion plus stable [Martelli et al., 2012].

Après avoir exposé les différents aspects de la résolution du problème inverse, nous avons conservé comme modèle direct notre simulation MC développée au chapitre 2 avec une injection de  $10^7$  **photons** qui permet un équilibre entre temps de calcul et le bruit du modèle. En effet, dans cette étude, nous ne souhaitons pas créer pour chaque configuration de modèle optique de peau étudié une nouvelle LUT.

Le paragraphe suivant présente les travaux réalisés pour aboutir à notre proposition de résolution du problème inverse. En premier, nous avons étudié les variations des fonctions coûts et comparé la précision des algorithmes d'optimisation pour des données de réflectance diffuse simulées avec un modèle analytique. Ensuite, nous introduisons notre résolution du problème inverse intégrant la multimodalité avec une application sur des données simulées et réelles en RD et en AF.

### 3.3 Travaux réalisés

#### 3.3.1 Étude sur les fonctions coûts

Dans cette partie, nous nous focalisons sur une étude des fonctions coûts pour différents modèles (voir le sous-paragraphe 3.3.1) puis sur une étude des algorithmes d'optimisation avec un modèle direct déterministe basé sur l'approximation de la diffusion [Farrell et al., 1992] sur des milieux monocouches et bicouches (voir le sous-paragraphe 3.3.2).

L'objectif est de déterminer quels sont la fonction coût et l'algorithme d'optimisation les mieux adaptés à la résolution de notre problème.

#### Fonctions coûts et milieu monocouche numérique

Dans cette partie, nous comparons l'espace de variation 2D ( $\mu_a$  et  $\mu_s$ ) de trois fonctions coûts basées sur les moindres carrés (voir le paragraphe 3.2.1) :  $f_{ls}$  (3.2),  $f_{lsnorm}$  (3.3) et  $f_{lslog}$  (3.4). Pour cette étude, nous prenons en compte les mesures de RD uniquement. Le modèle numérique utilisé est un monocouche et monolongueur d'onde avec les paramètres de référence suivant :

- $\mu_a = 2 \text{ cm}^{-1}$
- $\mu_s = 200 \text{ cm}^{-1}$
- $n = 1, 37$
- $g = 0, 85$

Pour réaliser la visualisation des 3 fonctions coûts, les modèles directs suivant sont utilisés :

- Le modèle analytique de [Farrell et al., 1992] ;

— Notre simulation de MC avec  $10^7$  photons.  
Ils sont détaillés dans le chapitre 2.

## Résultats

La Fig.3.3 montre les valeurs des trois fonctions coûts calculées de l'espace de variation 2D des paramètres  $(\mu_a, \mu_s)$ , avec  $\mu_a$  en abscisse de 0 à 10 et  $\mu_s$  en ordonnée de 0 à 1000, pour un milieu monocouche utilisant le modèle analytique [Farrell et al., 1992] (Fig. 3.3 gauche) et notre simulation MC (Fig. 3.3 droite). Pour le modèle analytique [Farrell et al., 1992], on observe des zones relativement plates de variations convergentes vers  $(\mu_a, \mu_s)_{ref}$ . Pour  $f_{lsnorm}$ , le critère est plat car la quasi-totalité de l'espace de variation à des valeurs proches du minimum global. L'estimation des paramètres sera compliquée avec cette fonction. Pour  $f_{ls}$ , le critère est plat par rapport à  $\mu_a$ , mais converge plus aisément vers la valeur attendue de  $\mu_s$  ici  $200 \text{ cm}^{-1}$ .

Pour notre simulation MC, les fonctions favorisant les grandes distances SD possédant des faibles valeurs de RD sont adaptées puisque nous trouvons un minimum global correspondant aux valeurs attendues de  $\mu_a$  et  $\mu_s$ . Cela indique que le critère est convexe pour les fonctions  $f_{lsnorm}$  et  $f_{lslog}$ , ce n'est pas le cas de  $f_{ls}$  où le minimum global est caché par les valeurs faibles obtenues pour d'autres combinaisons  $(\mu_a, \mu_s)$  dans l'espace de variation.

## Conclusion

D'après les résultats de la figure 3.3, on voit que la combinaison de deux fonctions coûts peut être envisagée :

- les fonctions  $f_{ls}$  et  $f_{lslog}$  pour le modèle [Farrell et al., 1992]
- les fonctions  $f_{lsnorm}$  et  $f_{lslog}$  pour notre modèle

### 3.3.2 Étude sur les algorithmes d'optimisation

Nous utilisons le modèle analytique de Farrell pour l'étude des algorithmes d'optimisation. Cela nous permet, dans un premier temps, d'avoir des résultats avec un modèle simple, non bruité, et de limiter fortement les contraintes de temps d'inversion. L'erreur quadratique moyenne normalisée (EQMN) est calculée de la façon suivante pour chaque paramètre  $\mu_a$  et  $\mu_s$  :

$$EQMN_{\mu_{a,s}}[\%] = \frac{100}{\mu_{a,s}^{ref}} \sqrt{\sum_{i=1}^N \frac{(\hat{\mu}_{a,s}^i - \mu_{a,s}^{ref})^2}{N}} \quad (3.7)$$

où  $N$  est le nombre de simulations. Par souci de simplification de lecture des tableaux de résultats suivants, les valeurs de EQMN inférieurs ou égaux à  $10^{-5} \%$  sont affichées arrondies à zéro.

L'efficacité de l'estimation des propriétés optiques a été comparée pour deux algorithmes d'optimisation locale, LM et TRR, et deux algorithmes d'optimisation globale, GA et PSO, à l'aide de deux de fonctions *lsqcurvefit* et *lsqnonlin*, respectivement, disponibles dans Matlab optimization toolbox. Pour déterminer la limite de ces algorithmes, nous avons regardé l'influence des paramètres initiaux  $\mu_a$  et  $\mu_s$  à estimer pour une longueur d'onde fixée lors de l'utilisation d'algorithme d'optimisation locale.

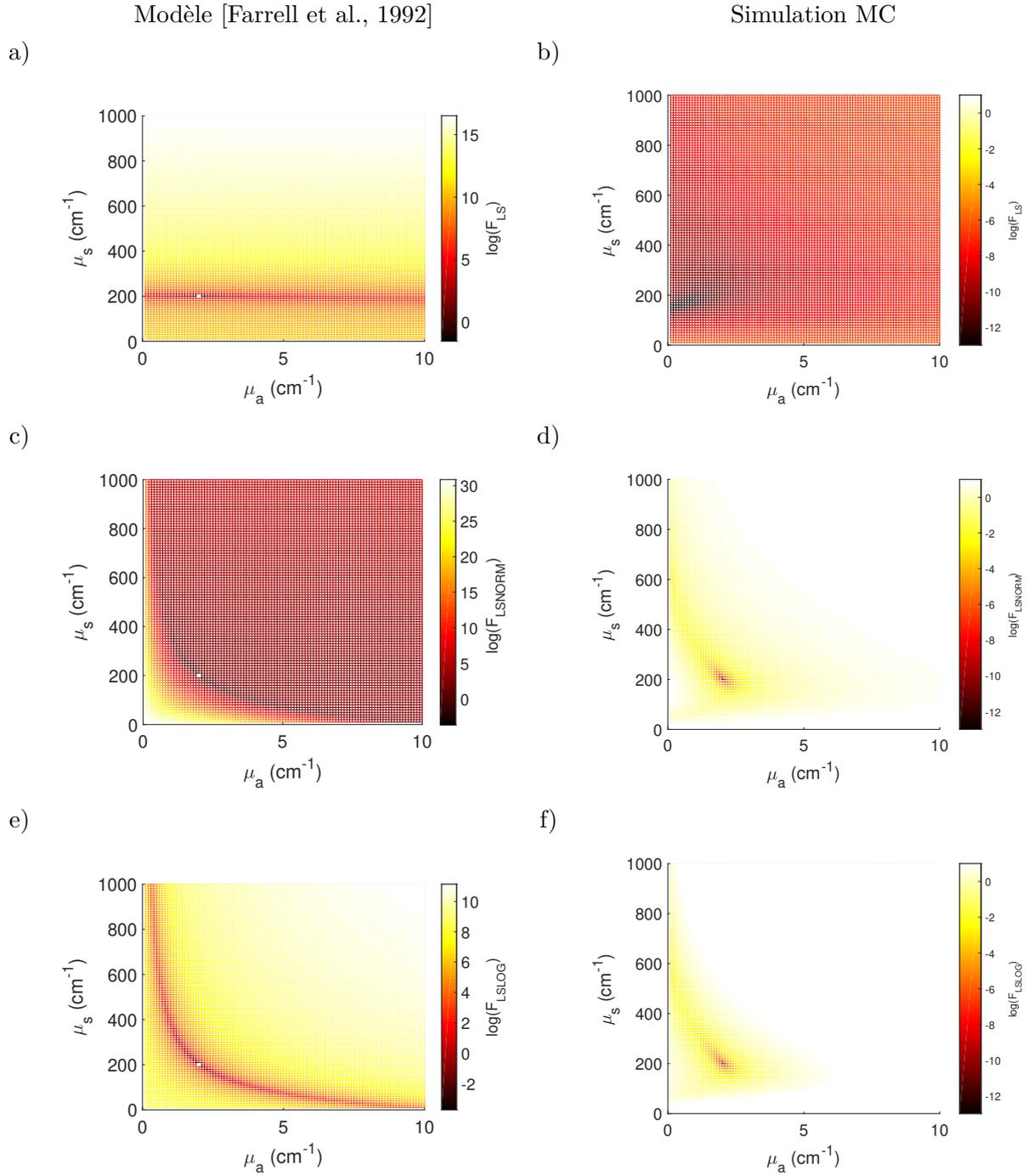


FIGURE 3.3 – Représentation des valeurs (échelles log. des intensités) des fonctions coûts  $f_{ls}$  (ligne en haut a, b, eq.(3.2)),  $f_{lsnorm}$  (ligne du milieu c, d, eq.(3.3)) et  $f_{lslog}$  (ligne en bas e, f, eq.(3.4)) calculées sur l'espace de variations des paramètres pour différents modèles directs. Le point de coordonnées  $(\mu_a = 2, \mu_s = 200)$  au couple de paramètres de référence du milieu.

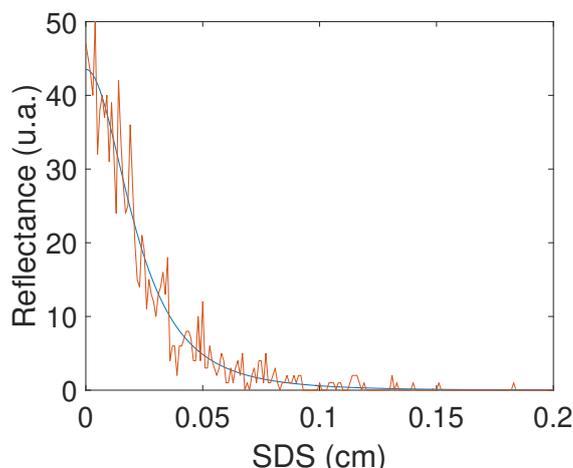


FIGURE 3.4 – Bruit de Poisson

### Milieu monocouche

Pour ces études de comparaison, nos données expérimentales sont uniquement numériques. Nous avons décidé de rajouter un bruit de Poisson (voir Fig 3.4) lors de l'utilisation du modèle direct de [Farrell et al., 1992] pour simuler des données réelles, i.e. bruitées et correspondant au bruit de comptage de photons (en lien avec l'instrumentation). De plus, contrairement au bruit gaussien, le bruit de Poisson garantit d'obtenir des données non-négatives pour la réflectance puisque le niveau de bruit est une fonction croissante de l'intensité du signal.

Le bruit de Poisson appliqué sur  $R_{mod}$  pour obtenir  $R_{exp}$  s'exprime comme :

$$R_{exp}(D) = \text{Poisson}(R_{mod}(D; \mathbf{p})) \quad (3.8)$$

avec  $R_{exp}$  les données simulées et bruitées avec du bruit de Poisson,  $R_{mod}$  les données du modèle sans bruit.

Pour rappel, les valeurs des propriétés optiques de référence que l'on cherche à retrouver sont :  $\mu_a = 2\text{cm}^{-1}$  et  $\mu_s = 200\text{cm}^{-1}$  (point rouge sur les cas de la figure 3.5).

D'après le tableau 3.1, nous observons que les valeurs estimées de  $\mu_a$  présentent des erreurs relatives plus importantes que  $\mu_s$ , même lorsque l'initialisation des paramètres est proche de la solution, l'erreur relative est de 30 % pour les deux algorithmes d'optimisation locale, en utilisant la fonction coût  $f_{lslog}$  : la valeur de  $\hat{\mu}_a$  estimée est  $2,6\text{ cm}^{-1}$  au lieu de  $2\text{ cm}^{-1}$ . Cela indique que les fonctions coûts sont sensibles au bruit.

D'après la figure 3.3, colonne de gauche, nous voyons que les fonctions coûts présentent une zone de convergence vers la valeurs attendue de  $\mu_s$ , mais pour  $\mu_a$ , la valeur attendue est située sur un plateau.

Les résultats des paramètres estimés pour le modèle monocouche avec les algorithmes d'optimisation globale sont affichés dans les deux dernières lignes du tableau 3.1. Ces résultats rejoignent les observations réalisées dans le sous-paragraphe précédent (voir Fig. 3.3 a,c,e). En effet, les différentes fonctions coûts nous montrent un critère plat variant en fonction du paramètre  $\mu_a$ . Donc l'estimation du paramètre  $\mu_s$  tend vers la solution attendue à 2 % près dans les deux cas. Répéter un grand nombre de fois le processus d'inversion peut permettre de diminuer l'erreur relative sur  $\mu_a$ . Cependant, cela est coûteux en temps de calculs.

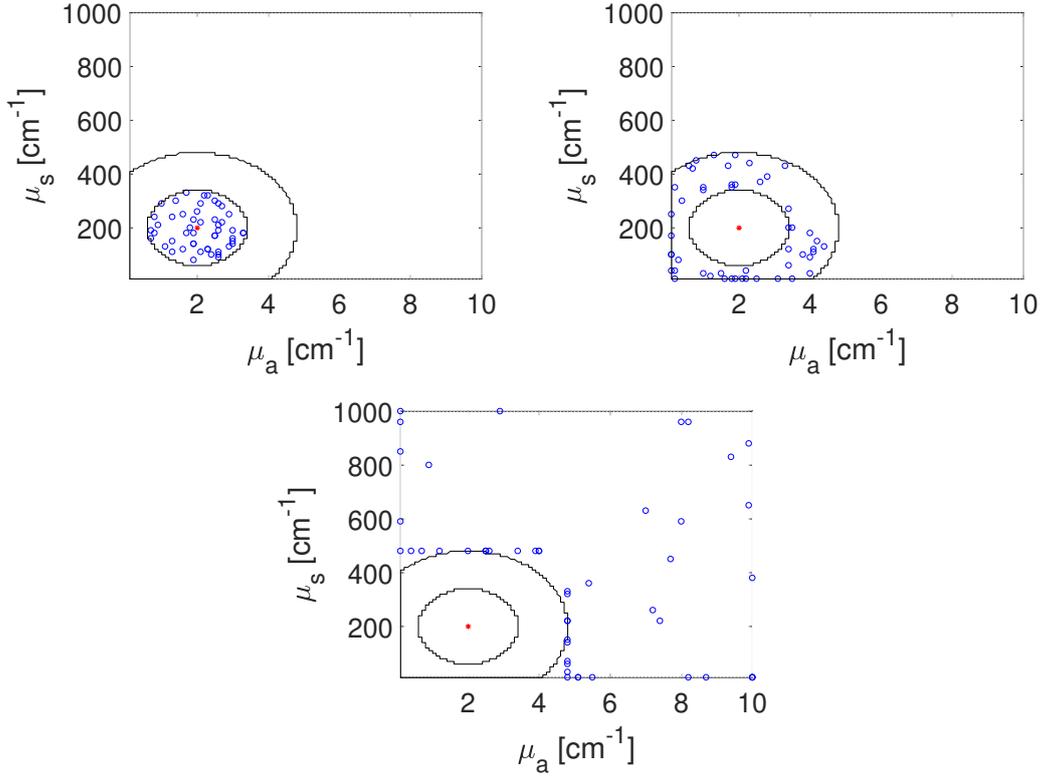


FIGURE 3.5 – Illustration des différentes positions des points initiaux en fonction de la position de référence en rouge dans 3 zones de voisinage autour de  $(\mu_a, \mu_s)_{ref}$  avec a)  $< 50 \%$ , b)  $50 - 100 \%$  et c)  $> 100 \%$

### Milieu bicouches

À l'aide du modèle de [Kienle et al., 1998], sans ajout de bruit de Poisson, nous avons utilisé un milieu bicouches, avec les paramètres optiques suivant (pour une seule longueur d'onde fixée) :

- $\mu_a^1 = 7 \text{ cm}^{-1}$
- $\mu_s^1 = 150 \text{ cm}^{-1}$
- $\mu_a^2 = 4 \text{ cm}^{-1}$
- $\mu_s^2 = 90 \text{ cm}^{-1}$
- $z^1 = 500 \text{ } \mu\text{m}$
- $n^{1,2} = 1, 37$
- $g^{1,2} = 0, 85$

Le choix de ne pas ajouter le bruit de Poisson est motivé par la difficulté d'estimer un milieu bicouches « simple » et en particulier les propriétés optiques de la couche inférieure.

Le tableau 3.2 montre un tableau des résultats d'estimation des 4 paramètres optiques du milieu bicouches pour les différentes fonctions coûts et les différents algorithmes d'optimisation déjà mentionnés. Nous aboutissons aux mêmes conclusions que pour le milieu monocouche (rappel : les données du modèle étudié en monocouche avait un bruit de Poisson). Les algorithmes d'optimisation locale, LM et TRR, donnent des résultats satisfaisant lorsque les paramètres de départ sont proches de la solution (i.e.  $< 50 \%$  des paramètres de références). Cependant, dans

| Init.      | Algo. | $f_{ls}$    |             | $f_{lsnorm}$ |             | $f_{lslog}$ |             |
|------------|-------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
|            |       | $\mu_a$ [%] | $\mu_s$ [%] | $\mu_a$ [%]  | $\mu_s$ [%] | $\mu_a$ [%] | $\mu_s$ [%] |
| < 50 %     | LM    | 100         | 9           | 50           | 4           | 30          | 3           |
|            | TRR   | 90          | 2           | 50           | 4           | 30          | 3           |
| 50 – 100 % | LM    | 100         | 50          | 100          | 50          | 100         | 50          |
|            | TRR   | 90          | 2           | 50           | 4           | 30          | 3           |
| > 100 %    | LM    | 100         | 50          | 100          | 40          | 100         | 100         |
|            | TRR   | 90          | 2           | 50           | 4           | 30          | 3           |
|            | GA    | 90          | 2           | 90           | 2           | 90          | 2           |
|            | PSO   | 90          | 2           | 90           | 2           | 90          | 2           |

Tableau 3.1 – Résultats des erreurs quadratiques moyennes normalisées (EQMN) obtenues des paramètres  $\mu_a$  et  $\mu_s$  d'un milieu monocouche, pour un milieu direct analytique avec bruit de Poisson, pour les algorithmes d'optimisation LM, TRR, GA et PSO et les fonctions coûts  $f_{ls}$ ,  $f_{lsnorm}$  et  $f_{lslog}$ .

des cas réels, les paramètres à estimer ne sont pas connus à l'avance et les connaissances *a priori* sont limitées. Finalement, la fonction  $f_{ls}$  donne les erreurs relatives les plus faibles pour l'ensemble des algorithmes dans cette configuration de résolution du problème inverse.

### Limites et conclusion

Finalement, nous observons que les algorithmes d'optimisation globale sont mieux adaptés, notamment pour les modèles bicouches. Dans la suite, nous nous focalisons sur la fonction coût avec l'objectif d'exploiter davantage d'information disponible dans les différentes modalités de la spectroscopie multimodale résolue spatialement afin d'améliorer l'estimation des paramètres optiques.

### 3.3.3 Multimodalité : intégration au problème inverse

Les études qui visent à estimer les paramètres de fluorescence se limitent souvent à des milieux monocouche et à une seule longueur d'onde d'excitation [Palmer and Ramanujam, 2008]. De plus, ils utilisent deux modèles directs différents pour réaliser deux inversions successivement :

- une simulation MC pour calculer les spectres de RD et estimer les propriétés optiques spécifiques :  $\mu_a$ ,  $\mu_s$  ;
- un autre modèle pour calculer les spectres d'AF à partir des propriétés optiques estimées avec le modèle précédent et ainsi estimer les paramètres de fluorescence.

Le problème de cette approche est la propagation des erreurs due à l'injection des paramètres estimés relatifs à la RD dans le modèle qui sert à estimer les paramètres de fluorescence [Palmer and Ramanujam, 2008]. Diamond et al. ont estimé le rendement quantique et la concentration d'un fluorophore à l'aide d'un modèle de fluorescence à résolution spatiale et d'une fonction coût basée sur les moindres carrés. Deux procédures sont mises en œuvre pour estimer

| Imit.     | Algo. | $f_{ls}$      |               | $f_{lsnorm}$  |               | $f_{lslog}$   |               |
|-----------|-------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|           |       | $\mu_a^1$ [%] | $\mu_s^1$ [%] | $\mu_a^1$ [%] | $\mu_s^1$ [%] | $\mu_a^1$ [%] | $\mu_s^1$ [%] |
| < 50%     | LM    | 0             | 0             | 30            | 40            | 30            | 30            |
|           | TRR   | 0             | 0             | 30            | 50            | 30            | 50            |
| 50 – 100% | LM    | 0             | 0             | 100           | 80            | 40            | 100           |
|           | TRR   | 0             | 0             | 30            | 100           | 20            | 100           |
| > 100%    | LM    | 0             | 0             | 100           | 100           | 40            | 100           |
|           | TRR   | 0             | 0             | 30            | 100           | 30            | 100           |
|           | GA    | 0             | 0             | 30            | 100           | 30            | 100           |
|           | PSO   | 0             | 0             | 30            | 100           | 30            | 100           |

Tableau 3.2 – Résultats erreurs relatives obtenues des paramètres  $\mu_a^{1,2}$  et  $\mu_s^{1,2}$  d'un modèle numérique bicouche contenant du bruit de Poisson pour les algorithmes d'optimisation LM, TRR, GA et PSO et les fonctions coûts  $f_{ls}$ ,  $f_{lsnorm}$  et  $f_{lslog}$ .

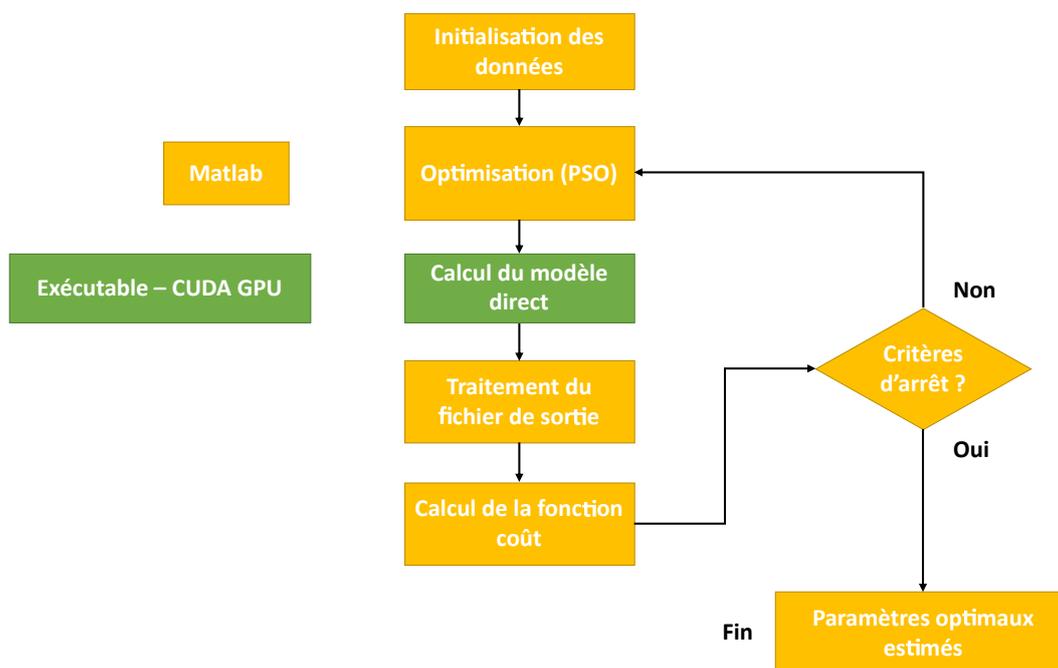


FIGURE 3.6 – Schéma par bloc des différentes étapes du processus d'inversion effectué dans l'environnement Matlab.

chaque paramètre de fluorescence. Ils n'utilisent qu'une seule longueur d'onde d'excitation de fluorescence [Diamond et al., 2003].

Dans ce paragraphe, nous proposons une fonction coût combinant les spectres de RD et d'AF basée sur des moindres carrés afin d'améliorer l'estimation des paramètres optiques d'un milieu multicouches. Pour résoudre le problème inverse, une simulation MC est utilisée pour simuler les spectres de RD et d'AF. Les dimensions spectrale et spatiale ont été prises en compte dans le modèle direct. Ensuite, notre approche est validée par une étude numérique pour des modèles à une couche et à deux couches *in silico* en comparant trois fonctions de coût.

Une étude expérimentale est finalement réalisée pour déterminer les performances de chaque fonction coût appliquée à des mesures réelles sur un fantôme optique solide bicouche.

### Intégration du modèle direct

La simulation MC que nous avons développée (voir chapitre 2) est utilisée puisqu'elle intègre les deux modalités spectrales : RD et AF.

Lors du processus d'inversion, un script Matlab est appelé. Ce script contient notamment un exécutable de la simulation MC.

Les principales étapes du script sont schématisées sur la Fig. 3.6 :

- Initialisation de toutes les données du problèmes
- Appel à la fonction d'optimisation (PSO)
- Mise à jour des paramètres à estimer et du fichier d'entrée de la simulation MC
- Exécution de la simulation MC
- Lecture du fichier de sortie
- Calcul de la fonction coût

— Mise en forme des matrices

### Fantôme bicouche turbide avec un type de fluorophore dans chaque couche

Un fantôme optique bicouche absorbant, diffusant et fluorescent a été conçu par Marine Amouroux et Sergey Zaytsev et utilisé pour la validation des données expérimentales. Il se composait de deux couches superposées de gel d'agarose à 1% (poids/volume) dans de l'eau distillée avec les caractéristiques respectives :

- couche supérieure de 2 mm d'épaisseur incluant de l'encre de Chine (Lefranc et Bourgeois) à 0.06% (vol./vol.) comme absorbeur, des intralipides IL-20% (Sigma-Aldrich) : 1% (vol./vol.) comme diffuseurs, et de la Chlorine e6 (Ce6) provenant de Apokare Pharma comme fluorophore avec une concentration de 83  $\mu\text{M}$ .
- couche inférieure de 10 mm d'épaisseur incluant des concentrations doublées d'absorbants et de diffuseurs avec de l'encre de Chine à 0.12% (vol./vol.) et des IL-20% à 2% (vol./vol.), et un fluorophore différent de la première couche, les flavines (F6625 Sigma-Aldrich) avec une concentration de 100  $\mu\text{M}$ .

Les spectres d'absorption et d'émission du Ce6 (6,41  $\mu\text{mol/L}$  dilué au 1/40 dans l'eau distillée) et des flavines (100  $\mu\text{mol/L}$  dilué au 1/20 dans l'eau distillée), mesurés par un spectrofluorimètre à fluorescence (Fluorolog 3, Horiba Fluorolog 3), sont représentés sur la figure 3.7. Le spectre d'absorption mesuré de l'encre de Chine à 0.06% (vol./vol.) diluée à 1/20 dans de l'eau distillée est donné sur la figure 3.8. Les spectres expérimentaux ont été réalisés à l'ENSIC avec l'aide de M. Philippe Arnoux.

### Milieux mono- et bi-couches « numériques »

Des modèles numériques de référence ont été utilisés pour quantifier avec précision les performances de notre schéma d'estimation. Deux milieux « numériques », monocouche et bicouche, sont conçus pour tester nos différentes fonctions coûts.

### Vecteur des paramètres à estimer pour le milieu monocouche numérique

Nous avons utilisé les spectres de l'encre de Chine  $\mu_{a,ink}(\lambda)$  (Fig.3.8), des intralipides-20%, des chlorines e6 (Fig.3.7) pour paramétrer notre modèle numérique monocouche tel que :

$$\mu_a^i(\lambda; c_{ink}^i) = c_{ink}^i \times \mu_{a,ink}(\lambda) \quad (3.9)$$

$$\mu_s^i(\lambda; c_{il}^i) = c_{il}^i \times \mu_{s,il}(\lambda) \quad (3.10)$$

Les valeurs de paramètres choisies pour simuler les spectres de référence sont :

- $\xi^1 = 0,05$  ;
- $cf^1 = 0,5$  ;
- $c_{ink}^1 = 0,5$  ;
- et  $c_{il}^1 = 0,4$ .

Les 4 paramètres à estimer sont regroupés dans le vecteur ci-dessous :

$$\mathbf{p} = [c_{ink}^1, c_{il}^1, \xi^1, cf^1]$$

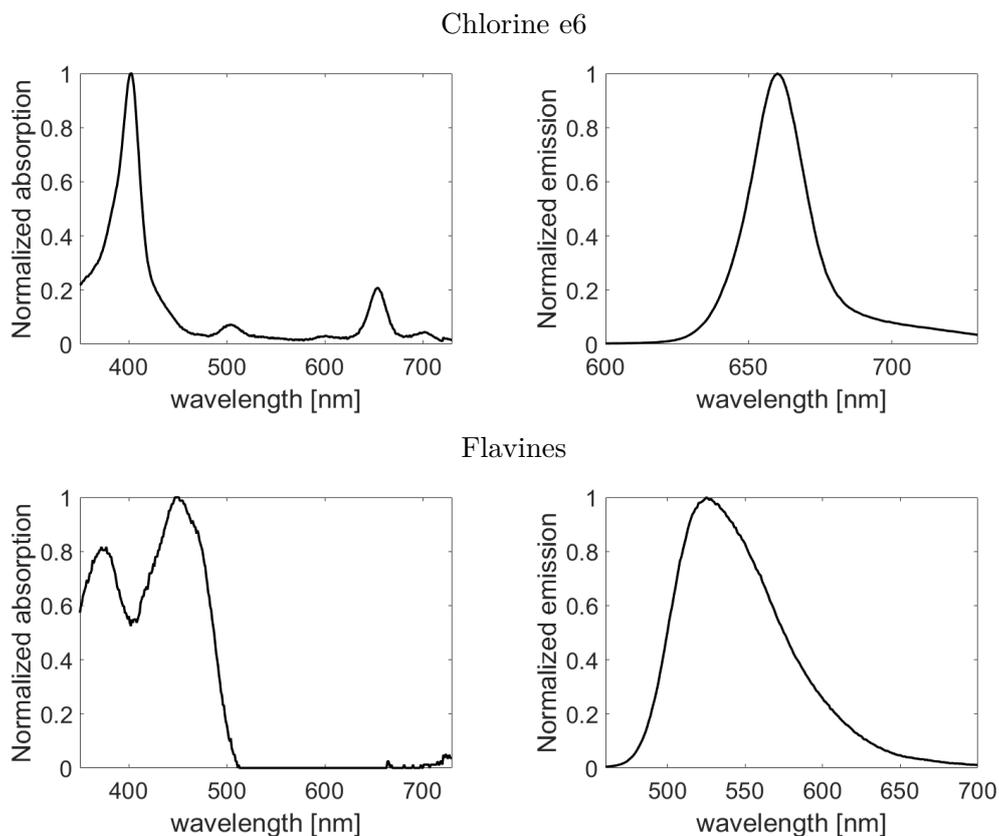


FIGURE 3.7 – Spectre d’absorption de fluorescence (à gauche) et d’émission de fluorescence (à droite) des fluorophores Chlorine e6 (en haut) et flavines (en bas) utilisés dans nos fantômes expérimentaux. Ces spectres sont également utilisés dans le milieu numérique à deux couches correspondant.

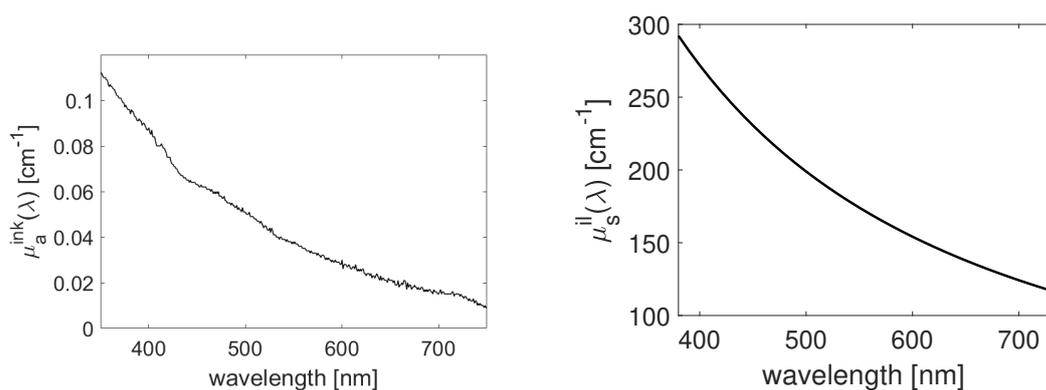


FIGURE 3.8 – Spectre du coefficient d’absorption de l’encre de Chine à 0.06% (vol./vol.) dilué à 1/20 dans l’eau distillée (à gauche) et spectre du coefficient de diffusion de l’intralipide - 5 % extrait de [Wen et al., 2009]

### Vecteurs des paramètres à estimer pour le milieu bicouches numérique

Nous avons utilisé les spectres de l'encre de Chine  $\mu_{a,ink}(\lambda)$  (Fig.3.8), des intralipides-20%, des chlorines e6 et des flavines (Fig.3.7) pour construire notre modèle numérique de milieu à deux couches d'épaisseur 0,5 et 5 mm respectivement et tels que :

$$\mu_a^i(\lambda; c_{ink}^i) = c_{ink}^i \times \mu_{a,ink}(\lambda) \quad (3.11)$$

$$\mu_s^i(\lambda; c_{il}^i) = c_{il}^i \times \mu_{s,il}(\lambda) \quad (3.12)$$

Nous avons aussi défini le vecteur de 8 paramètres à estimer ci-dessous :

$$\mathbf{p} = [c_{ink}^1, c_{il}^1, \xi^1, cf^1, c_{ink}^2, c_{il}^2, \xi^2, cf^2]$$

Les valeurs de référence ont été configurées de la façon suivante :

- pour la couche supérieure :  $\xi^1 = 0,05$  ;  $cf^1 = 0,5$  ;  $c_{ink}^1 = 0,5$  ;  $c_{il}^1 = 0,4$  ;
- pour la couche inférieure :  $\xi^2 = 0,3$  ;  $cf^2 = 1$  ;  $c_{ink}^2 = 1$  ;  $c_{il}^2 = 0,2$ .

#### 3.3.4 Nouvelles fonctions coûts proposées

Notre objectif est d'extraire les propriétés optiques d'un modèle multicouches de tissu biologique en résolvant un problème inverse exploitant des données spectroscopiques en RD et en AF résolues spatialement. La fonction coût est une étape importante pour résoudre le problème inverse. Nous avons ainsi proposé et étudié trois fonctions coûts différentes basées sur les moindres carrés logarithmiques afin de sélectionner la fonction la plus appropriée pour la suite de nos travaux. Les fonctions coûts  $f_R(\theta)$  (Eq.3.13) et  $f_F(\theta)$  (Eq.3.14) intègrent respectivement les spectres de RD et d'AF. Quant à la fonction coût  $f_{RF}(\theta)$  (Eq.3.15), elle combine les deux modalités spectrales en RD et en AF.

Ces trois fonctions coûts ont été utilisées pour estimer les paramètres optiques des milieux mono- et bi-couches *in silico*. Ensuite, les résultats de précision d'estimation calculés à l'aide des erreurs relatives ont été comparés.

$$f_R(\mathbf{p}) = \frac{1}{N_D N_\lambda} \times \sum_{i=1}^{N_D} \sum_{j=1}^{N_\lambda} \left[ \log \left( \frac{R_{exp}(\lambda_j, D_i)}{R_{mod}(\lambda_j, D_i; \mathbf{p})} \right) \right]^2 \quad (3.13)$$

où  $R_{exp}$  et  $R_{mod}$  sont respectivement les spectres de RD expérimentaux et modélisés.  $N_D$  est le nombre total de distances SD ( $N_D = 4$  dans notre étude).  $N_\lambda$  est le nombre total de longueurs d'onde échantillonnées pour la simulation de spectres de RD ( $N_\lambda = 15$  ici).  $\mathbf{p}$  est le vecteur de paramètres optiques à estimer.

$$f_F(\mathbf{p}) = \frac{1}{N_D N_{\lambda_{emi}} N_{\lambda_{exc}}} \times \sum_{i=1}^{N_D} \sum_{j=1}^{N_{\lambda_{emi}}} \sum_{k=1}^{N_{\lambda_{exc}}} \left[ \log \left( \frac{F_{exp}(\lambda_k^{exc}, \lambda_j^{emi}, D_i)}{F_{mod}(\lambda_k^{exc}, \lambda_j^{emi}, D_i; \mathbf{p})} \right) \right]^2 \quad (3.14)$$

où  $F_{exp}$  et  $F_{mod}$  sont respectivement les spectres de fluorescence expérimentaux et modélisés.  $N_{\lambda_{emi}}$  est le nombre total de longueurs d'onde d'émission de fluorescence échantillonnées facilitant la simulation des spectres de fluorescence (ici  $N_{\lambda_{emi}} = 10$ ) et  $N_{\lambda_{exc}}$  est le nombre de pics d'excitation de fluorescence ( $N_{\lambda_{exc}} = 5$ ) pour les fluorophores ce6 et flavines.

La fonction coût multimodale combine les deux fonctions coûts précédentes (3.13) et (3.14) telle que :

$$f_{RF}(\mathbf{p}) = f_R(\mathbf{p}) + f_F(\mathbf{p}) \quad (3.15)$$

avec  $i = 1, 2$ .

**Remarque 3.4** *Le vecteur  $\mathbf{p}$ , contenant les paramètres à estimer d'un milieu monocouche par exemple, est le même pour chaque fonction coût car on cherche à étudier l'efficacité de la fonction coût utilisée.*

### 3.3.5 Choix de l'algorithme d'optimisation globale

L'algorithme d'optimisation globale utilisé dans cette étude est l'algorithme PSO via une fonction Matlab *particleswarm*. Ce choix est motivé par le nombre important de paramètres à estimer, en particulier dans le milieu bicouches où nous cherchons à estimer 8 paramètres. L'utilisation de cet algorithme requiert de fixer plusieurs paramètres au préalable :

- Le nombre de particules est fixé par défaut à  $\min(100, 10 \times nvars)$  où  $nvars$  est le nombre de paramètres à estimer ( $nvars = 4$  ou  $8$  pour les milieux mono- et bi-couches dans cette étude). Ainsi pour le milieu monocouche, 40 particules sont initialisées et se déplacent dans l'espace des solutions à 4D (la dimension de l'espace est définie par le nombre de paramètres à estimer). Pour le milieu bicouches, 80 particules sont initialisées et se déplacent dans l'espace des solutions à 8D.
- Nous avons défini les bornes inférieures et supérieures de l'espace des solutions. Les connaissances *a priori* sur les données simulées ou mesurées et les paramètres à estimer permettent de mieux définir ces bornes.
- Une valeur de la fonction coût considérée est calculée en fonction de chaque position des particules dans l'espace des solutions. La meilleure valeur globale se trouve dans l'ensemble des particules à chaque étape. Les autres particules se déplacent vers cette valeur avec un paramètre et une position de vitesse. Le processus d'itération est répété jusqu'à ce qu'un critère d'arrêt soit atteint, par exemple jusqu'à ce que les itérations maximales soient atteintes ou que la variation relative de la valeur de la meilleure fonction coût soit inférieure aux options *FunctionTolerance*.

Dans le but de réduire la durée du processus d'inversion, tout en conservant une certaine robustesse et précision des valeurs estimées, nous avons décidé de faire varier le nombre d'itérations maximales *MaxIterations*. Ce nombre est fixé par défaut à  $200 \times nvars$ ; cela signifie que ce nombre vaut 800 pour un milieu monocouche ou 1600 pour un milieu bicouches. Bien que d'autres critères d'arrêt permettent aussi de sortir du processus d'inversion, mais pour commencer, ce paramètre nous semble le plus pertinent à étudier.

### 3.3.6 Résultats d'estimation des propriétés optiques

#### Milieu monocouche *in silico*

Nous avons estimé les 4 paramètres suivant :  $\mathbf{p} = [\xi^1, cf^1, c_{ink}^1, c_{il}^1]$  en minimisant les fonctions coûts définies dans la Sec.3.3.4 avec  $f_R$  Eq. (3.13),  $f_F$  Eq. (3.14) et  $f_{RF}$  Eq. (3.15). Nous avons fixé les bornes inférieures (LB) et supérieures (UB) de l'algorithme PSO :

- $LB = [0, 01 \ 0, 5 \ 0, 1 \ 0, 1]$
- $UB = [1 \ 10 \ 1 \ 1]$

Le tableau 3.3 montre les erreurs relatives des paramètres estimés selon le nombre d'itérations maximales (20 et 50) de l'algorithme PSO pour chaque fonction coût :

- Pour  $f_R$ , augmenter le nombre d'itérations maximales améliore l'estimation des paramètres en particulier pour les paramètres de fluorescence.
- Les erreurs relatives pour la fonction coût  $f_F$  sont supérieures à 75 % sauf pour l'un des paramètres liés à la fluorescence  $cf^1$  dont l'erreur relative est inférieure à 1 %.
- La fonction coût  $f_{RF}$  affiche les erreurs relatives les plus faibles pour 20 itérations maximum. L'augmentation du nombre d'itérations maximales à 50 n'améliore pas de façon significative les résultats déjà très satisfaisants (<1 % pour tous les paramètres estimés).

Nous voyons que pour les fonctions coûts  $f_R$  et  $f_{RF}$ , les erreurs relatives sont très faibles et très satisfaisants pour un milieu monocouche *in silico*. Cependant la fonction  $f_{RF}$  est plus intéressante, car dans cette configuration pour un nombre d'itérations maximales fixé à 20, qui est donc ici le critère d'arrêt principal des processus d'inversion lancés, la durée du processus d'inversion est la plus faible.

Ces résultats confirment l'intérêt de la multimodalité qui augmente l'information prise en compte dans le processus d'inversion, notamment en utilisant la fonction coût avec  $f_{RF}$ , puisque la durée du processus d'inversion est diminuée, une seule étape est nécessaire et les erreurs relatives des paramètres estimés sont faibles. En effet, dans la littérature, souvent, deux modèles sont utilisés pour réaliser deux processus d'inversion différents pour extraire les paramètres liés à la fluorescence [Palmer and Ramanujam, 2008]. Les spectres de fluorescence obtenus pour une seule longueur d'onde d'excitation de fluorescence sont pris en compte dans le processus d'inversion [Diamond et al., 2003]. Dans notre étude, nous avons inclus spectres obtenus pour 5 longueurs d'onde d'excitation de fluorescence et nous n'avons utilisé qu'une seule simulation MC et qu'un seul processus d'inversion. Cette ensemble de données spectrales nous permet d'apporter de l'information et donc d'améliorer l'estimation.

De plus, l'intérêt de la multimodalité est également confirmé par l'utilisation de la fonction  $f_R$  pour 50 itérations maximales où les paramètres liés à la fluorescence, le rendement quantique  $\xi^1$  et le coefficient  $cf$ , sont estimés avec des erreurs relatives inférieures à 1 %. En effet, les données simulées en RD par notre simulation MC intègrent la contribution de la fluorescence (Chapitre 2).

Quant à la fonction  $f_F$ , les résultats obtenus pour les coefficients d'absorption et de diffusion (erreurs relatives supérieures à 100 %) montrent qu'une étape d'estimation de ces paramètres,  $c_{ink}^1$  et  $c_{il}^1$ , doit être réalisée au préalable. Dans ce cas, il faudrait réaliser deux processus d'inversion en utilisant notre simulation MC. Donc la fonction  $f_F$  ne correspond pas à nos attentes dans cette configuration, car elle ne se limite qu'aux spectres d'AF et nécessite deux étapes d'inversion pour espérer obtenir des meilleurs résultats sur les paramètres estimés.

Pour compléter les résultats issus du tableau 3.3, les positions des 40 particules de l'algorithme d'optimisation PSO à travers l'espace des solutions 4D ont été enregistrées à chaque itération pour les 3 fonctions coûts  $f_R$ ,  $f_F$  et  $f_{RF}$ . Nous avons choisi de ne montrer que l'itération initiale à N=1, l'itération intermédiaire à N=10 et finale à N=20. La Fig. 3.9 montre

Tableau 3.3 – Tableau récapitulatif des erreurs relatives des paramètres estimés selon différentes itérations maximales (Max.iter.) dans l’algorithme PSO pour les fonctions de coût des moindres carrés  $f_R$ ,  $f_F$  et  $f_{RF}$  dans le cas d’un milieu monocouche. ” > 100” indique des erreurs relatives supérieures à 100 %. ” < 1” indique des erreurs relatives inférieures à 1 %.

|          | $N_{iter}$ | $\xi^1$ [%]   | $cf^1$ [%]  | $c_{ink}^1$ [%] | $c_{il}^1$ [%] |
|----------|------------|---------------|-------------|-----------------|----------------|
| $f_R$    | 20         | $14 \pm 10.4$ | $30 \pm 28$ | $7.2 \pm 4.3$   | $4.4 \pm 1.6$  |
|          | 50         | <1            | <1          | <1              | <1             |
| $f_F$    | 20         | >100          | <1          | $89 \pm 2.8$    | $73 \pm 4.5$   |
|          | 50         | >100          | <1          | $88 \pm 1.1$    | $75 \pm <1$    |
| $f_{RF}$ | 20         | $1.7 \pm <1$  | <1          | <1              | <1             |
|          | 50         | <1            | <1          | <1              | <1             |

l’itération initiale correspond à la répartition des particules dans l’espace des solutions. Les positions sont identiques pour les 3 cas étudiés.

Pour  $f_F$ , les particules de l’algorithme de PSO convergent vers la solution attendue pour le paramètre  $cf$  lié à la fluorescence (voir Fig. 3.10, au milieu). Nous nous attendions également à une convergence du paramètre  $\xi$  lié également à la fluorescence. Cependant, les erreurs relatives sont très élevées (>100 %). L’une des explications est que le rendement quantique  $\xi$  est très dépendant des valeurs des coefficients d’absorption et de diffusion du milieu [Gardner et al., 1996]. [Palmer and Ramanujam, 2008] ont montré que les erreurs observées sur la fluorescence sont très fortement liées aux erreurs des propriétés optiques  $\mu_a(\lambda)$  et  $\mu_s(\lambda)$  obtenues pour les longueurs d’onde d’excitation (voir Fig. 3.11).

Les spectres de RD contribuent fortement à obtenir une estimation des valeurs des  $\mu_a(\lambda)$  et des  $\mu_s(\lambda)$  très proche des valeurs de référence (pour  $f_R$ , voir Fig. 3.11).

Pour  $f_{RF}$ , la dispersion des particules est réduite ce qui implique une augmentation de la précision et confirme l’intérêt d’intégrer la multimodalité dans le processus d’inversion. De plus, la vitesse de convergence est augmentée. La Fig. 3.12 montre un zoom des fonctions coûts  $f_R$  et  $f_{RF}$  à  $N_{iter} = 20$  et on observe la difficulté à estimer les paramètres liés à la fluorescence,  $\xi$  et  $cf$ , pour  $f_R$ , contrairement à  $f_{RF}$ . Cela nous indique que pour converger plus rapidement vers la valeur de référence de  $\xi$ , il faut tenir compte des informations issues des spectres d’AF malgré que les coefficients déterminant  $\mu_a(\lambda)$  et  $\mu_s(\lambda)$  sont estimés avec une erreur relative inférieure à 10 % ou bien augmenter le nombre d’itérations à  $N = 50$  (voir le tableau 3.3). Pour  $cf$ , tenir compte des spectres d’AF permet d’estimer avec une précision inférieure à 1 % ce paramètre (voir pour  $f_F$  et  $f_{RF}$  dans le tableau 3.3 et la Fig. 3.10).

### Milieu bicouche *in silico*

Pour le modèle numérique bicouche, nous avons estimé les 8 paramètres suivant :

$$\mathbf{p} = [\mu_a^1(\lambda; \mathbf{c}_{ink}), \mu_s^1(\lambda; \mathbf{c}_{il}), \xi^1, cf^1, \mu_a^2(\lambda; \mathbf{c}_{ink}), \mu_s^2(\lambda; \mathbf{c}_{il}), \xi^2, cf^2]$$

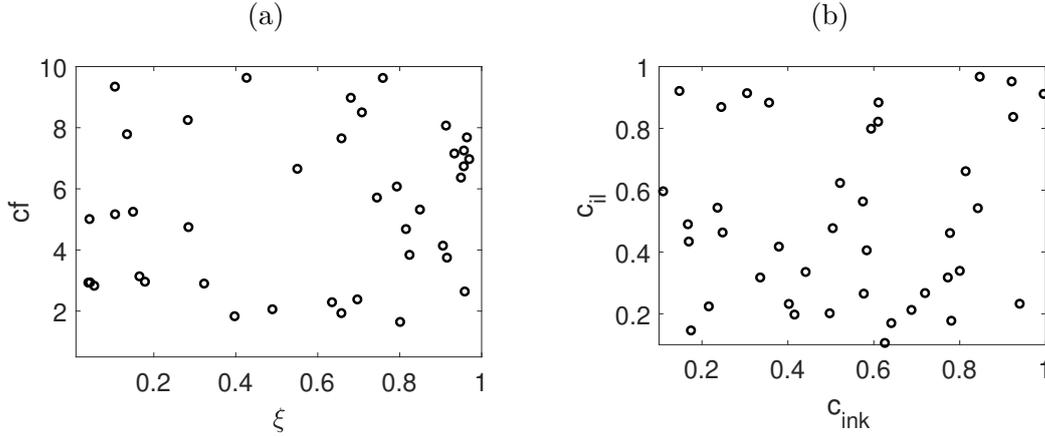


FIGURE 3.9 – Initialisation des particules de l’algorithme PSO identique pour les 3 fonctions coûts étudiées en fonction des paramètres  $cf$  et  $\xi$  (a) et  $c_{il}$  et  $c_{ink}$  (b) pour l’estimation des paramètres optiques d’un milieu monocouche.

Chaque couche contient un fluorophore différent. Pour l’utilisation de l’algorithme de PSO, les bornes inférieures (LB) et supérieures (UB) ont été définies :

- $LB = [0, 01, 0, 01, 0, 1, 0, 1, 0, 1, 0, 1, 0, 1, 0, 1]$
- $UB = [1, 1, 10, 10, 1, 1, 1, 1]$

Les résultats des paramètres estimés sont résumés dans le tableau 3.4. Seules deux fonctions coûts sont étudiées,  $f_R$  et  $f_{RF}$ , car leurs résultats pour un milieu monocouche convergent vers les valeurs des paramètres de référence (voir Tab.3.3).

Pour  $f_R$ , les deux paramètres se rapportant aux spectres de RD sont ceux qui sont les mieux estimés pour l’ensemble des couches considérées à  $N_{iter} = 50$  :

- le paramètre estimé  $c_{il}^i$  en lien avec le coefficient de diffusion  $\mu_s(\lambda)$  est celui qui possède la plus faible erreur relative quel que soit la couche. Pour la couche supérieure, il est  $<1\%$  pour  $N_{iter} = 20$  ou 50. Pour le milieu monocouche, l’erreur relative de ce paramètre est autour de  $5\%$  à  $N_{iter} = 20$ .
- le paramètre  $c_{ink}^1$  lié au coefficient d’absorption  $\mu_a(\lambda)$  possède une erreur relative inférieure à  $15\%$  pour la couche supérieure, mais cette erreur relative monte à plus de  $60\%$  pour  $N_{iter} = 20$ .

Pour ce milieu bicouches, l’estimation des paramètres relevant des spectres de fluorescence sont systématiquement proche de  $100\%$  d’erreurs.

Pour  $f_{RF}$ , les paramètres estimés dans la couche supérieure sont compris entre  $11$  et  $2\%$  d’erreurs environ avec une dispersion inférieure à  $10\%$ . Les paramètres estimés dans la couche supérieure par  $f_{RF}$  ont des erreurs relatives, plus faibles que ceux estimés avec  $f_R$ . Un nombre d’itérations importants est préférable pour obtenir de meilleurs résultats des paramètres estimés. En effet, pour le rendement quantique  $\xi$ , à  $N_{iter} = 20$ , son erreur relative est  $>100\%$ , par contre, à  $N_{iter} = 50$ , l’erreur relative tombe à  $10\%$  environ.

Le milieu bicouches est basé sur plus de propriétés optiques non-linéaires. Cela entraîne une complexité plus importante du processus d’inversion contrairement au milieu monocouche parce que le nombre de paramètres à estimer est multiplié par deux. En effet, nous passons de  $4$  à  $8$

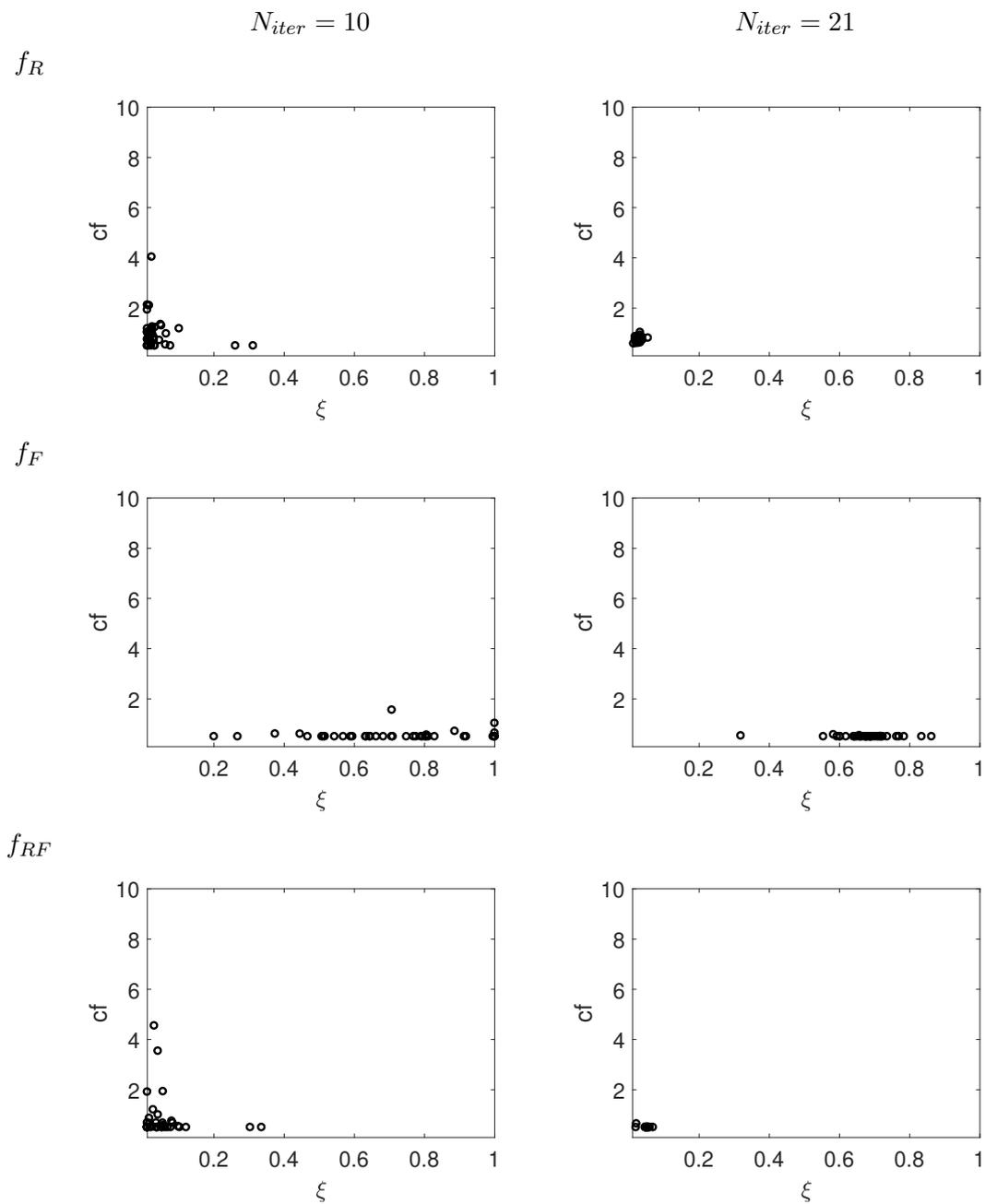


FIGURE 3.10 – Positions des particules en fonction des paramètres  $cf$  et  $\xi$  pour  $N_{iter} = 10$  et la dernière itération  $N_{iter} = 21$  de l’algorithme PSO et les fonctions coûts  $f_R$ ,  $f_F$  et  $f_{RF}$ . Les valeurs de références sont  $\xi = 0,05$  et  $cf = 0,5$ .

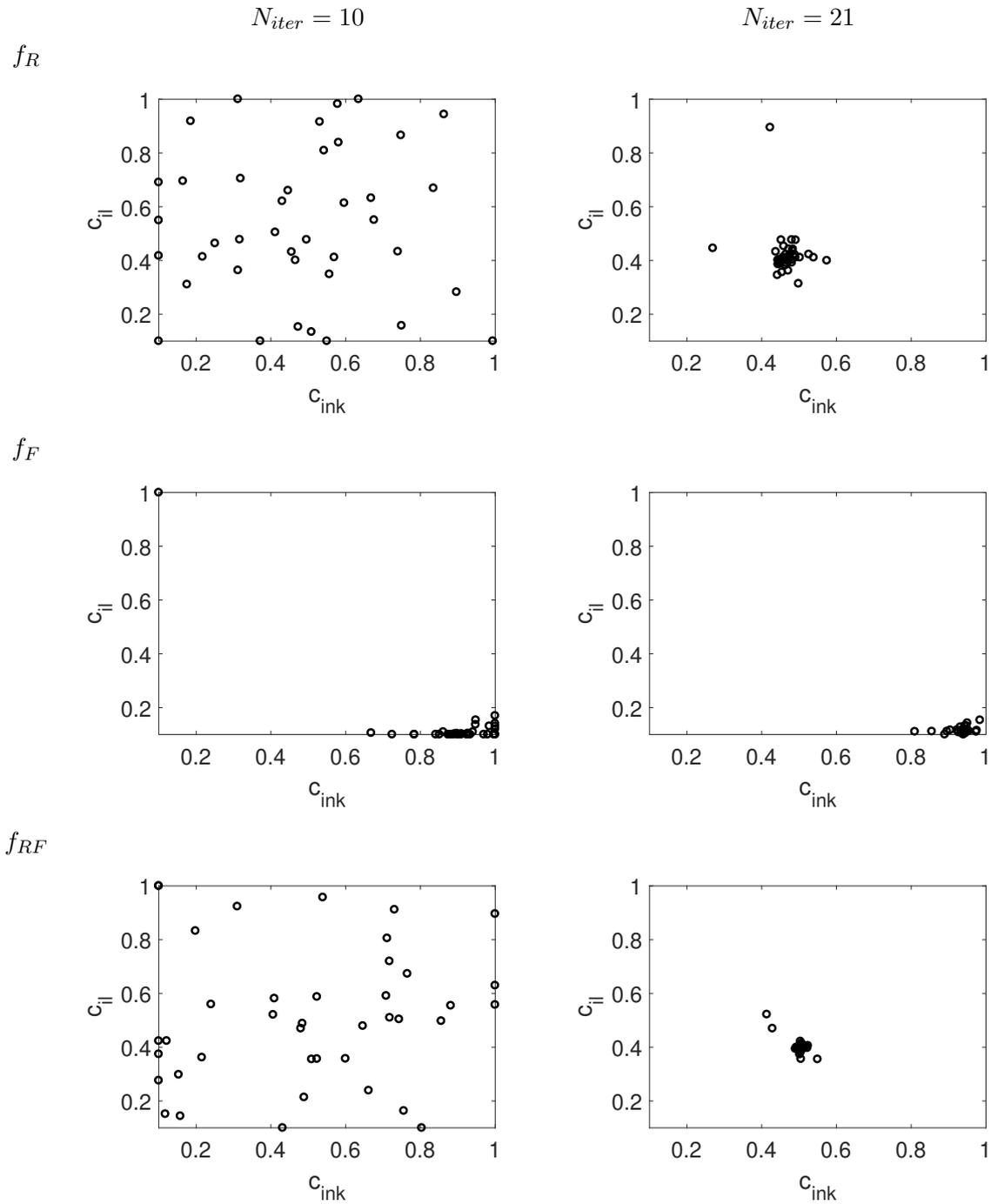


FIGURE 3.11 – Positions des particules en fonction de  $\mu_a$  et  $\mu_s$  pour l'itération  $N = 10$  et la dernière itération  $N = 21$  de l'algorithme PSO et les fonctions coûts  $f_R$ ,  $f_F$  et  $f_{RF}$ . Les valeurs de références sont  $c_{ink} = 0,5$  et  $c_{il} = 0,4$ .

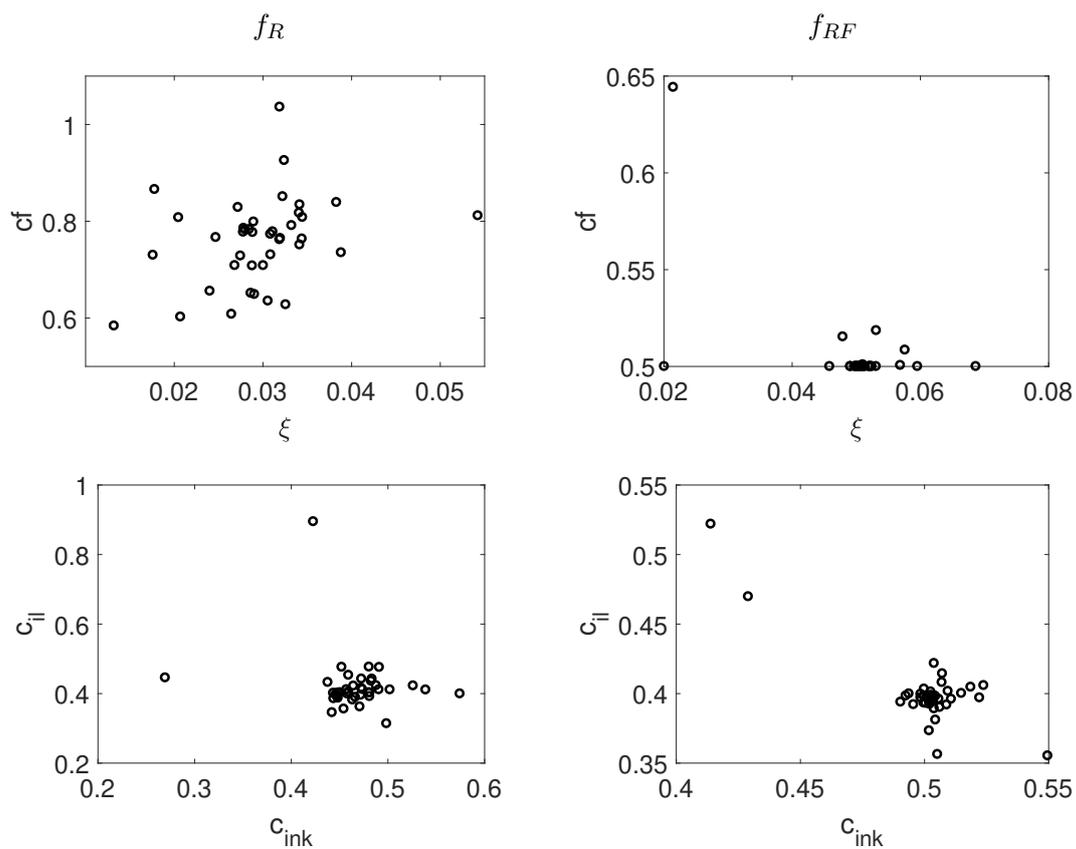


FIGURE 3.12 – Zoom des 40 particules pour  $N = 21$  itérations de l’algorithme PSO pour les fonctions coûts  $f_R$  et  $f_{RF}$  avec les paramètres de références suivantes :  $\xi = 0,05$   $cf = 0,5$   $c_{ink} = 0,5$   $c_{il} = 0,4$ .

Tableau 3.4 – Tableau récapitulatif des erreurs relatives des paramètres estimés selon différentes itérations maximales ( $N_{iter}$ ) de l’algorithme PSO pour les fonctions de coût des moindres carrés  $f_R$  et  $f_{RF}$  dans le cas d’un milieu bicouche. ”  $> 100$ ” indique des erreurs relatives supérieures à 100 %. ”  $< 1$ ” indique des erreurs relatives inférieures à 1 %.

|                   |          | $N_{iter}$ | $\xi^1$ [%]   | $cf^1$ [%]   | $c_{ink}^1$ [%] | $c_{il}^1$ [%] |
|-------------------|----------|------------|---------------|--------------|-----------------|----------------|
| couche supérieure | $f_R$    | 20         | $>100$        | $80 \pm <1$  | $15 \pm <1$     | $<1$           |
|                   |          | 50         | $>100$        | $78 \pm 3$   | $13 \pm <1$     | $<1$           |
|                   | $f_{RF}$ | 20         | $>100$        | $1 \pm 42$   | $8.2 \pm 11$    | $2.3 \pm 4.8$  |
|                   |          | 50         | $9.8 \pm 6.9$ | $11 \pm 8.5$ | $4 \pm 1.8$     | $1.9 \pm 1.5$  |
|                   |          |            | $\xi^2$ [%]   | $cf^2$ [%]   | $c_{ink}^2$ [%] | $c_{il}^2$ [%] |
| couche inférieure | $f_R$    | 20         | $97 \pm <1$   | $90 \pm <1$  | $63 \pm <1$     | $9.1 \pm <1$   |
|                   |          | 50         | $29 \pm 73$   | $60 \pm 38$  | $32 \pm 20$     | $17 \pm 8.6$   |
|                   | $f_{RF}$ | 20         | $66 \pm 35$   | $>100$       | $62 \pm 17$     | $13 \pm 21$    |
|                   |          | 50         | $43 \pm 85$   | $8.5 \pm 69$ | $28 \pm 17$     | $21 \pm 11$    |

paramètres à estimer.

L’autre difficulté est l’épaisseur de la première couche, fixée à 0,5 mm, qui peut être à l’origine des erreurs relatives élevées des paramètres estimés de la couche inférieure [Tseng et al., 2011]. En effet, les photons détectés par les fibres de détection située à  $D_2$  et  $D_3$  possèdent des informations sur les propriétés optiques de la couche inférieure. Cependant, une épaisseur importante de la couche supérieure diminue l’information récupérée par les photons détectés visitant la couche inférieure, car les photons traversent deux fois la couche supérieure. Cela explique pourquoi les erreurs relatives des paramètres estimés pour la couche supérieure sont plus faibles que celle des erreurs relatives estimées pour la couche inférieure.

Les comparaisons directes avec des résultats issues de la littérature sont délicates, car les milieux ne sont pas modélisés exactement de la même manière et généralement les paramètres optiques ne dépendent pas de la longueurs d’onde [Naglič et al., 2016, Tseng et al., 2008, Kienle et al., 1998]. De plus, nos données tiennent compte de la fluorescence. Pour les paramètres estimés appartenant à la couche supérieure, nos données sont très proches de ceux trouvées dans la littérature ( $> 10$  %). Pour la couche inférieure, nous sommes assez éloignés des erreurs relatives plus faibles trouvées dans la littérature. Cela s’explique en partie par la complexité de notre modèle. Les paramètres estimés liés à la fluorescence de la couche supérieure sont proches de ceux trouvés dans la littérature (et pour des milieux monocouche) autour de  $\pm 15$  % d’erreurs [Gardner et al., 1996]. Les dispersions sont également importantes, notamment la concentration du fluorophore dont les erreurs relatives varient entre -22 % et 16 % [Gardner et al., 1996].

### Fantôme bicouche expérimental

Dans cette partie, nous avons utilisé les données acquises avec la sonde optique sur le fantôme bicouche expérimental dont les paramètres ont été définis dans le sous-paragraphe 3.3.3.

Pour comparer les données expérimentales et les données simulées avec la simulation MC, nous avons ajouté un terme de calibration dans les fonctions coûts définies de la même façon que dans la fonction coût (3.6) :

— Pour les spectres de RD :

$$S(\lambda; \mathbf{p}) = \frac{\sum_{k=1}^{N_D} R_{mod}(\lambda, D_k; \mathbf{p})}{\sum_{k=1}^{N_D} R_{exp}(\lambda, D_k)} \quad (3.16)$$

— Pour les spectres d'AF :

$$S_f(\lambda, N_{\lambda^{exc}}; \mathbf{p}) = \frac{\sum_{k=1}^{N_D} \sum_{j=1}^{N_{\lambda^{exc}}} AF_{mod}(\lambda, D_k, j; \mathbf{p})}{\sum_{k=1}^{N_D} \sum_{j=1}^{N_{\lambda^{exc}}} AF_{exp}(\lambda, D_k, j)} \quad (3.17)$$

Pour le facteur d'échelle des spectres d'AF, nous exploitons les longueurs d'excitation de l'instrument avec  $N_{\lambda^{exc}} = 5$ .

L'utilisation du terme de calibration (3.16) permet de ne pas ajouter des paramètres de facteur d'échelle dans les paramètres à estimer  $\mathbf{p}$ .

Ainsi, on peut réécrire la fonction coût  $f_R$  :

$$f_R(\mathbf{p}) = \frac{1}{N_D N_\lambda} \times \sum_{i=1}^{N_D} \sum_{j=1}^{N_\lambda} \left[ \log \left( \frac{S(\mathbf{p}) R_{exp}(\lambda_j, D_i)}{R_{mod}(\lambda_j, D_i; \mathbf{p})} \right) \right]^2$$

Lorsque la vérité terrain n'est pas connue ou que celle-ci est présente des erreurs expérimentales, dans un premier temps, la reconstruction des spectres à partir des paramètres estimés est considérée et comparée aux spectres expérimentaux. Ensuite, nous avons comparé les paramètres optiques estimés issus de l'inversion de modèle à ceux issus du fantôme expérimental déterminés par des fonctions paramétriques (voir chapitre 2).

Dans notre étude de la multimodalité, nous avons donc reconstruit les spectres et comparé aux spectres expérimentaux en calculant les erreurs relatives et en cherchant des erreurs relatives les plus faibles.

Cependant, l'interprétation des faibles erreurs relatives entre les spectres originaux et reconstruits ne signifie pas toujours que les paramètres trouvés sont les meilleurs.

Pour la fonction coût  $f_R$  et  $N_{iter} = 50$ , les spectres de réflectance diffuse ont été reconstruits en se basant sur les paramètres estimés et superposés sur les données de réflectance diffuse expérimentales. La moyenne des erreurs relatives sur l'ensemble des longueurs d'onde pour chaque distance SD est détaillée dans le tableau 3.5.

Les spectres de fluorescence reconstruits donnent des meilleurs résultats pour le fluorophore situé dans la couche supérieure. En effet, pour la couche inférieure, les résultats des erreurs relatives entre les spectres reconstruits et les spectres expérimentaux de la flavine, à  $\lambda^{exc} = 405 \text{ nm}$  vont de 19 % à 43 % pour les 3 premières distances SD, au-delà de 100 % pour  $D_4$ .

L'exploitation de la dernière distance est entachée d'erreurs importantes.

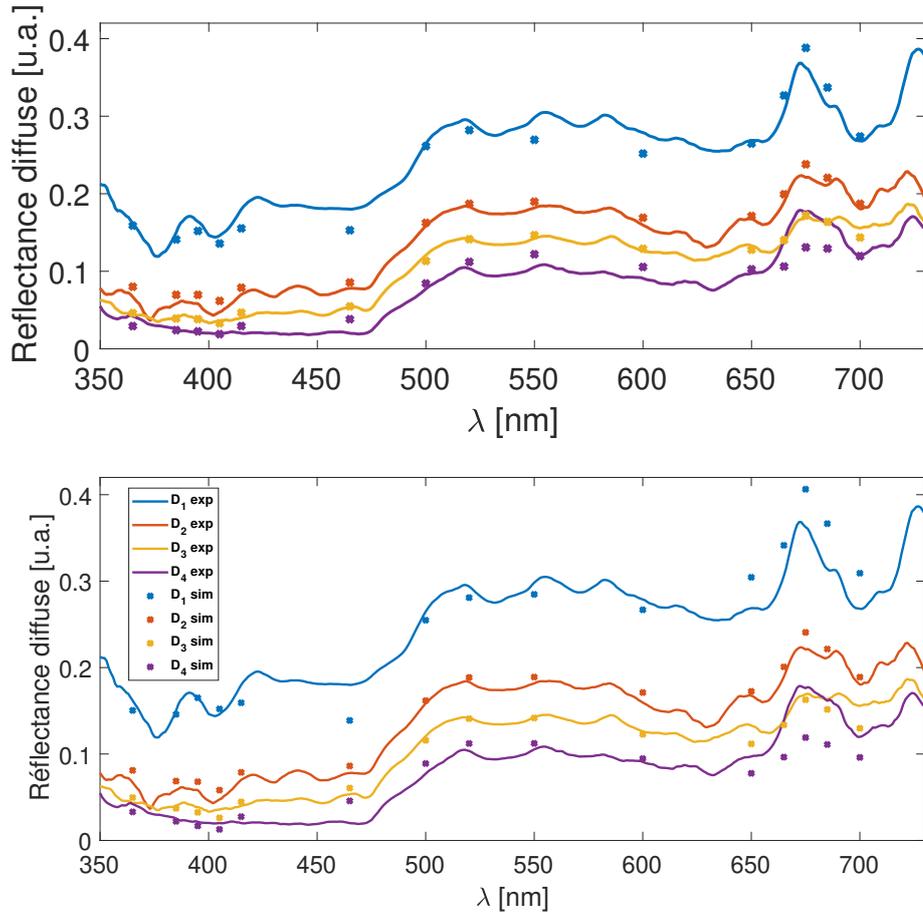


FIGURE 3.13 – Spectres de réflectance diffuse acquis expérimentalement (trait continu) et reconstitués (points) avec les fonctions coûts  $f_R$  en haut et  $f_{RF}$  en bas.

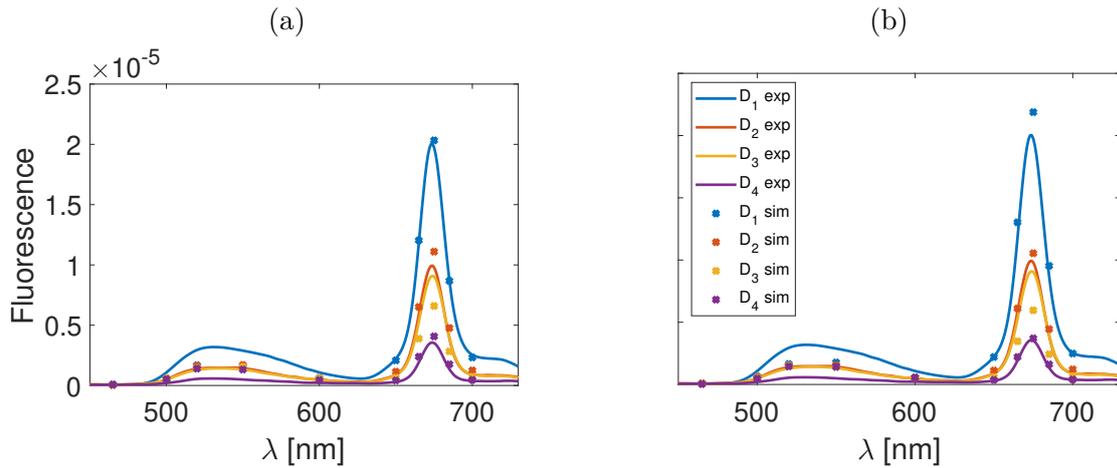


FIGURE 3.14 – Spectres de fluorescence acquis expérimentalement (trait continu) et reconstitués (points) avec les différentes fonctions pour  $\lambda^{exc} = 405 \text{ nm}$  avec les fonctions coûts  $f_R$  (a) et  $f_{RF}$  (b).

|          | $D_1$ | $D_2$ | $D_3$ | $D_4$ |
|----------|-------|-------|-------|-------|
| $f_R$    | 6,7 % | 10 %  | 4,2 % | 20 %  |
| $f_{RF}$ | 8 %   | 10 %  | 9,3%  | 27 %  |

Tableau 3.5 – Erreurs relatives moyennes des spectres reconstruits de réflectance diffuse par rapport aux spectres expérimentaux en fonction des distances SD pour les deux fonctions coûts  $f_R$  et  $f_{RF}$ .

|       | $f_R$                    |                                    |                                    | $f_{RF}$ |                                    |                                    |     |
|-------|--------------------------|------------------------------------|------------------------------------|----------|------------------------------------|------------------------------------|-----|
|       | Ens.                     | $\lambda_{[465:600]}^{\text{emi}}$ | $\lambda_{[650:700]}^{\text{emi}}$ | Ens.     | $\lambda_{[465:600]}^{\text{emi}}$ | $\lambda_{[650:700]}^{\text{emi}}$ |     |
| $D_1$ | $\lambda_1^{\text{exc}}$ | 36                                 | 48                                 | 23       | 32                                 | 40                                 | 24  |
|       | $\lambda_2^{\text{exc}}$ | 26                                 | 41                                 | 10       | 22                                 | 36                                 | 7   |
|       | $\lambda_3^{\text{exc}}$ | 33                                 | 41                                 | 25       | 32                                 | 40                                 | 25  |
|       | $\lambda_4^{\text{exc}}$ | 24                                 | 43                                 | 5        | 28                                 | 50                                 | 5,5 |
|       | $\lambda_5^{\text{exc}}$ | 24                                 | 42                                 | 7        | 21                                 | 37                                 | 6   |
| $D_2$ | $\lambda_1^{\text{exc}}$ | 30                                 | 37                                 | 23       | 22                                 | 22                                 | 22  |
|       | $\lambda_2^{\text{exc}}$ | 30                                 | 31                                 | 29       | 17                                 | 13                                 | 21  |
|       | $\lambda_3^{\text{exc}}$ | 11                                 | 15                                 | 8        | 13                                 | 17                                 | 9   |
|       | $\lambda_4^{\text{exc}}$ | 26                                 | 37                                 | 15       | 15                                 | 14                                 | 15  |
|       | $\lambda_5^{\text{exc}}$ | 20                                 | 24                                 | 15       | 13                                 | 13                                 | 12  |
| $D_3$ | $\lambda_1^{\text{exc}}$ | 23                                 | 25                                 | 21       | 18                                 | 21                                 | 15  |
|       | $\lambda_2^{\text{exc}}$ | 16                                 | 9                                  | 22       | 17                                 | 12                                 | 22  |
|       | $\lambda_3^{\text{exc}}$ | 34                                 | 37                                 | 32       | 21                                 | 10                                 | 33  |
|       | $\lambda_4^{\text{exc}}$ | 26                                 | 19                                 | 32       | 24                                 | 16                                 | 31  |
|       | $\lambda_5^{\text{exc}}$ | 18                                 | 10                                 | 26       | 21                                 | 16                                 | 26  |
| $D_4$ | $\lambda_1^{\text{exc}}$ | >100                               | >100                               | 53       | >100                               | >100                               | 66  |
|       | $\lambda_2^{\text{exc}}$ | 86                                 | >100                               | 50       | 99                                 | >100                               | 53  |
|       | $\lambda_3^{\text{exc}}$ | 25                                 | 32                                 | 19       | 31                                 | 46                                 | 16  |
|       | $\lambda_4^{\text{exc}}$ | 71                                 | >100                               | 27       | 83                                 | >100                               | 27  |
|       | $\lambda_5^{\text{exc}}$ | 67                                 | >100                               | 19       | 65                                 | >100                               | 17  |

Tableau 3.6 – Erreurs relatives moyennes des spectres reconstruits par rapport aux spectres de fluorescence expérimentaux pour les fonctions coûts  $f_R$  et  $f_{RF}$  en fonction de la distance SD et des longueurs d'excitation  $\lambda_{1:5}^{\text{exc}}$ .

## 3.4 Conclusion

Dans ce chapitre, nous nous sommes focalisés sur la résolution du problème inverse et l'estimation des propriétés optiques. Nous avons comparé les fonctions coûts de différentes formes pour un modèle déterministe et notre simulation MC. Nous avons aussi comparé les algorithmes d'optimisation et choisi d'utiliser l'algorithme PSO. Nous avons proposé une résolution de problème inverse utilisant un modèle direct et une fonction coût intégrant la multimodalité en réflectance diffuse et en autofluorescence. Nous avons tout d'abord montré à l'aide de données *in silico* que la fonction multimodale était meilleure lors d'une estimation de 6 paramètres issus d'un modèle monocouche. Par contre, lorsqu'on utilise un modèle numérique bicouches, la complexité de l'inversion augmente. En particulier les erreurs relatives des paramètres des couches inférieures et plus précisément les paramètres liés à la fluorescence augmentent fortement. Ensuite, nous avons réalisé une inversion avec données expérimentales issues d'un fantôme bicouches. Nous avons analysé les spectres reconstruits pour observer les erreurs relatives pour les différentes fonctions coûts. Nous avons validé les performances de la nouvelle fonction coût proposée et associées à un algorithme de PSO, qui seront donc utiliser dans la suite de nos travaux en particulier dans le cadre de l'étude de l'impact d'un agent de clarification optique sur un échantillon *ex vivo* de peau.



## Chapitre 4

# Étude des modifications des propriétés optiques estimées de la peau humaine au cours d'un processus de clarification optique

*L'échiquier est en place, et les pièces avancent.*

---

*Le seigneur des anneaux* Tolkien

### Sommaire

---

|     |                                  |     |
|-----|----------------------------------|-----|
| 4.1 | Matériels & Méthodes . . . . .   | 102 |
| 4.2 | Résultats & Discussion . . . . . | 105 |
| 4.3 | Conclusion . . . . .             | 112 |

---

Dans le chapitre 3, un algorithme complet de résolution du problème inverse a été développé. Nous avons en particulier proposé et validé une fonction coût intégrant les deux modalités spectroscopiques associées au dispositif expérimental mis en œuvre (voir chapitre 1) : RD et AF. Ces travaux ont par ailleurs révélé les limites, en terme de précision, de l'estimation des propriétés optiques de la couche inférieure d'un modèle bicouche (numérique et expérimental). Dans le présent chapitre 4, nous étudions les modifications des propriétés optiques d'un échantillon de peau *ex vivo* au cours d'un processus de clarification optique (CO). L'application d'un ACO sur la peau entraîne la réduction des propriétés d'absorption et de diffusion qui cause la transparence des couches superficielles de la peau [Zhu et al., 2013, Sdobnov et al., 2018].

L'objectif est ici d'exploiter la fonction coût bimodale développée dans le chapitre 3 (précédent) pour estimer les coefficients d'absorption, de diffusion et de fluorescence de cet échantillon de peau et d'analyser les modifications de leurs valeurs suite à l'application topique d'un ACO.

Notre travail est basé sur la fabrication originale d'un fantôme hybride composé de deux couches :

- la couche supérieure est un lambeau de peau (épiderme + derme supérieur),
- la couche inférieure est composée d'un gel d'agarose.

Pour estimer et analyser les propriétés optiques en fonction du temps d'application topique de l'ACO, nous avons utilisé notre simulation MC intégrant la multimodalité (voir chapitre 2). Pour résoudre le problème inverse, nous avons utilisé notre fonction coût qui combine les spectres de RD et d'AF.

## 4.1 Matériels & Méthodes

### 4.1.1 Fantôme hybride

#### Principe

Notre travail est basé sur la mise en œuvre originale d'un fantôme bicouches hybride composé d'un échantillon de peau posé sur un gel d'agarose.

L'échantillon de peau humaine a été prélevé sur un patient à l'aide d'un dermatome Aculan 3Ti (Aesculap) lors d'une chirurgie esthétique de bras internes sous anesthésie générale. L'épaisseur de la peau a ensuite été mesurée sur une lame histologique à l'aide d'un microscope optique conventionnel. Elle est de  $441 \mu\text{m}$  pour l'échantillon présenté dans cette étude.

La couche inférieure a une épaisseur de  $5 \text{ mm}$  et est constituée de  $1,5 \%$  d'agarose fluorescent i.e. enrichi de  $500 \mu\text{M}$  de nanoparticules AGuIX<sup>®</sup> dans l'eau distillée. Les nanoparticules AGuIX<sup>®</sup> Tb@P1 combinant terbium et porphyrine dont les spectres d'absorption et d'émission de fluorescence sont donnés en Fig. 4.1 sont hautement hydrosolubles dans le gel d'agarose. Le rendement quantique de fluorescence est de  $0,11$  vs  $0,05$  pour la porphyrine seule et la nanoparticule de Tb@P1 respectivement [Toussaint, 2016].

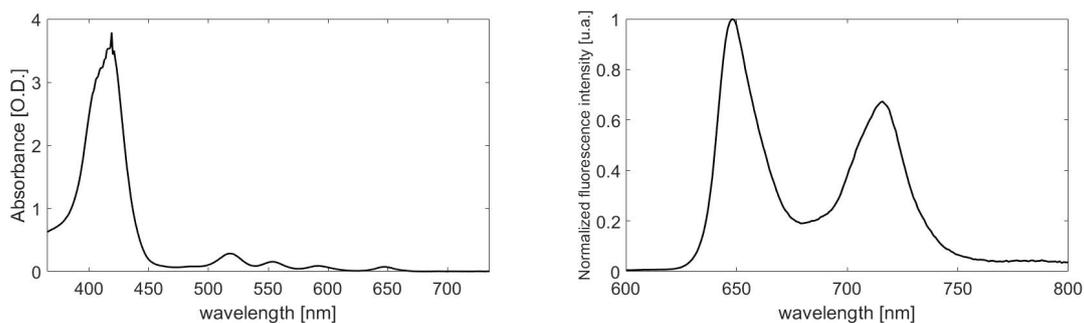


FIGURE 4.1 – Spectres d'absorption et d'émission de fluorescence des NP AGuIX<sup>®</sup> Tb@P1

#### Agent de clarification optique et protocole expérimental

La solution d'ACO contient  $45 \%$  de polyéthylène glycol ou PEG400 (Réf. 88440),  $5 \%$  de polypropylène glycol ou PG (Réf. P4347) et  $50 \%$  de sucrose ( $3 \text{ M}$ ) (Réf. S9378). L'ensemble des produits provient de chez Sigma-Aldrich. Le volume préparé est d'environ  $3 \text{ ml}$ .

Le protocole expérimental consiste à réaliser une série de mesures en RD et AF en fonction du temps d'application de l'ACO sur une zone locale du fantôme hybride. Les différents temps d'acquisition sont indiqués par  $T_0$  (avant application de l'ACO),  $T_0 + 12$ ,  $T_0 + 24$  et  $T_0 + 36$  minutes. Chaque acquisition est réalisée successivement trois fois puis moyennée pour améliorer le rapport signal à bruit. Deux conditions expérimentales sont définies pour réaliser nos mesures :

- Milieu 1 : Gel avec Nanoparticules (NP)
- Milieu 2 : Peau sur Gel avec NP

Les fantômes et l'acquisition des données ont été réalisés par des membres de l'équipe dont Marine Amouroux, ingénieure recherche et Grégoire Khairallah, chirurgien plasticien.

#### 4.1.2 Calcul du rapport d'aire sous la courbe

Pour analyser les spectres de fluorescence, nous avons défini 3 plages de longueurs d'onde d'intérêt ( $[range]$ ) : [450-550] nm pour la fluorescence de la peau, [630-680] nm et [680-730] nm pour le premier pic et le second pic d'émission des NP Tb@P1. Pour chacune de ces gammes de longueurs d'onde, nous avons calculé la surface sous la courbe  $AUC_{[range]}^{D^k}$ . Nous avons comparé l'impact de l'ACO en fonction du temps et des séparations  $D_{1,2,3}$ .

$$Ratio_{[range]} = \frac{[AUC_{[range]}^{D_{1,2,3}}(\lambda_{exc}, T_0 + i)]}{[AUC_{[range]}^{D_{1,2,3}}(\lambda_{exc}, T_0)]} \quad (4.1)$$

avec  $i = \{0, 12, 24, 36\}$  minutes.

Les points calculés sont placés sur un graphique en fonction du temps d'application de l'ACO. On ajuste un polynôme du second degré pour obtenir une courbe de tendance.

#### 4.1.3 Modèle optique de la peau

Pour extraire et analyser les propriétés optiques en fonction du temps d'application topique de l'ACO, nous avons utilisé un modèle numérique incluant la fluorescence. Pour paramétrer notre modèle MC, nous définissons un modèle numérique du fantôme hybride.

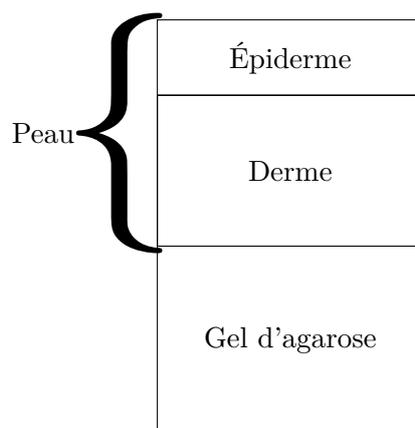


FIGURE 4.2 – Modèle optique du fantôme hybride composé des deux premières couches de la peau, l'épiderme et le derme, avec des épaisseurs de  $67 \mu\text{m}$  et  $384 \mu\text{m}$ , respectivement ; et d'une couche de gel d'agarose avec une épaisseur de  $5 \text{ mm}$ .

Chaque couche est définie par un ensemble de fonctions paramétriques  $\mu_a(\lambda)$  et  $\mu_s(\lambda)$  en  $cm^{-1}$ . L'épiderme contient des kératinocytes et des mélanocytes. La mélanine produite par les mélanocytes est très absorbante dans les longueurs d'onde visibles. Deux principaux types de mélanine : l'eumélanine et la phéomélanine sont utilisés dans notre modèle. La concentration d'eumélanine  $C_{eu}$  et de phéomélanine  $C_{phe}$  varient en fonction du phototype [Jacques, 2013]. Nous avons donc utilisé l'expression suivante pour le coefficient d'absorption de l'épiderme :

$$\begin{aligned} \mu_a^{ep.}(\lambda) = & (1 - C_{H_2O}^*) \times 2.303 \times [C_{eu} \cdot \varepsilon_{eu}(\lambda) + C_{phe} \cdot \varepsilon_{phe}(\lambda)] \\ & + C_{H_2O}^* \times \mu_a^{H_2O}(\lambda) \end{aligned} \quad (4.2)$$

avec  $\varepsilon_{eu}(\lambda)$  et  $\varepsilon_{phe}(\lambda)$  coefficients d'extinction molaire de l'eumélanine et de la phéomélanine respectivement.

Le derme contient de l'hémoglobine. Dans notre modèle, l'absorption de l'hémoglobine est constituée des contributions de l'oxyhémoglobine et de la dés-oxyhémoglobine [Jacques, 2013] telle que :

$$\begin{aligned} \mu_a^{der.}(\lambda) = & (1 - C_{H_2O}^*) \times 2.303 \times B \times [S \cdot C_{HbO_2} \cdot \varepsilon_{HbO_2}(\lambda) \\ & + (1 - S) \cdot C_{Hb} \cdot \varepsilon_{Hb}(\lambda)] + C_{H_2O}^* \times \mu_a^{H_2O}(\lambda) \end{aligned} \quad (4.3)$$

avec  $C_{hemo}$  la concentration d'hémoglobine,  $S$  la fraction volumique d'oxygène,  $\varepsilon_{HbO_2}(\lambda)$  le coefficient d'extinction molaire de l'oxyhémoglobine,  $\varepsilon_{Hb}(\lambda)$  le coefficient d'extinction molaire de la dés-oxyhémoglobine.

Les nanoparticules de Tb@P1 sont donc ajoutées au gel d'agarose. Elles possèdent des propriétés de fluorescence définies par plusieurs paramètres :

- les spectres d'absorption et d'émission,
- le rendement quantique.

Or, les spectres d'absorption et d'émission sont déjà connus et font partis des paramètres d'entrée de la simulation MC. Par conséquent, seuls le rendement quantique  $\eta$  et la concentration sont les paramètres à estimer pour déterminer les paramètres de fluorescence du gel.

Le coefficient de diffusion de chaque couche (épiderme, derme et gel) est défini par la fonction paramétrique ci-dessous [ $cm^{-1}$ ] :

$$\mu_s^i(\lambda) = a_i \times \left( \frac{\lambda}{500} \right)^{-b_i} \quad (4.4)$$

Où  $i$  indique l'épiderme, le derme ou le gel d'agarose.

Par défaut, les couches de peau ont un indice de réfraction fixé à 1,37 et un coefficient d'anisotropie fixé à  $g_{peau} = 0,85$ . L'indice de réfraction du gel d'agarose est fixé à  $n_{gel} = 1,33$  car le gel est composé d'eau distillée. Pour cette étude, nous avons sélectionné 18 longueurs d'onde  $\lambda$  sur la gamme 350 et 750 nm {365 385 395 405 415 420 435 470 475 510 540 560 590 650 680 690 715 735}. Ces longueurs d'onde intègrent les longueurs d'onde d'excitation des spectres d'autofluorescence  $\lambda_{1:5}^{exc} = [365 \ 415] \text{ nm}$ .

#### 4.1.4 Processus d'inversion de modèle

Nous avons développé notre stratégie d'inversion basée sur la prise en compte de la multi-modalité spectrale de nos données mesurées (chapitre 3). Nous utilisons notre simulation MC

développé au chapitre 2. Pour chaque longueur d'onde (18 au total),  $10^7$  photons sont injectés. Un seul appel à notre modèle est nécessaire pour calculer les spectres complets en RD et en AF. La fonction coût appelée pour la résolution de notre problème inverse intègre donc les spectres expérimentaux en RD et en AF.

J'ai également choisi d'estimer dans un premier temps les paramètres optiques des données issues du milieu gel avec NP pour réduire le nombre de paramètres à estimer et se focaliser uniquement sur les propriétés optiques de la peau. Les résultats des paramètres à estimer sont présentés pour le milieu peau sur gel avec NP.

Nous avons estimé 14 paramètres pour le milieu peau sur gel avec NP décomposés de la façon suivante :

- 7 paramètres à estimer pour l'épiderme [ $C_{H_2O}^*$   $C_{eu}$   $C_{phe}$   $\mu_s^{ep.}(a, b; \lambda)$ ] dont deux paramètres liés à la fluorescence.
- 7 paramètres à estimer pour le derme : [ $C_{H_2O}^*$   $B$   $S$   $C_{HbO_2}$   $C_{Hb}$   $\mu_s^{de.}(a, b; \lambda)$ ]

Pour rappel, l'algorithme d'optimisation utilisé est PSO. Les paramètres à estimer sont donc bornés.

La durée d'un processus d'inversion varie entre 4-6 h.

## 4.2 Résultats & Discussion

### 4.2.1 Spectres en RD et en AF après 36 minutes d'application d'un ACO

#### Milieu 2 : Peau sur Gel avec NP

Le spectre de réflectance diffuse de la nanoparticule Tb@P1, après excitation à 415 nm dans la bande de Soret, montre des caractéristiques faisant référence à la fluorescence de la porphyrine avec une diminution de l'intensité du signal dans la bande de Soret et au niveau quatre autres pics mineurs à 520 nm, 555 nm, 590 nm et 650 nm, appelés bandes Q (de QIV à QI respectivement).

Pour les spectres de RD à  $T_0$  (valable à  $T_0 + 36$ ), d'après les figures 4.3 (à gauche),

- $\lambda < 400$  nm, nous observons que l'intensité spectrale de RD diminue pour toutes les distances SD. L'absorption de certains chromophores tels que la mélanine et l'hémoglobine, sont élevés et nous pouvons observer leurs impacts sur le spectre mesuré. Pour  $D_2$  et  $D_3$ , l'intensité des spectres de RD sur cette zone de longueurs d'onde décroît aussi. Nous pouvons supposer que, pour ces distances, les photons ont aussi visité la couche de gel d'agarose. Cette couche de gel contient des nanoparticules de Tb@P1 qui possèdent un pic d'absorption autour de 400 nm.
- $\lambda > 600$  nm, nous voyons apparaître principalement sur les distances SD  $D_2$  et  $D_3$  le spectre d'émission de la nanoparticule de Tb@P1 avec ses deux pics d'émission à 650 nm et à 720 nm. Pour  $D_1$ , la présence de ces pics d'émission de fluorescence est moins visible puisqu'ils sont masqués par les photons n'ayant pas visité la couche de gel d'agarose.

La figure 4.5 s'intéresse aux ratios des aires sous la courbe des spectres de fluorescence pour 3 plages de longueurs d'onde distinctes :

- [450 – 550] nm se rapporte à l'ensemble de la fluorescence liée aux fluorophores présents dans la peau,

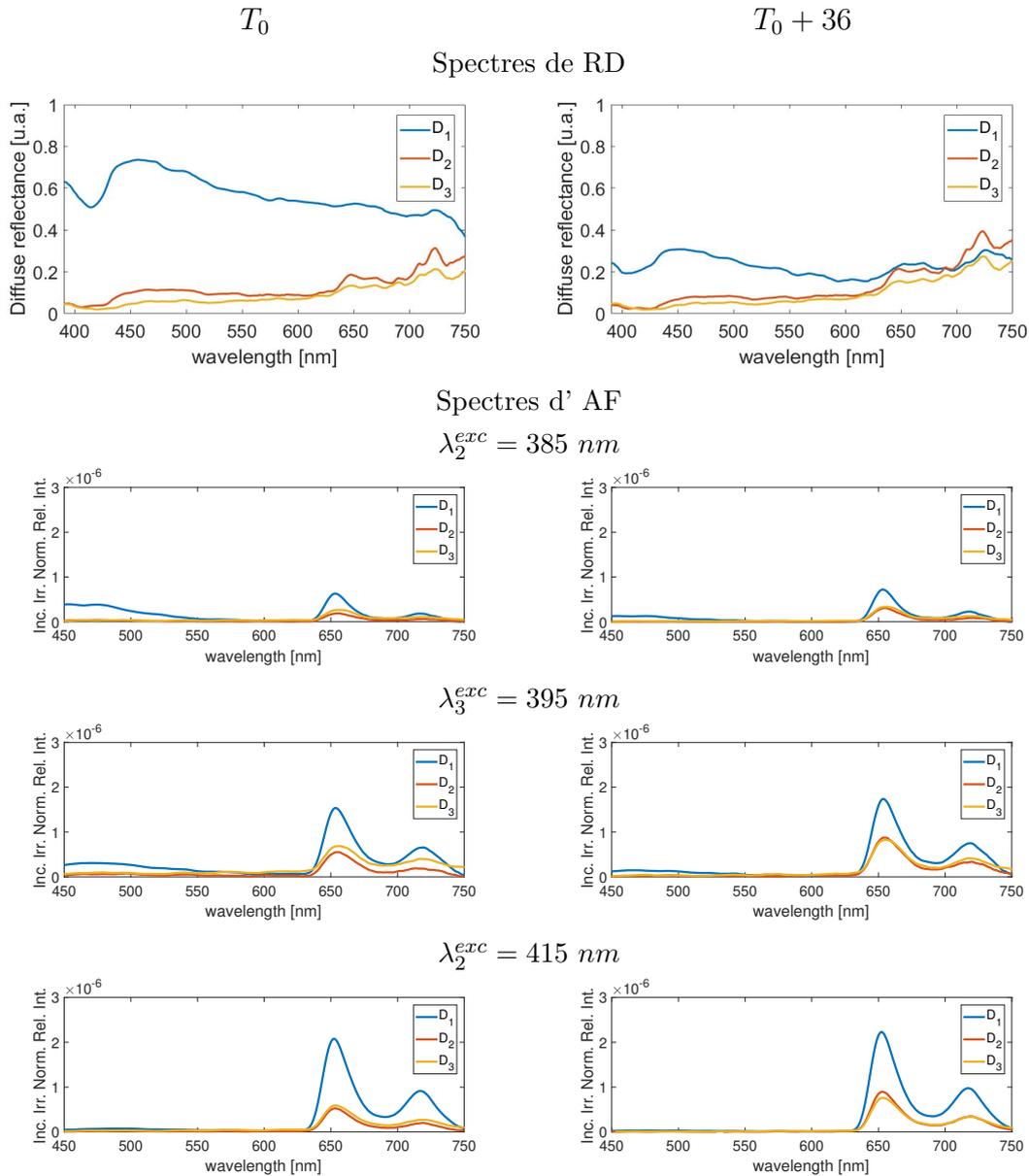


FIGURE 4.3 – Spectres de réflectance diffuse (première ligne) et d'autofluorescence (3 lignes d'après à 3 longueurs d'onde d'excitation différentes) acquis sur le Milieu 2 Peau sur Gel avec NP pour  $T_0$  (ensemble des figures à gauche) et  $T_0 + 36$  (ensemble des figures à droite).

- [630 – 680] nm est la bande du premier pic de fluorescence de la Tb@P1 (autour de 655 nm)
- et [680 – 730] nm est la plage des longueurs d'onde du deuxième pic de fluorescence de la Tb@P1 présente dans la couche de gel.

Les résultats de cette figure nous montrent que pour [450 – 550] nm, la fluorescence de la peau diminue au cours du temps d'application des ACO. Cela s'explique par les modifications des couches superficielles de la peau, en particulier la diffusion [Vargas et al., 1999]. Cette mo-

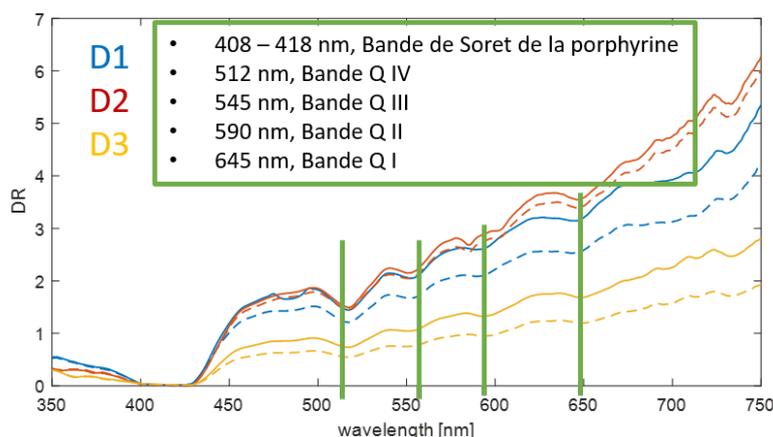


FIGURE 4.4 – Analyse des spectres de réflectance diffuse dans le modèle Gel + NP avec en trait plein  $T_0$  et en tiret  $T_0 + 36$ . Les traits verticaux verts représentent les bandes de Soret.

dification s’observe très fortement au niveau de  $D_1$  qui correspond à la fibre de détection la plus proche de la source lumineuse et donc les photons détectés à cette distance visitent principalement les couches superficielles de la peau. Nous remarquons qu’à  $T_0 + 36$ , les ratios semblent remonter. Nous pensons que l’effet de transparence lié au processus de clarification commence à s’estomper.

L’augmentation des ratios liés aux plages des longueurs d’onde de la Tb@P1 [630 – 680] et [680 – 730] nm est visible pour la distance  $D_2$ . Les photons détectés à cette distance visitent donc des couches plus profondes dont la couche de gel. Cette augmentation des ratios n’est pas visible pour la distance  $D_1$  ce qui nous permet de confirmer les profondeurs visitées pour chaque distance.

La distance  $D_3$  montre des tendances similaires, mais les données mesurées à cette distance semble avoir un bruit plus élevé qui rend difficile l’analyse des spectres.

#### 4.2.2 Cinétique temporelle et propriétés optiques estimées

Pour chaque temps de mesure  $T_0$ ,  $T_0 + 12$ ,  $T_0 + 24$  et  $T_0 + 36$  min, nous avons lancé un processus d’inversion. D’après les fonctions paramétriques de notre modèle numérique de peau composé des couches d’épiderme et de derme, nous estimons 14 paramètres.

Nous avons affiché les résultats des valeurs estimées de  $\mu_a(\lambda)$  et  $\mu_s(\lambda)$  de la peau dans la Fig. 4.6. Nous observons qu’une forte diminution de la diffusion de l’épiderme ( $\mu_s^{ep}(\lambda)$ ) après l’application de l’ACO. La diffusion de l’épiderme est similaire, autour de  $50 \text{ cm}^{-1}$ , pour  $T_0 + 12, +24$  et  $+36$ . Par contre, la variation de l’absorption de l’épiderme est faible.

Pour la couche du derme, nous observons qu’à  $T_0$ , l’accès à l’information est plus difficile puisque la diffusion du derme est quasiment constante et ne possède pas une forme exponentielle décroissante. L’absorption estimée est également faible contrairement à  $T_0 + 12$  et  $T_0 + 36$  où l’absorption estimée est plus importante.

Les spectres de réflectance diffuse ont été reconstruits sur la Fig.4.7. Les difficultés de reconstruction se situent au niveau de la bande de longueurs d’onde [630-730] nm où l’émission de fluorescence de la NP Tb@P1 du gel se manifeste. L’intensité spectrale diminue à  $T_0 + 12$  et  $T_0 + 36$  par rapport à  $T_0$  ce qui explique une forte estimation de l’absorption du derme à ces

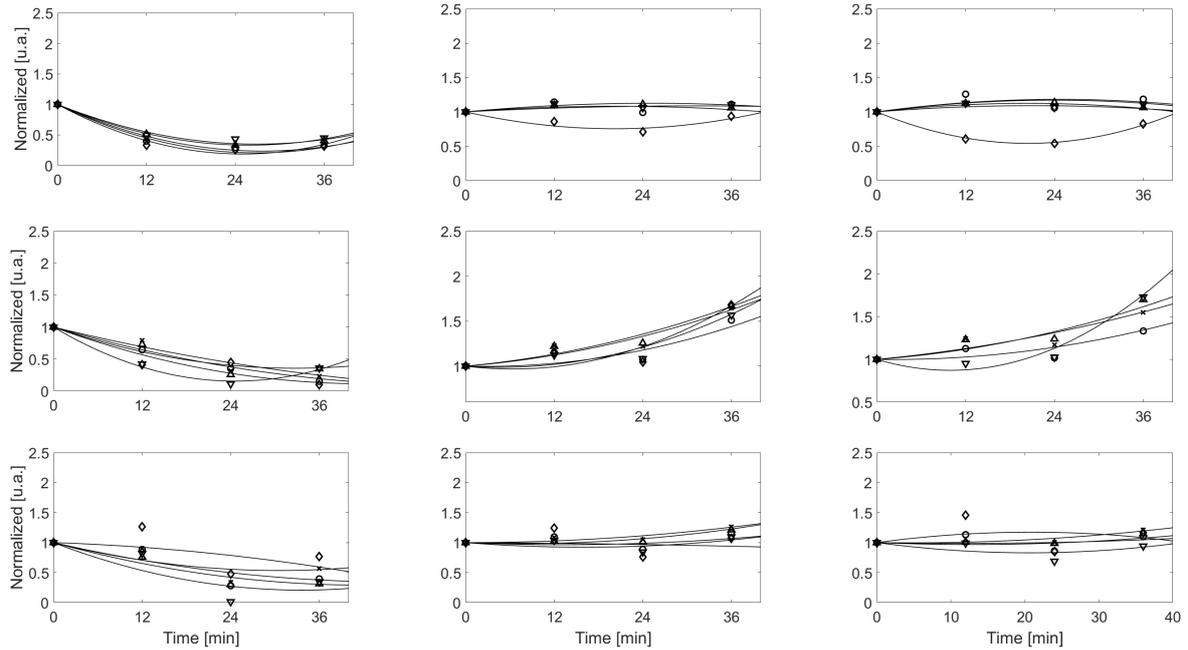


FIGURE 4.5 – Évolution des ratios normalisés de la surface des aires sous courbes des spectres de fluorescence en fonction du temps d'exposition topique à l'ACO pour les 3 distances  $D_1$  (haut),  $D_2$  (milieu) et  $D_3$  (bas) et pour 5 longueurs d'onde d'excitation :  $\diamond \lambda_{exc} = 365$  nm,  $\circ \lambda_{exc} = 385$  nm,  $\nabla \lambda_{exc} = 395$  nm,  $\times \lambda_{exc} = 405$  nm et  $\triangle \lambda_{exc} = 415$  nm. La première, deuxième et troisième colonnes correspondent aux contributions d'AF dans les bandes [450-550] nm, [630 - 680] nm et [680 - 730] nm.

Propriétés optiques estimées de l'épiderme

Propriétés optiques estimées du derme

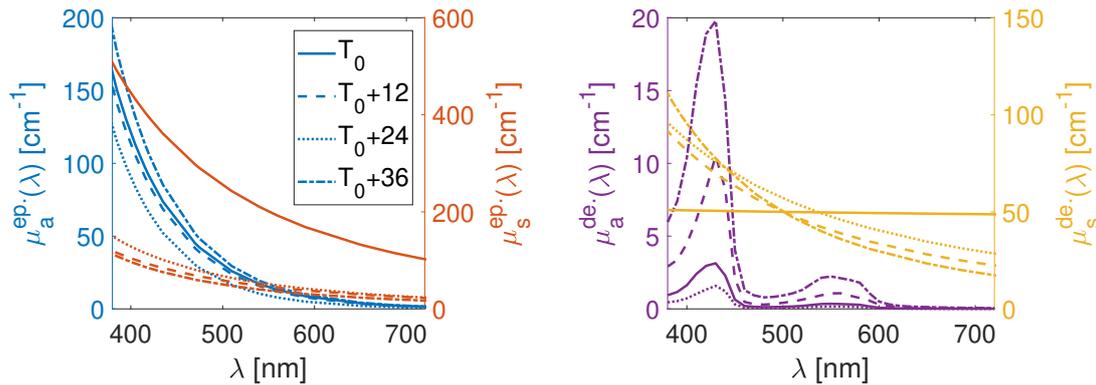


FIGURE 4.6 – Résultats des propriétés optiques  $\mu_a(\lambda)$  et  $\mu_s(\lambda)$  estimées de la peau (épiderme à gauche et derme à droite) en fonction du temps d'application des ACO.

temps de mesure.

Le tableau 4.1 montre que les erreurs relatives sur l'ensemble de nos résultats et sur certaines plages de longueurs d'onde [385 - 590] nm et [650 - 735] nm.

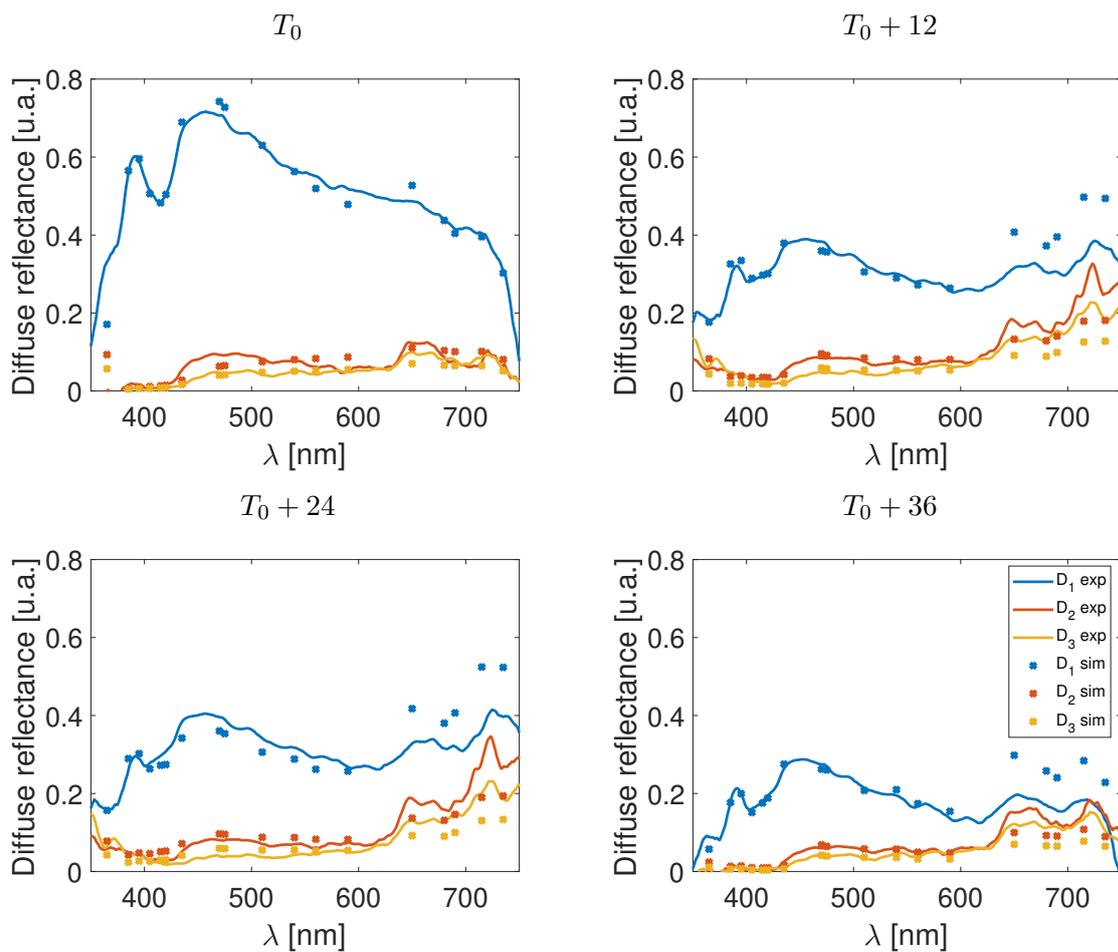


FIGURE 4.7 – Spectres reconstruits de réflectance diffuse, comparaison avec les spectres expérimentaux pour les différents temps d'application topique des ACO.

|            |       | Ens. [%] | [385 - 590] nm [%] | [650 - 735] nm [%] |
|------------|-------|----------|--------------------|--------------------|
| $T_0$      | $D_1$ | 5,3      | 3                  | 3,2                |
|            | $D_2$ | >100     | 33                 | 27                 |
|            | $D_3$ | -13,5    | 24                 | 21                 |
| $T_0 + 12$ | $D_1$ | 12       | 6,4                | 32                 |
|            | $D_2$ | 17       | 14                 | 24                 |
|            | $D_3$ | 26       | 23                 | 34                 |
| $T_0 + 24$ | $D_1$ | 14       | 10                 | 30                 |
|            | $D_2$ | 30       | 31                 | 24                 |
|            | $D_3$ | 39       | 41                 | 31                 |
| $T_0 + 36$ | $D_1$ | 21       | 8,2                | 58                 |
|            | $D_2$ | 45       | 21                 | 32                 |
|            | $D_3$ | -26      | 25                 | 41                 |

Tableau 4.1 – Erreurs relatives entre les spectres reconstruits et les spectres expérimentaux en RD pour l'ensemble des longueurs d'onde (Ens.), [385 - 590] nm et [650 - 735] nm.

Pour [385 - 590] nm, les erreurs relatives sont comprises en 3 et 33 %. Le rapport signal à bruit des données expérimentales est le meilleur pour la distance  $D_1$  car c'est la distance la plus proche de la source, en particulier pour  $T_0$ , l'effet de l'application de l'ACO n'est pas encore actif. Dans l'ensemble, les spectres reconstruits dans cette plage des longueurs suivent les tendances des spectres obtenus expérimentalement. Pour  $D_2$  de  $T_0$  les erreurs relatives sont les plus élevées à cause de la difficulté à estimer la diffusion de la couche du derme (voir Fig.4.6, à droite).

Pour [650 - 735] nm, la fluorescence de Tb@P1 apparaît, très fortement. Des erreurs relatives élevées sont mesurées à cette distance (>50 %). Ces erreurs élevées se traduisent par des spectres reconstruits qui sont détachés des données expérimentales. Cela s'explique par l'injection des propriétés optiques estimées du milieu 1 gel avec NP. Ces propriétés optiques estimées présentent déjà des erreurs relatives et celles-ci se propagent lors de l'estimation des propriétés optiques du milieu 2 peau sur gel avec NP.

Nous pensons qu'une autre source d'erreur est l'estimation des paramètres de fluorescence pour les temps  $T_0 + 12$ ,  $T_0 + 24$  et  $T_0 + 36$  minutes alors que la contribution des fluorophores de la peau à ces temps d'application de l'ACO est très faible (voir les ratios de la Fig.4.5 et les spectres affichés 4.3).

### 4.2.3 Épaisseurs de peau et ACO

Pour mettre en évidence l'effet de transparence de la peau après application d'un ACO, trois épaisseurs différentes de peau ont été sélectionnées : 155  $\mu m$ , 200  $\mu m$  et 441  $\mu m$  (voir les dessins sur la figure 4.8).

La fabrication des fantômes hybrides est similaire à celle exposée dans le paragraphe précédent 4.1.1.

La comparaison des intensités spectrales acquises en RD sur ces trois épaisseurs de peau différentes, sans application d'ACO ( $T_0$ ), montrent que l'intensité du signal mesuré est propor-

tionnelle à l'épaisseur de la peau, c'est notamment visible pour la distance SD  $D_1$ .

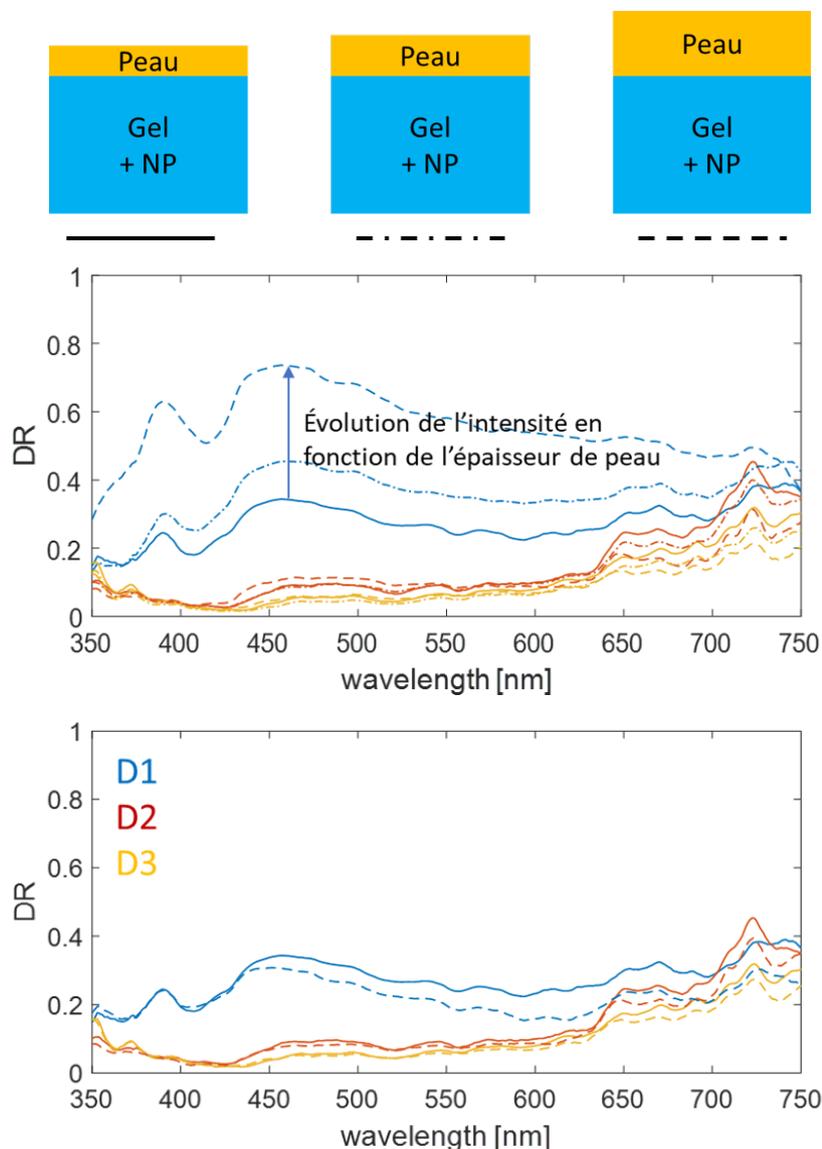


FIGURE 4.8 – Évolution de l'intensité des spectres de réflectance diffuses dans trois épaisseurs de peau différentes avec 155 (trait plein), 200 (---) et 441 (— · —)  $\mu m$ , avant et après application des ACO pour  $T_0$  et  $T_0 + 36$ .

La comparaison entre les épaisseurs de peau 155  $\mu m$  (à  $T_0$ ) et 441  $\mu m$  (à  $T_0 + 36$ ), montre des amplitudes d'intensités spectrales très proches. Cela met en évidence les changements optiques provoqués par l'application topique de ACO après une certaine durée. Dans le cas où l'épaisseur est un paramètre à estimer, cela peut avoir une influence importante dans l'estimation des paramètres optiques et avec le risque de ne pas observer l'effet souhaité.

### **4.3 Conclusion**

Nous avons étudié l'influence d'un ACO à travers un fantôme hybride composé d'un échantillon de peau sur la couche supérieure. Nous nous sommes intéressés aux spectres de réflectance diffuse et d'autofluorescence acquis à l'aide d'une spectroscopie multimodale résolue spatialement pour montrer les variations observées en fonction du temps d'application topique de l'ACO. Les propriétés optiques de la peau ont aussi été estimées pour montrer l'impact de l'application de l'ACO et nous avons mis en évidence la diminution du coefficient de diffusion de la couche supérieure (épiderme). En contrepartie, on observe une augmentation du coefficient d'absorption de la couche inférieure (derme).

Dans le chapitre suivant, nous souhaitons prolonger l'étude portant sur les effets de l'ACO sur la peau, mais cette fois-ci avec un nouveau jeu de données et dans le but d'appliquer des méthodes de séparation de sources. L'objectif est de mieux identifier les fluorophores présents dans la peau en étudiant la cinétique des fluorophores à partir des spectres d'autofluorescence.

## Chapitre 5

# Méthode de séparation de sources appliquée aux spectres d'autofluorescence

*Si nous sommes honnêtes, on est tous un jour ou l'autre moyens en quelque chose – on ne peut pas toujours être au maximum de nos capacités ! Le problème, c'est que l'on nous contraint à l'être en toute chose.*

---

*La Médiocratie. Alain Deneault*

### Sommaire

---

|            |   |            |
|------------|---|------------|
| <b>5.1</b> | <b>Configuration expérimentales et méthode de séparation de sources</b> | <b>114</b> |
| <b>5.2</b> | <b>État de l'art : techniques de séparation de sources . . . . .</b>    | <b>115</b> |
| <b>5.3</b> | <b>Cinétique des fluorophores en utilisant l'ACO . . . . .</b>          | <b>120</b> |
| <b>5.4</b> | <b>Modèle Candecomp Parafac . . . . .</b>                               | <b>128</b> |
| <b>5.5</b> | <b>Conclusion . . . . .</b>   | <b>132</b> |

---

Dans le chapitre précédent, nous nous sommes intéressés à un agent de clarification optique entraînant des modifications du milieu cutané, et produisant une diversité de spectres de fluorescences en fonction du temps d'application. Nous avons suivi l'évolution de l'agent en fonction de l'estimation de paramètres optiques de la peau. Les spectres étaient traités indépendamment du temps. Cette diversité de données temporelles peut être analysée simultanément à l'aide d'une méthode de séparation de sources ne reposant sur aucun modèle physique utilisé précédemment. Dans ce chapitre, nous allons analyser des spectres d'autofluorescence, acquis sur une nouvelle configuration de fantôme bicouches, conjointement *via* une approche de séparation de sources basée sur la méthode de factorisation en matrices non-négatives (NMF) (voir le paragraphe 5.3), après un bref état de l'art sur les différentes techniques de séparation de sources (voir le paragraphe 5.2). Cette approche permet de reconstruire les propriétés spectrales des fluoro-

phores de la peau et d'analyser leur évolution temporelle et en fonction des longueurs d'onde d'excitation<sup>21</sup>. L'intérêt est d'utiliser une méthode non basée sur l'estimation des propriétés optiques et différente de celle utilisée dans les chapitres précédents. Cette méthode présente l'avantage d'être plus rapide, car elle ne requiert pas de simulation MC et les spectres sont exploités conjointement et non individuellement.

L'objectif de cette partie n'est pas de proposer de nouvelles solutions algorithmiques dédiées à la séparation de sources, mais plutôt d'appliquer des méthodes de séparations de sources déjà détaillées dans la littérature, relativement simples puisque cette étude a été réalisée en fin de thèse, et d'en étudier les informations extraites.

## 5.1 Configuration expérimentales et méthode de séparation de sources

### 5.1.1 Spectres d'AF à multiples excitation

La spectroscopie AF à excitations multiples induite par la lumière appliquée sur la peau fournit des informations globales sur la composition et le métabolisme du tissu cutané en sondant les fluorophores intrinsèques contenus dans les cellules (kératine, formes réduites de nucléotides pyridine NAD(P)H, Flavin Adénine Dinucléotide FAD, porphyrines) et dans la matrice extracellulaire (élastine, collagène) [Kollias et al., 2002, Borisova et al., 2014]. En effet, la cancérogenèse de la peau modifie les signaux de fluorescence de telle sorte que la fluorescence du collagène diminue en raison de la dégradation enzymatique et que la fluorescence du NAD(P)H et de la porphyrine augmente en raison des changements métaboliques. On a observé que la fluorescence des tissus cutanés normaux est toujours (i) supérieure à celle des lésions du carcinome basocellulaire et (ii) inférieure à celle des carcinomes squameux [Bratchenko et al., 2015, Artemyev, 2018].

En outre, les contributions de fluorescence épidermique et cutanée sont produites dans des régions spectrales distinctes [Borisova et al., 2008]. Par conséquent, l'utilisation de plusieurs sources de longueur d'onde d'excitation permet de balayer les contributions relatives de divers fluorophores en fonction de leurs spectres d'excitation et d'émission respectifs. Ces derniers sont impliqués dans la formation de la forme des spectres AF globaux collectés par spectroscopie qui dépend également de la profondeur de pénétration des différentes longueurs d'onde d'excitation et des différences d'influence des pigments, notamment de l'hémoglobine [Borisova et al., 2012a]. La forme spectrale des signaux AF globaux de la peau est modifiée en fonction de la concentration des fluorophores, qui est corrélée avec l'activité biochimique liée aux états pathologiques de la peau.

---

21. Rakotomanga P., Soussen C., Khairallah G., Amouroux M., Zaytsev S., Genina E., Chen H., Delconte A., Daul C., Tuchin V. and Blondel W. (2019) "Source separation approach for the analysis of spatially resolved multiply excited autofluorescence spectra during optical clearing of ex vivo skin." *Biomedical Optics Express*, 10(7) :364338

### 5.1.2 ACO et les effets sur les spectres de fluorescence

La sensibilité de cette approche peut être améliorée par l'application sur la peau d'agents de clarification optique (ACO) qui augmentent la transparence des tissus en diminuant la diffusion et l'absorption des photons, donnant ainsi accès à des informations plus précises en profondeur [Sdobnov et al., 2018, Guo et al., 2016]. La formulation et la validation de l'ACO à des fins cliniques sont d'un intérêt primordial en raison de leurs propriétés hyperosmotiques [Sdobnov et al., 2018]. L'ACO peut permettre de détecter les tumeurs profondes de la peau en utilisant un marqueur fluorescent exogène [Kozina et al., 2012, Vargas et al., 1999]. Seuls quelques travaux ont étudié les changements dans les spectres AF de la peau liés à l'application de l'ACO pour des longueurs d'onde d'excitation multiples et des temps d'application. En effet, les auteurs de [Migacheva et al., 2010] ont montré que pour une seule longueur d'onde d'excitation, les spectres d'intensité AF diminuent à mesure que le temps de trempage de la peau dans l'ACO augmente.

Les spectres d'AF observés sont modélisés comme un mélange de signaux sources. Ces signaux sources représentent les spectres d'émission des fluorophores. Les mélanges sont supposés linéaires.

## 5.2 État de l'art : techniques de séparation de sources

La séparation de sources en aveugle consiste à retrouver les sources à l'origine des différentes observations réalisées vues comme des mélanges de signaux sources. Dans notre problème, nous supposons que les sources, dont le nombre est fixé arbitrairement, sont positives car elles correspondent à des spectres d'intensité. Les techniques de séparation des sources telles que la factorisation matricielle non négative (NMF) visent à décomposer un ensemble de signaux non négatifs en caractéristiques non négatives distinctes (appelées sources) [Lee and Seung, 1999] et sont donc bien adaptées au démélange de signaux spectroscopiques [Montcuquet et al., 2011]. La NMF est largement utilisée dans le traitement d'images par microscopie à fluorescence pour éliminer l'autofluorescence tissulaire (fluorescence intrinsèque) et pour démélanger spectralement différents colorants fluorescents extrinsèques dans des échantillons portant plusieurs marques [Pengo et al., 2013].

### 5.2.1 Modèle de mélanges et factorisation en matrices non négatives

Le spectre de données expérimentales est écrit comme une combinaison linéaire des sources  $s_m(\lambda)$  :

$$x_l(\lambda) = \sum_{m=1}^{N_S} a_{lm} s_m(\lambda). \quad (5.1)$$

avec  $N_S$  le nombre de sources.

La séparation de sources peut être mathématiquement formulée comme un problème de

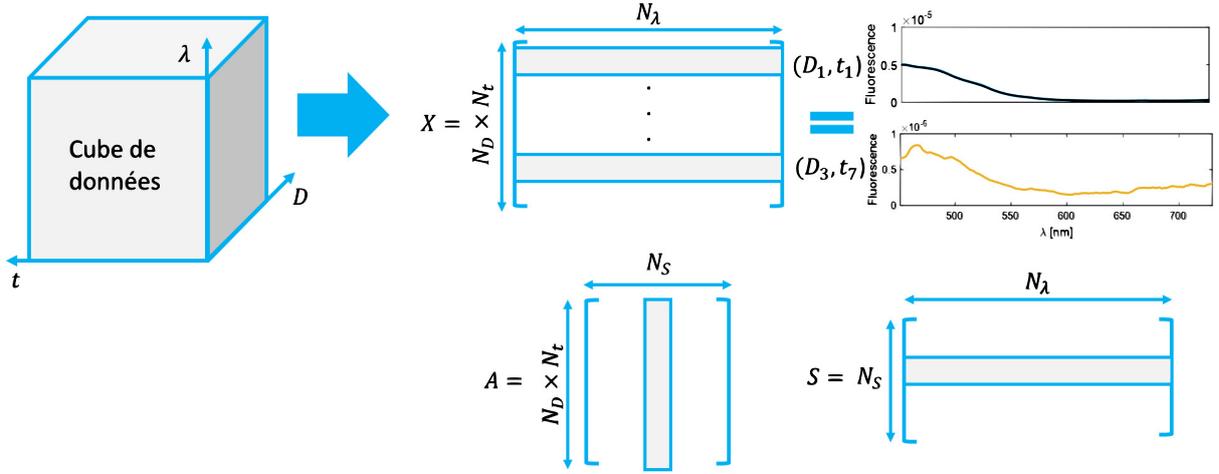


FIGURE 5.1 – Organisation des spectres avec la matrice des données  $X$  en 2D, la matrice des contributions  $A$  et la matrice des sources  $S$ , valable pour  $N_{exc} = 1$ .

factorisation matricielle défini comme [Lee and Seung, 1999] :

$$\mathbf{X} \simeq \mathbf{AS} \therefore \begin{pmatrix} x_1(\lambda) \\ \vdots \\ x_l(\lambda) \\ \vdots \\ x_{N_{Sp}}(\lambda) \end{pmatrix} \simeq \begin{pmatrix} a_{1,1} & \cdots & a_{1,m} & \cdots & a_{1,N_S} \\ \vdots & & \vdots & & \vdots \\ a_{l,1} & \cdots & a_{l,m} & \cdots & a_{l,N_S} \\ \vdots & & \vdots & & \vdots \\ a_{N_{Sp},1} & \cdots & a_{N_{Sp},m} & \cdots & a_{N_{Sp},N_S} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} s_1(\lambda) \\ \vdots \\ s_m(\lambda) \\ \vdots \\ s_{N_S}(\lambda) \end{pmatrix} \quad (5.2)$$

où la matrice  $\mathbf{X}$  rassemble les données expérimentales et les matrices  $\mathbf{A}$  et  $\mathbf{S}$  sont toutes deux inconnues. Dans la factorisation matricielle non négative (NMF) [Montcuquet et al., 2010, Neher et al., 2009],  $\mathbf{A}$  et  $\mathbf{S}$  sont non négatives (c'est-à-dire ne contenant que des valeurs positives). Il s'agit d'une hypothèse naturelle de spectroscopie optique où les signaux de la source s'identifient aux spectres d'émission de fluorophore, et les éléments de  $\mathbf{A}$  sont les poids des sources dans les spectres observés. Plus précisément,

- $\mathbf{X} \in \mathbb{R}_+^{N_{Sp} \times N_\lambda}$  est la matrice d'observation rassemblant l'ensemble des données acquises, *i.e.*, les spectres de fluorescence  $x(\lambda; D_i, \lambda_j^{exc}, t_k)$ . Chaque ligne de  $\mathbf{X}$  est un vecteur résolu en longueur d'onde  $x(\lambda)$  avec  $\lambda = [451 : 1 : 730] \text{ nm}$ , donc le nombre total de colonnes de  $\mathbf{X}$  est  $N_\lambda = 280$ . Le nombre de lignes dans  $\mathbf{X}$  est égal au nombre total de spectres acquis  $N_{Sp} = N_D \times N_{exc} \times N_t = 160$ , correspondant à toutes les mesures effectuées à quatre distances SD ( $i \in \{1, \dots, N_D = 4\}$ ), cinq longueurs d'onde d'excitation de fluorescence ( $j \in \{1, \dots, N_{exc} = 5\}$ ) et huit mesures de temps ( $k \in \{1, \dots, N_t = 8\}$ ),
- $\mathbf{S} \in \mathbb{R}_+^{N_S \times N_\lambda}$  est la matrice source rassemblant les différents signaux source, *i.e.*, les vecteurs  $s_m(\lambda)$  du spectre d'émission de fluorescence estimé rangés ligne par ligne. Le nombre maximum de sources  $N_S = 3$  et  $N_S = 4$  a été choisi après plusieurs évaluations (voir le paragraphe 5.3.2 pour les détails),
- $\mathbf{A} \in \mathbb{R}_+^{N_{Sp} \times N_S}$  est la matrice de mélange regroupant les abondances, c'est-à-dire les coefficients de poids  $a_{l,m}$  avec  $m$  allant de 1 à  $N_S$  sources spectrales, avec  $a_{l,\cdot}$  se référant

à la  $l^{\text{ième}}$  observation (la  $l^{\text{ième}}$  ligne de  $\mathbf{X}$ ) correspond à un mélange de signaux sources  $s_1(\lambda), \dots, s_{N_S}(\lambda)$ .

Chaque spectre  $x(\lambda; D_i, \lambda_j^{\text{exc}}, t_k)$  correspond à un vecteur de ligne  $x_l(\lambda)$  of  $\mathbf{X}$ , dont l'indice  $l \in \{1, \dots, N_D \times N_{\text{exc}} \times N_t\}$  correspond à la valeur spécifique de  $(i, j, k)$  (on définit la numérotation suivante :  $l = i + N_D \times (j - 1) + N_D \times (j - 1) + N_D \times N_{\text{exc}} \times (k - 1)$ ). L'expression (5.2) est la réécriture matricielle de l'équation (5.1) en considérant tous les mélanges  $x_l$  avec  $l = 1 \dots N_{Sp}$ .

### 5.2.2 Fonctions coûts

Pour résoudre le problème (5.2), il est nécessaire de définir une fonction coût. Les fonctions coûts permettent de définir une mesure d'écart entre  $\mathbf{X}$  et  $\mathbf{AS}$ .

$$\mathcal{D}(\mathbf{X} \parallel \mathbf{AS}) = \sum_{lm} d(x_{lm} \parallel (\mathbf{AS})_{lm}) \quad (5.3)$$

Nous développons dans les sous-paragraphes suivants les fonctions coûts les plus classiques.

#### Distance euclidienne

La distance euclidienne correspond à la norme de Frobenius au carré. C'est donc la distance quadratique entre  $\mathbf{X}$  et  $\mathbf{AS}$  [Lee and Seung, 2001].

$$\|\mathbf{X} - \mathbf{AS}\|^2 = \sum_{lm} (x_{lm} - (\mathbf{AS})_{lm})^2 \quad (5.4)$$

La valeur minimale de la fonction coût est obtenue pour  $\mathbf{X} = \mathbf{AS}$ . La minimisation de (5.4) correspond à l'estimation de  $\mathbf{A}$  et  $\mathbf{S}$  au sens du maximum de vraisemblance en supposant que les données possèdent un bruit gaussien.

#### Divergence Kullback-Leibler

La divergence de Kullback-Leibler est exprimée ci-dessous :

$$\mathcal{D}(\mathbf{X} \parallel \mathbf{AS}) = \sum_{lm} \left( x_{lm} \log \frac{x_{lm}}{(\mathbf{AS})_{lm}} - x_{lm} + (\mathbf{AS})_{lm} \right) \quad (5.5)$$

La minimisation de (5.5) correspond à l'estimation de  $\mathbf{A}$  et  $\mathbf{S}$  au sens du maximum de vraisemblance en supposant que les données possèdent un bruit de Poisson. Le bruit de Poisson est utilisée lorsque les données sont positives dans le cadre d'un processus de comptage de photons.

Pour notre étude, nous avons simplement choisi la distance euclidienne basée sur la norme de Froebenius.

#### Fonction coût choisie

L'idée sous-jacente de la séparation aveugle des sources est qu'aucun *a priori* fort n'est défini sur les matrices  $\mathbf{A}$  et  $\mathbf{S}$ . En règle générale, aucune hypothèse n'est faite sur l'emplacement des pics de longueur d'onde dans les signaux sources. La seule exigence (faible) est la non-négativité

des matrices  $\mathbf{A}$  et  $\mathbf{S}$ . Par conséquent, le problème de factorisation de la matrice (5.2) est résolu en minimisant la fonction coût suivante correspondant à l'erreur quadratique totale :

$$(\hat{\mathbf{A}}, \hat{\mathbf{S}}) = \arg \min_{\substack{\mathbf{A} \geq \mathbf{0} \\ \mathbf{S} \geq \mathbf{0}}} \left\{ f(\mathbf{A}, \mathbf{S}) = \|\mathbf{X} - \mathbf{A}\mathbf{S}\|_F^2 = \sum_{l=1}^{N_{Sp}} \left\| x_l(\boldsymbol{\lambda}) - \sum_{m=1}^{N_S} a_{l,m} s_m(\boldsymbol{\lambda}) \right\|_2^2 \right\} \quad (5.6)$$

où  $\|\cdot\|_F$  et  $(\hat{\mathbf{A}}, \hat{\mathbf{S}})$  représentent respectivement la norme de Frobenius d'une matrice et les matrices estimées résultant de la minimisation de la fonction de coût  $f(\mathbf{A}, \mathbf{S})$ . Dans (5.6), la norme  $\ell_2$  est liée à la somme des carrés dans le domaine  $\lambda$ .

### 5.2.3 Gradient projeté

Une minimisation alternée avec une projection sur les axes positifs  $\max(x, 0)$  est réalisée quel que soit  $\mathbf{X}$ . Cela implique que la contrainte de positivité n'est pas présente lors de l'estimation des fonctions coûts  $\mathbf{A}$  et  $\mathbf{S}$ .

Le lecteur est invité à consulter [Comon and Jutten, 2010, Zhou et al., 2014] pour plus de détails sur les algorithmes Alternating Least Squares (ALS) et d'autres discussions sur le choix de solutions approximatives non négatives pour les moindres carrés. Le sous-paragraphe suivant développe l'algorithme ALS.

### 5.2.4 Algorithme ALS

Le problème de la NMF est connu pour être difficile parce que la fonction de coût  $f(\mathbf{A}, \mathbf{S})$  en (5.6) est non convexe par rapport aux matrices  $(\mathbf{A}, \mathbf{S})$  conjointement, donc la solution peut ne pas être unique (habituellement il existe plusieurs minimiseurs locaux). Cependant, la fonction  $\mathbf{A} \mapsto f(\mathbf{A}, \mathbf{S})$  est quadratique, donc convexe pour  $\mathbf{S}$  fixé.

De même,  $\mathbf{S} \mapsto f(\mathbf{A}, \mathbf{S})$  est une fonction quadratique. Une heuristique naturelle pour minimiser (5.6) consiste donc à alterner entre la minimisation de  $f$  par rapport à  $\mathbf{A}$  (pour  $\mathbf{S}$  fixe) et par rapport à  $\mathbf{S}$  (pour  $\mathbf{A}$  fixe). Cette stratégie est connue sous le nom d'*Alternating Least Squares* (ALS). Cet algorithme est indiqué dans Algorithme 1. Il converge vers un minimum local  $(\hat{\mathbf{A}}, \hat{\mathbf{S}})$  d'où l'importance des conditions initiales.

### Implémentation de la séparation de sources

En tant qu'algorithme d'optimisation locale, l'algorithme ALS produit des résultats qui dépendent fortement de l'initialisation des matrices  $\mathbf{A}$  et  $\mathbf{S}$ . Ces dernières matrices sont habituellement tirées au hasard. Dans le présent travail, les éléments de  $\mathbf{A}^{(0)}$  ont été tirés selon la distribution uniforme  $U([0, 1])$ . Les sources initiales en  $\mathbf{S}^{(0)}$  ont été initialisées comme signaux gaussiens avec 25  $nm$  largeur à mi-hauteur et avec une position centrale (longueur d'onde maximale) uniformément répartie entre  $[451 - 730]$   $nm$ . Ce dernier intervalle couvre à la fois les pics attendus du spectre d'émission d'autofluorescence et du spectre d'émission de fluorescence du Ce6 (environ 670  $nm$ , voir Fig. 5.3 à droite). Comme ALS est un algorithme de descente, nous adoptons un critère d'arrêt basé sur la diminution de l'erreur totale d'approximation : ALS s'arrête lorsque la diminution relative est inférieure à  $\varepsilon_{stop} = 1$  %.

$$\varepsilon = \frac{f(\mathbf{A}^{(iter-1)}, \mathbf{S}^{(iter-1)}) - f(\mathbf{A}^{(iter)}, \mathbf{S}^{(iter)})}{f(\mathbf{A}^{(iter-1)}, \mathbf{S}^{(iter-1)})} \quad (5.7)$$

---

**Algorithme 1** Algorithme Alternating Least Squares
 

---

- 1: Entrée :  $\mathbf{X}$  matrice des mélanges,  $\varepsilon_{stop}$  critère d'arrêt
  - 2: Sortie :  $\hat{\mathbf{A}}$  matrice des abondances,  $\hat{\mathbf{S}}$  matrice des sources
  - 3:  $\mathbf{A}^{(0)} = \text{random}(N_{Sp}, N_S)$
  - 4:  $\mathbf{S}^{(0)} = \text{random}(N_S, N_\lambda)$
  - 5:  $iter = 1$
  - 6: **repeat**
  - 7:   Résoudre :  $\mathbf{A}^{(iter)} \leftarrow \arg \min_{\mathbf{A} \geq 0} \|\mathbf{X} - \mathbf{A}\mathbf{S}^{(iter-1)}\|_F^2$
  - 8:   Résoudre :  $\mathbf{S}^{(iter)} \leftarrow \arg \min_{\mathbf{S} \geq 0} \|\mathbf{X} - \mathbf{A}^{(iter)}\mathbf{S}\|_F^2$
  - 9:   Calculer :  $\varepsilon = (f(\mathbf{A}^{(iter-1)}, \mathbf{S}^{(iter-1)}) - f(\mathbf{A}^{(iter)}, \mathbf{S}^{(iter)})) / f(\mathbf{A}^{(iter-1)}, \mathbf{S}^{(iter-1)})$
  - 10:    $iter \leftarrow iter + 1$
  - 11: **until**  $\varepsilon < \varepsilon_{stop}$
  - 12:  $\hat{\mathbf{A}} \leftarrow \mathbf{A}^{(iter)}, \hat{\mathbf{S}} \leftarrow \mathbf{S}^{(iter)}$
- 

où  $iter$  représente le nombre d'itérations d'ALS.

Comme nous l'avons mentionné précédemment, l'algorithme ALS est sensible à la solution initiale. Par conséquent, nous choisissons d'effectuer des appels répétés à l'algorithme ALS avec l'option stratégie d'initialisation aléatoire décrite ci-dessus pour 100 essais, c'est-à-dire avec 100 tirages de matrices initiales  $\mathbf{A}^{(0)}$  et  $\mathbf{S}^{(0)}$ . Cela donne  $(\hat{\mathbf{A}}^{(trial)}, \hat{\mathbf{S}}^{(trial)})$  pour  $trial = 1, \dots, 100$ . Les résultats donnant la valeur minimale de  $f(\hat{\mathbf{A}}^{(trial)}, \hat{\mathbf{S}}^{(trial)})$  sont finalement sélectionnés comme estimations de la matrice source et de l'abondance.

### 5.2.5 Algorithme de mise-à-jour multiplicative

La résolution de chaque sous-problème quadratique est généralement effectuée d'une manière sous-optimale parce que les solveurs de moindres carrés non négatifs exacts sont numériquement coûteux, surtout pour les problèmes à grande échelle [Zhou et al., 2014]. De plus, le problème de NMF sous contrainte de positivité ne possède pas une solution explicite [Nocedal and Wright, 1999]. Par conséquent, les solutions des lignes 7 et 8 de l'algorithme 1 sont calculées approximativement. Nous utilisons la méthode classique de mise à jour multiplicative de Lee et Seung [Lee and Seung, 1999] dont la structure est assez simple à implémenter. D'autres algorithmes plus efficaces sont décrites dans la thèse de Rapin mais elles sont plus coûteuses en temps de calcul [Rapin, 2014]. La mise à jour de la matrice  $\mathbf{A}$  se lit :

$$\mathbf{A}^{(iter)} = \mathbf{A}^{(iter-1)} \odot \left( \mathbf{X}\mathbf{S}^{(iter-1)T} \right) \oslash \left( \mathbf{A}^{(iter-1)}\mathbf{S}^{(iter-1)}\mathbf{S}^{(iter-1)T} \right) \quad (5.8)$$

où  $\odot$  et  $\oslash$  font respectivement référence à la multiplication par élément et à la division des matrices. De même, la mise à jour de  $\mathbf{S}$  se lit :

$$\mathbf{S}^{(iter)} = \mathbf{S}^{(iter-1)} \odot \left( \mathbf{A}^{(iter)T}\mathbf{X} \right) \oslash \left( \mathbf{A}^{(iter)T}\mathbf{A}^{(iter)}\mathbf{S}^{(iter-1)} \right) \quad (5.9)$$

Le théorème suivant : La distance Euclidienne n'augmente pas lors des mises à jours de  $\mathbf{A}$  (5.8) et de  $\mathbf{S}$  (5.9) doit être vérifié lors de la mise-à-jour multiplicative Lee Seung [Lee and Seung, 1999] (2001).

D'après Lee - Seung, pour trouver le terme multiplicatif, il faut partir du gradient de descente qui possède un terme additif  $\eta$ .

$$s_{ml} = s_{ml} + \eta_m \times \left[ \left( A^T x_m \right)_l - \left( [A^T A] s_m \right)_l \right] \quad (5.10)$$

On suppose que  $\eta_m = s_{ml} / \left( [A^T A] s_m \right)_l$  ce qui permet de retrouver le terme de la mise-à-jour multiplicative dans l'équation (5.9).

| Algorithme de mise à jour multiplicative   |
|--|
| $\mathbf{S}^{(iter)} = \mathbf{S}^{(iter-1)} \odot \left( \mathbf{A}^{(iter)T} \mathbf{X} \right) \oslash \left( \mathbf{A}^{(iter)T} \mathbf{A}^{(iter)} \mathbf{S}^{(iter-1)} \right)$       |
| $\mathbf{A}^{(iter)} = \mathbf{A}^{(iter-1)} \odot \left( \mathbf{X} \mathbf{S}^{(iter-1)T} \right) \oslash \left( \mathbf{A}^{(iter-1)} \mathbf{S}^{(iter-1)} \mathbf{S}^{(iter-1)T} \right)$ |

Tableau 5.1 – Algorithme de mise-à-jour multiplicative

Dans le paragraphe suivant, nous appliquons la NMF à nos données spectroscopiques dans le but d'obtenir des informations sur les contributions de certains fluorophores présents dans la peau.

### 5.3 Cinétique des fluorophores en utilisant l'ACO

En raison des bandes de longueurs d'onde d'excitation et d'émission relativement larges des différents fluorophores naturellement présents dans les tissus biologiques, les spectres AF sont le résultat de différentes contributions de plusieurs spectres uniques émis par des molécules fluorescentes respectives présentes dans le milieu. Par conséquent, le fait démélanger les contributions individuelles des fluorophores provenant d'un ensemble de spectres AF est une idée naturelle, surtout lorsqu'on cherche à comprendre comment leur contribution relative évolue tout au long d'un processus de CO. Les techniques de séparation des sources telles que la NMF introduite dans le paragraphe 5.2 visent à décomposer un ensemble de signaux non négatifs en caractéristiques non négatives distinctes et sont donc bien adaptées au démélange de signaux spectroscopiques [Montcuquet et al., 2011]. La NMF est largement utilisée en traitement d'images hyperspectrales par microscopie à fluorescence pour éliminer l'auto fluorescence tissulaire (fluorescence intrinsèque) et pour démélanger spectralement différents colorants fluorescents extrinsèques dans des échantillons portant plusieurs marqueurs [Pengo et al., 2013].

Nous nous intéressons ici à l'étude du comportement dans le temps des fluorophores intrinsèques de la peau au cours du processus CO basé sur l'application topique. Une approche par séparation de source basée sur la NMF du sous-paragraphe 5.2.4 a été mise en œuvre pour :

- démélanger les contributions de fluorophores intrinsèques des tissus cutanés à partir de spectres AF à excitation multiple SR acquis sur un modèle hybride à deux couches de peau *ex vivo* reposant sur un gel fluorescent
- analyser l'évolution dans le temps du mélange de ce produit au cours de la phase CO, sur une bande de peau humaine en appliquant topique un ACO au saccharose.

Ainsi, ce dernier démélange spectral exploite la multidimensionnalité des données acquises qui consistent en spectres résolus en longueurs d'onde d'excitation, en distances SD et dans le temps.

### 5.3.1 Données expérimentales

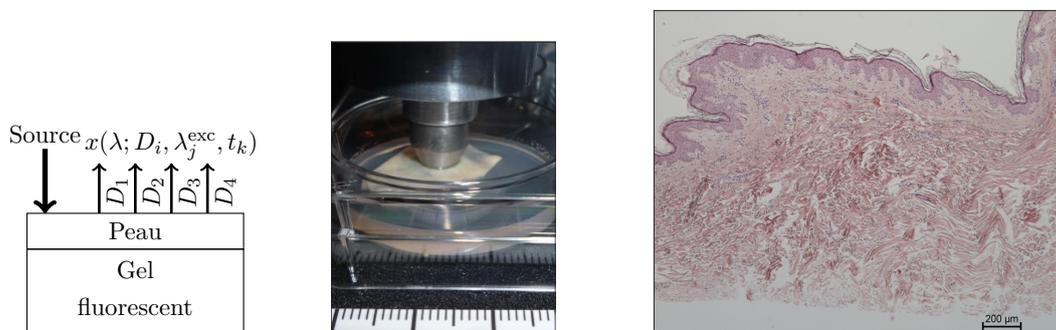


FIGURE 5.2 – Représentation schématique (à gauche) et image (au centre) de la configuration expérimentale comprenant le modèle hybride à deux couches constitué d’une bande de peau *ex vivo* reposant sur un substrat de gel fluorescent et la sonde multifibre optique en contact avec l’épiderme. Les spectres de fluorescence  $x(\lambda; D_i, \lambda_j^{\text{exc}}, t_k)$  sont collectés en fonction de la SDS  $D_i$  ( $i \in \{1, \dots, N_D = 4\}$ ), des 5 longueurs d’onde d’excitation  $\lambda_j^{\text{exc}}$  ( $j \in \{1, \dots, N_{\text{exc}} = 5\}$ ) et 8 temps de points de mesures  $t_k$  ( $k \in \{1, \dots, N_t = 8\}$ ). Photo de droite : L’hématoxyline et l’éosine ont coloré la lame histologique de la bandelette cutanée testée (barre d’échelle = 200  $\mu\text{m}$ ).

#### Modèle expérimental et protocole

Les mesures ont été effectuées sur un modèle expérimental hybride à deux couches constitué d’une bande de peau *ex vivo* ( $e_{\text{skin}}=1143 \mu\text{m}$  épaisseur moyenne) prélevée sur des déchets de peau humaine placés sur un substrat de gel d’agarose fluorescent (1 % poids/vol.) ( $e_{\text{gel}}=5 \text{ mm}$  épaisseur). La bandelette cutanée (voir la coupe histologique d’Hématoxyline et d’Éosine colorés H&E sur la Fig. 5.2) a été obtenue à partir des déchets de peau abdominale d’une femme à la peau claire (phototype 2) de 38 ans (autorisation protocole #17-400, International Review Board #00003888). Les épaisseurs de l’épiderme et du derme de l’échantillon de peau, respectivement  $91 \pm 27 \mu\text{m}$  et  $1052 \pm 195 \mu\text{m}$ , sont des valeurs moyennes déterminées à partir de 18 points de mesure répartis de manière égale sur une lame histologique colorée H&E (échelle = 200  $\mu\text{m}$ ). Les propriétés optiques d’absorption, de diffusion et de fluorescence du gel ont été fixées à l’aide de 0,02 % (vol./vol.) d’encre de Chine, 5 % (vol./vol.) d’Intralipides-20 % et 500  $\mu\text{M}$  Chlorin e6 (Ce6), respectivement.

Un tel modèle peau-gel a été utilisé afin d’étudier les contributions relatives des fluorophores intrinsèques et extrinsèques, situés respectivement dans les couches de peau et de gel, lors du nettoyage optique de la bande de peau. En ce qui concerne les pics de longueur d’onde d’excitation disponibles sur notre appareil, des contributions d’auto fluorescence cutanée sont attendues :

- du collagène et de l’élastine, des protéines fibreuses extracellulaires situées dans le derme,

présentant des spectres d'émission de fluorescence dans la gamme spectrale [420–510] nm lorsqu'on excite dans la gamme spectrale [350 – 420] nm,

- des coenzymes NAD(P)H présentant une forte émission de fluorescence entre 400 et 500 nm provenant de l'épiderme lorsqu'elles sont excitées entre 330 et 380 nm,
- des coenzymes FAD à absorption maximale à  $\lambda_4^{\text{exc}}$  et  $\lambda_5^{\text{exc}}$  et présentant un pic de spectre d'émission à 525 nm [Blacker et al., 2014, Kollias et al., 2002, Masters et al., 1998, Croce and Bottiroli, 2014, Borisova et al., 2012a].

Les autres principaux composés fluorescents pour la peau tels que le tryptophane (présent dans l'épiderme et le derme, pics d'excitation/émission 295/345 nm, [Brancaleon et al., 1999]) et la kératine (dans l'épiderme, avec des pics d'excitation/émission 277/382 nm) ne sont pas considérés dans cette étude car leurs bandes d'excitation sont en dehors des plages de longueurs d'onde de notre source.

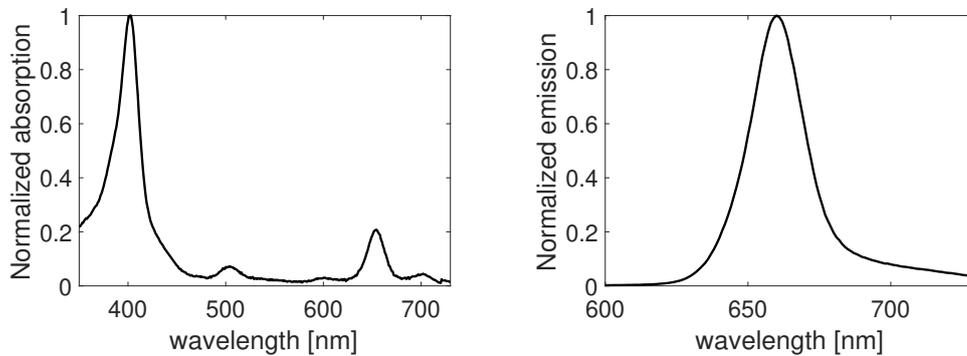


FIGURE 5.3 – Les spectres d'absorption (à gauche) et d'émission de fluorescence (à droite) de la Chlorine e6 sont normalisés à leurs valeurs maximales respectives. Les spectres d'émission ont été obtenus avec une longueur d'onde d'excitation de 403 nm (correspondant à la longueur d'onde d'absorption maximale).

L'ACO est une solution obtenue en mélangeant 45 % de PolyEthylène Glycol 400 (PEG 400, Sigma-Aldrich réf. 88440) avec 5 % de Polypropylène Glycol (PG, réf. P4347) et 50 % de

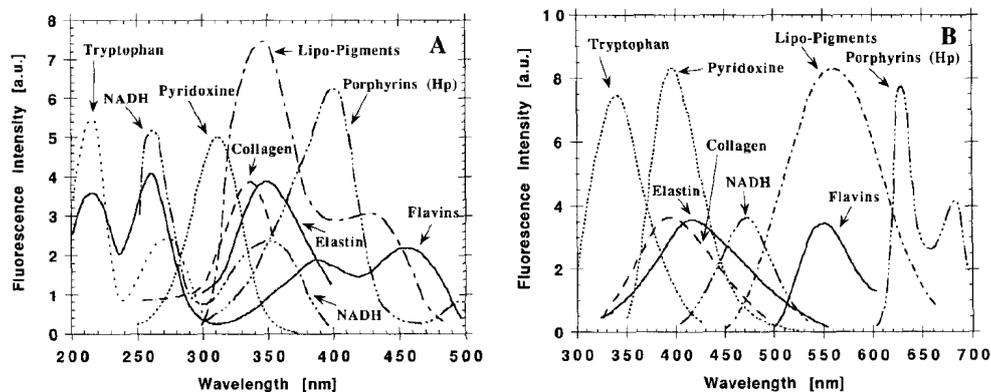


FIGURE 5.4 – Les spectres d'absorption (à gauche) et d'émission de fluorescence (à droite) des principaux fluorophores présents dans la peau (Figures extraites de [Wagnieres et al., 1998])

saccharose (réf. S9378). La solution a été appliquée sur la bande de peau elle-même posée sur le substrat de gel.

Le protocole de mesure consistait à recueillir les spectres de fluorescence (fluorescence AF peau et Ce6 gel), aux 4 SD et à chacune des 5 longueurs d'onde d'excitation<sup>22</sup>, selon le temps d'application de l'ACO à la surface de la peau pour huit temps de mesure  $T_0$  (avant application de l'ACO),  $T_0 +7,+13,+20,+25,+25,+29,+32,+37$  minutes. Chaque acquisition a été répétée trois fois sur trois sites cutanés différents; la moyenne de ces 9 mesures a ensuite été calculée afin d'améliorer le rapport signal/bruit.

Les fantômes et les acquisitions spectrales ont été réalisés par d'autres membres de l'équipe.

### 5.3.2 Resultats sur les données expérimentales

La Fig. 5.5 illustre le très bon ajustement obtenu entre les spectres d'intensité de fluorescence ( $\mathbf{X}$ ) acquis expérimentalement (en fonction des distances SD  $D_{1:4}$  en couleurs, longueurs d'onde d'excitation  $\lambda_{1:5}^{exc}$  en lignes et temps en colonnes) et leurs spectres récupérés correspondants ( $\hat{\mathbf{X}} = \hat{\mathbf{A}}\hat{\mathbf{S}}$ ) utilisant l'algorithme ALS avec  $N_S = 5$  sources. Les courbes résiduelles (différences entre spectres expérimentaux et reconstruits) sont caractérisées par des erreurs relatives inférieures à 10 %.

Les sources spectrales  $\hat{\mathbf{S}}$  estimées par la méthode NMF basée sur l'algorithme ALS, en fonction de toutes les distances SD  $D_{1:4}$ , toutes les longueurs d'onde d'excitation de fluorescence  $\lambda_{1:5}^{exc}$  et tous les instants du processus de clarification optique  $t_{1:8}$ , sont indiquées dans la Fig. 5.6 pour  $N_S = 5$ . Les sources 1, 2, 3 et 5 peuvent être communément identifiées comme des contributions de fluorescence cutanée (sources 1, 3 et 5) et de fluorescence Ce6 (source 2) respectivement, tandis que la source 4 ne se rapporte à aucune autre contribution clairement identifiée. Nous supposons que cette source est un bruit.

Le suivi temporel des divers composés fluorescents au cours du processus de clarification optique (CO) de la peau peut être analysé à l'aide du niveau de contribution de chaque source estimée dans notre modèle NMF contenue dans la matrice  $\hat{\mathbf{A}}$ . La Fig. 5.7 montre les résultats obtenus en termes d'évolution temporelle des coefficients de poids  $a_{l,m}$  de la matrice d'abondance estimée  $\hat{\mathbf{A}}$  pour  $N_S = 5$  sources (de gauche à droite). Pour la longueur d'onde d'excitation  $\lambda_1^{exc}$ , on peut noter que la contribution de la source 2 est prédominante au distance  $D_2$ ,  $D_3$  et  $D_4$ ; ce qui correspond aux informations de la chlorine e6. Pour les longueurs d'excitations élevées,  $\lambda_{4-5}^{exc}$ , on peut observer que les contributions de la source 3 sont également plus significativement visibles à la plus courte distance  $D_1$  alors que pour les contributions de la source 1 sont plus visibles aux distances  $D_3$  et  $D_4$ .

Les contributions de la source 4 montrent très peu de variations en fonction de la longueur d'onde d'excitation, du temps ou de la distance SD donc nous négligerons cette source dans la suite de l'étude.

Par souci d'uniformité, les valeurs de la matrice  $\hat{\mathbf{A}}$  ont toutes été normalisées par rapport à leurs valeurs initiales obtenues à  $T_0$ , c'est-à-dire, au tout début du processus de CO. L'évolution temporelle des valeurs  $a_{l,m}$  a donc été tracée en référence à une valeur unitaire commune au début  $T_0$  (voir Figure 5.7). Les tendances observées sur les sources 1, 3 et 5 sont similaires, au

22.  $\lambda^{exc}=[365\ 385\ 395\ 405\ 415]$  nm

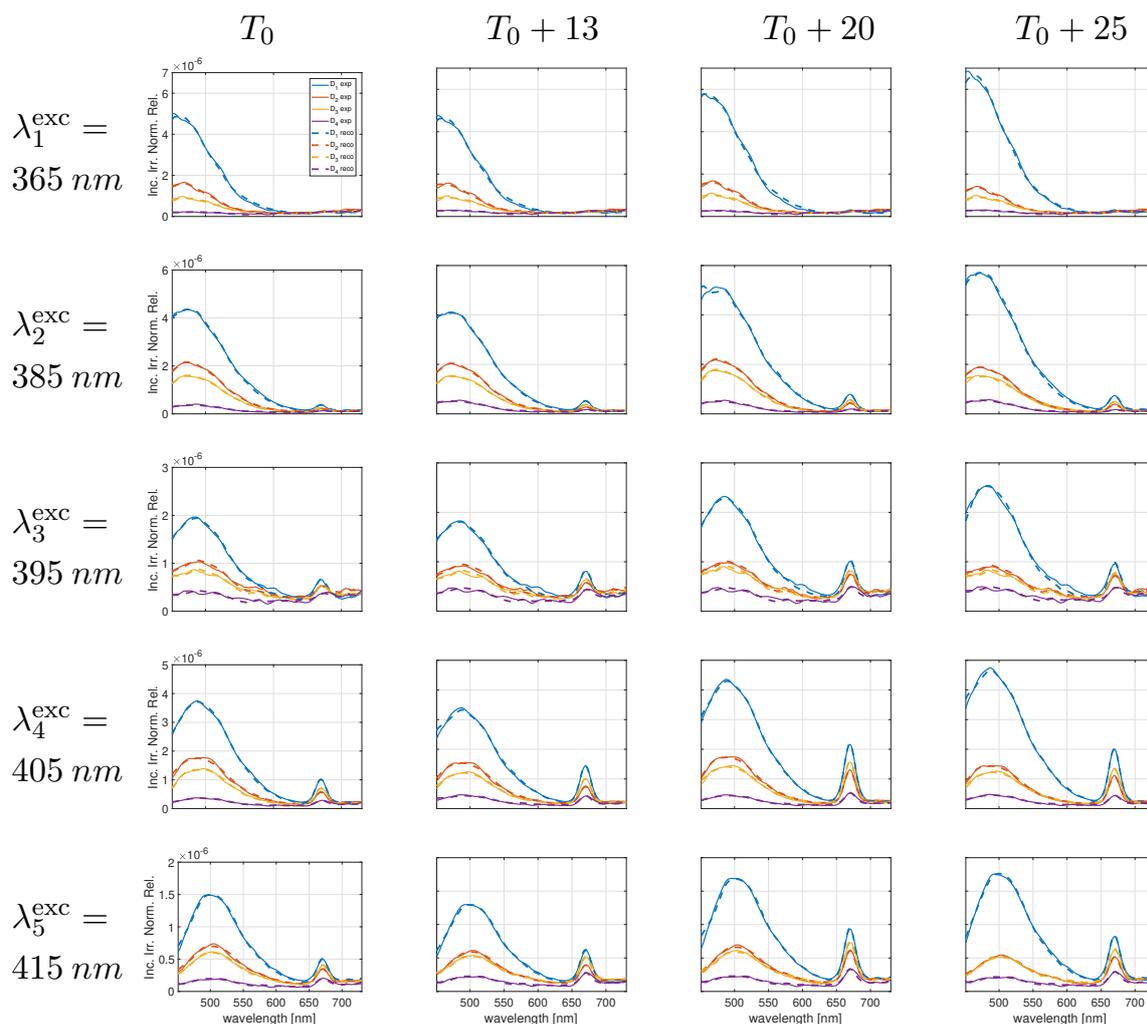


FIGURE 5.5 – Spectres de fluorescence mesurés (lignes continues) et récupérés (lignes pointillées) en utilisant l’algorithme ALS avec un nombre fixe de 5 sources ( $N_S = 5$ ). Les couleurs bleu, rouge, jaune et violet correspondent aux courbes des distances  $D_{1:4}$  respectivement. Les résultats sont tracés (i) pour les 5 longueurs d’onde d’excitation de fluorescence  $\lambda_{1:5}^{exc}$  en rangées de haut en bas et (ii) pour 4 instants dans le processus de compensation optique à  $T_0$ ,  $T_0 + 13$ ,  $T_0 + 20$  et  $T_0 + 25$  minutes respectivement de gauche à droite.

bout de 37 minutes, la contribution associées à chaque source augmente. La source 2 évolue différemment des autres sources puisqu’on observe une augmentation en dent de scie au cours du temps pour les longueurs d’onde d’excitation suivantes : 385, 395, 405 et 415 nm.

La pondération temporelle des contributions de la source 2, pour les longueurs d’excitations  $\lambda_{2:5}^{exc}$ , augmentent de façon alternée. En effet, la chlorine e6 est contenue dans le gel et son émission augmente avec le temps d’application de l’ACO. Pour les sources 1, 3 et 5, l’évolution temporelle est assez similaire, à  $T_0 + 7$ , on observe une augmentation ou une diminution en fonction de la distance SD puis les contributions se rejoignent pour finalement, s’éloigner en

fonction des distances SD.

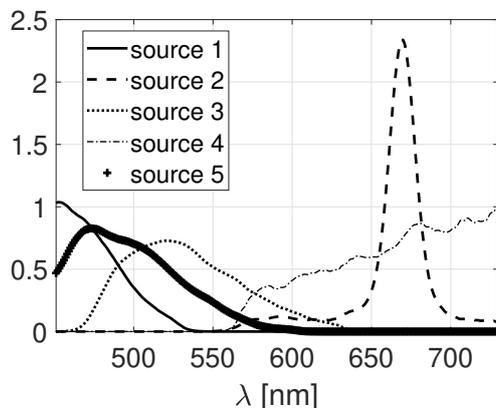


FIGURE 5.6 – Sources spectrales estimées  $\hat{\mathbf{S}}$  obtenues par la méthode NMF basée sur l'algorithme ALS, pour  $N_S = 5$  en considérant les données acquises pour toutes les distances SD  $D_{1:4}$ , toutes les longueurs d'onde d'excitation de fluorescence  $\lambda_{1:5}^{exc}$  et la totalité du processus de clarification optique  $t_{1:8}$ .

### 5.3.3 Discussion

La méthode NMF basée sur l'algorithme ALS appliquée aux spectres de fluorescence excités multiples à résolution temporelle et spatiale donne de très bons résultats d'ajustement pour  $N_S = 5$  sources (voir Fig. 5.5) présentant des formes communes identifiables de spectres d'émission de fluorescence liés au Ce6 dans le substrat gel de notre modèle expérimental hybride et aux fluorophores intrinsèques connus de la peau, à savoir le collagène dermique et l'élastine ainsi que le NAD(P)H épidermique et les flavines [Kollias et al., 2002, Borisova et al., 2012a].

Ainsi, dans la Fig. 5.6, la source 1 pourrait être liée à l'émission de collagène cutané / élastine AF dans la gamme spectrale  $[400 - 500] \text{ nm}$  avec un pic connu à  $[420 - 440] \text{ nm}$  pour les liaisons croisées digestibles de collagénase [Borisova et al., 2012a]. La source 3 pourrait se référer à l'émission d'AF des flavines de la peau avec un pic bien identifié dans le domaine spectral de  $[500 - 540] \text{ nm}$  [Borisova et al., 2012a]. La source 5 peut se référer à l'émission de NADPH avec un pic situé entre  $[450 - 500] \text{ nm}$  (voir Figure 5.4) [Wagnieres et al., 1998].

Il est à noter que les deux contributions attendues du NAD(P)H et du collagène/élastine peuvent être dissociées dans la configuration actuelle. La contribution du NAD(P)H peut être relativement plus faible que celle du collagène et de l'élastine en ce qui concerne leurs gammes de longueurs d'onde d'excitation (respectivement  $[330 - 380] \text{ nm}$  et  $[350 - 420] \text{ nm}$ ) et notre ensemble de longueurs d'onde d'excitation limité à  $\lambda^{exc1} = 365 \text{ nm}$  pour le plus court sommet d'excitation. De plus, un diamètre de  $600 \mu\text{m}$  a été choisi pour notre fibre d'excitation afin<sup>23</sup> :

- d'optimiser les contraintes techniques pour combiner efficacement toutes les sources lumineuses en une seule fibre d'excitation
- de sonder en profondeur (ce dernier augmentant avec la taille du spot source).

23. Dispositif expérimental décrit dans le paragraphe 1.4 du chapitre 1

Cette configuration conduit à une distance SD  $D_1$  la plus courte de  $400 \mu m$  (distance centre à centre entre la fibre d'excitation et le premier anneau de  $200 \mu m$  fibres de détection de diamètre de noyau) qui s'étend jusqu'à  $800 \mu m$  en considérant les diamètres complets des deux fibres. Par conséquent, cette taille relativement « grande » de la distance SD la plus courte couvrant toutes les distances jusqu'à  $800 \mu m$  a un effet intégrateur des photons collectés qui traversent l'épiderme ( $91 \mu m$  d'épaisseur) et les couches supérieures du derme (dans le cas de l'échantillon de peau à tester). Cependant, il est possible de démêler l'apport en fluorescence du collagène/élastine du derme d'un côté et de la NAD(P)H et de la FAD de l'épiderme de l'autre côté. En effet, on peut observer sur la Fig. 5.5 un décalage rouge du pic gauche de  $450 nm$  vers  $500 nm$  lorsque les longueurs d'onde d'excitation augmentent. La procédure démélange a permis d'identifier que ce décalage correspond au changement de la contribution relative des trois sources différentes (1, 3 et 5) identifiées sur la Fig. 5.6 relatives au collagène/élastine et NAD(P)H, d'un côté et au FAD, de l'autre.

La source 2 est clairement identifiée pour correspondre au pic de fluorescence Ce6 émis entre  $650 nm$  et  $700 nm$  par le substrat gel sur lequel repose la bande de peau. Du bruit apparaît avant  $600 nm$ , mais l'origine de ce bruit semble difficile à identifier. La source 4 n'est liée à aucun fluorophore connu dans le modèle expérimental actuel et elle est donc assimilée à une contribution au bruit apparaissant pour des longueurs d'onde supérieures à  $550 nm$ . Comme mentionné précédemment, ses contributions semblent très peu variées en fonction des différentes modalités (longueur d'onde d'excitation, distance ou temps). La difficulté de démêler cette source peut s'expliquer par la nature non linéaire des interactions lumière-tissu qui n'est pas prise en compte dans la méthode NMF actuelle basée sur un modèle linéaire.

La présence du pic de fluorescence Ce6 du substrat gel dans le spectre mesuré à  $T_0$ , malgré l'épaisseur de  $1143 \mu m$  de notre bande de peau, s'explique par plusieurs facteurs.

Premièrement, bien qu'il y ait une forte limitation de la pénétration en profondeur de la lumière dans la peau en dessous de  $350 nm$ , comme le montre [Meinhardt et al., 2008] avec une profondeur de pénétration de lumière de  $340 nm$  de  $140 \mu m$  pour la peau exposée des avant-bras (due au filtrage UVB important de la kératine et la mélanine), il existe aussi une dégradation exponentielle rapide de l'absorbance de mélanine dans cette zone du spectre. Ash *et al.* [Ash et al., 2017] a montré qu'une fraction de 1% d'un faisceau lumineux de  $350 nm$  (respectivement  $400 nm$ ) - peut pénétrer aussi profondément que  $800 \mu m$  ( $1100 \mu m$  respectivement).

Deuxièmement, l'échantillon de peau utilisé dans notre étude était un morceau de peau abdominale non exposée aux UV prélevé sur une femme à la peau claire (phototype 2) de 38 ans. Ceci implique une très faible quantité de mélanine dans l'épiderme.

Troisièmement, les épaisseurs de l'épiderme et du derme de la bandelette cutanée,  $91 \mu m$ ,  $91 \mu m$ ,  $27 \mu m$  et  $1052 \mu m$ ,  $195 \mu m$ , respectivement, ont été déterminées comme valeurs moyennes sur 18 points de mesure uniformément répartis sur une lame histologique tachée H&E. Avec une variabilité d'épaisseur totale d'environ 30 %, la peau peut donc être plus ou moins épaisse selon le site exact de la peau. Cette épaisseur, mesurée sur la lame histologique, surestime également l'épaisseur de la bande de peau pendant le test soumise au contact de pression de la sonde multi-fibre optique (voir Fig. 5.2).

Quatrièmement, le volume de collecte des photons est déterminé notamment par les dimensions du cœur et l'ON des fibres et par les propriétés de diffusion du tissu [Ash et al., 2017]. Ainsi, l'effet de la largeur du faisceau dépend de la taille de la source lumineuse : plus celle-ci est grande (Le diamètre du cœur de la fibre d'excitation est de  $600 \mu m$  dans notre cas), plus la profondeur de pénétration du faisceau augmente. D'après [Katika and Pilon, 2006, Liu et al., 2012], à la longueur d'onde d'excitation de  $400 nm$ , les photons peuvent pénétrer profondément à travers l'épiderme et le derme jusqu'à plus de  $1 mm$  et que  $250 \mu m$  - de distances SD (1/3 de la distance SD la plus courte). Pour une plage de longueurs d'onde d'excitation comprises entre  $337$  et  $440 nm$ , la lumière peut pénétrer jusqu'à  $225$ - $250 \mu m$  d'épaisseur en tissus de peau.

Par conséquent, à partir de nos résultats sur Fig. 5.5, on peut observer qu'aucune fluorescence de Ce6 n'a été détectée à  $T_0$  (avant application de l'ACO) pour  $\lambda_1^{exc} = 365 nm$  - longueur d'onde d'excitation, qui signifie que ce dernier n'accède pas au substrat de gel. Le faible signal de fluorescence de Ce6 a été détecté pour  $\lambda_2^{exc} = 385$  et  $\lambda_3^{exc} = 395 nm$  excitations et un signal plus fort a été détecté pour  $\lambda_4^{exc} = 405$  et  $\lambda_5^{exc} = 415 nm$ , qui confirme la pénétration plus profonde de la lumière d'excitation à travers la bande de peau jusqu'au substrat de gel à mesure que la longueur d'onde augmente.

L'analyse temporelle des abondances représentées dans la figure 5.7 pour  $N_S = 5$  sources, correspondant aux coefficients de poids affectés aux sources spectrales, a servi à étudier l'évolution de la fluorescence estimée en gel peau et fluorophore pendant la pénétration en profondeur et propagation dans la peau (appliquée topiquement) par OCA. Cette analyse doit tenir compte du fait que (i) la pénétration en profondeur des photons d'excitation dans la peau par fluorescence augmente avec la longueur d'onde, (ii) les fluorophores intrinsèques sont situés à différentes profondeurs dans la peau (par ex. le collagène et l'élastine sont principalement situés dans le derme tandis que les flavines et le NAD(P)H se trouvent plus spécifiquement dans l'épiderme), (iii) la fluorescence Ce6 provient de la couche de gel sur laquelle repose la bandelette cutanée et (iv) les spectres mesurés aux 4 distances SD résultent des photons de fluorescence provenant de différentes profondeurs du modèle peau sur gel.

L'évolution temporelle de leurs contributions des sources 1, 3 et 5, par rapport au tout début du processus de CO  $T_0$ , a été observée comme étant également fortement augmentée par un facteur de 2 à 5 à  $T_0 + 7$  ou  $+13$  minutes, ce qui est en accord avec l'augmentation du signal fluorescent également observée par Migacheva et al. [Migacheva et al., 2010] entre 10-15 minutes après le lancement du processus de CO. Cette observation peut être corrélée avec le processus de déshydratation de la peau initié lors de la première étape du CO. Si l'on considère la source 1, la contribution temporelle de cette dernière semble plus efficace aux longueurs d'onde d'excitation plus courtes ( $\lambda_{1,2}^{exc}$ ) et aux distances SD plus longues  $D_{2,3,4}$ , ce qui est en bon accord avec la contribution en fluorescence du collagène/élastine cutanée situé dans le derme. Si l'on considère les sources 3 et 5, les contributions temporelles semblent :

- plus importantes à la plus courte distance SD  $D_1$  et aux longueurs d'onde d'excitation ( $\lambda_{1,3}^{exc}$ ),
- assez similaires pour toutes les distances SD aux plus grandes longueurs d'onde ( $\lambda_{4,5}^{exc}$ ), qui correspondent aux contributions en fluorescence des FAD cutanées situées dans l'épiderme (source 3).
- plus faibles aux plus grandes longueurs d'onde ( $\lambda_{4,5}^{exc}$ ), qui correspondent aux contributions en fluorescence des NAD(P)H cutanées situées dans l'épiderme (source 5).

Dans le présent travail, un ACO à base de saccharose a été choisi afin d'étudier l'effet de compensation d'une solution de CO biocompatible d'intérêt pour les essais cliniques. Il a été appliqué par voie topique sur l'épiderme de la peau de notre échantillon afin d'imiter les conditions cliniques. La pertinence et le potentiel de la CO pour les études *in vivo* augmentent de plus en plus comme dans :

- la photothermolyse sélective des lésions vasculaires où l'utilisation du prétraitement au glycérol de la surface de la peau *in vivo* a permis de réduire significativement l'exposition au rayonnement par rapport aux conditions normales requises pour la photocoagulation [Vargas et al., 2008],
- la spectro-imagerie *in vivo* et le photodiagnostic des lésions cutanées par tomographie à cohérence optique (OCT) [Dolin et al., 2012, Pires et al., 2016], spectroscopie Raman améliorée en surface (SERS), imagerie [Zhang et al., 2017] ou biopsie optique multimode (travaux actuels), l'application de l'ACO entraînant une augmentation de la profondeur sondé et améliore le contraste des images.

En effet, le développement et l'application d'OCA biocompatibles non toxiques pourraient apporter des améliorations significatives aux approches optiques existantes pour le diagnostic et les traitements cliniques [Zhu et al., 2013, Sdobnov et al., 2018].

L'approche actuelle de séparation à la source repose sur un modèle de mélange linéaire instantané simple (5.6) et a été validée sur des données expérimentales relatives à un échantillon à deux couches composé d'une bande de peau *ex vivo* et d'un substrat de gel homogène comme substrat de couche inférieure.

Dans la suite, nous comparons nos résultats obtenus avec la NMF avec les résultats issus d'une méthode tensorielle pour déterminer quelle approche est la mieux adaptée au traitement de nos données spectrales d'AF.

## 5.4 Modèle Candecomp Parafac

Précédemment, nous avons regroupé les spectres de fluorescence multidimensionnels mesurés dans des matrices de dimensions 2 pour appliquer la méthode NMF dont l'une des deux dimensions regroupe 3 dimensions de nos mesures spectrales :

- les distances  $D$
- le temps  $t$
- les longueurs d'onde d'excitation  $\lambda^{\text{exc}}$

Cependant, cela entraîne des pertes d'information.

Pour conserver les dimensions des spectres mesurés et donc toutes les informations, nous les intégrons dans un tenseur de données de dimension 3 désigné par  $\mathcal{X}$ . Ainsi, nous pouvons appliquer des modèles de décomposition tensorielle de type Parafac (PARAllel FACTor analysis), par exemple le modèle Candecomp (CANonical DECOMPosition) Parafac développé sous Matlab par [Andersson and Bro, 2000].

La décomposition Candecomp Parafac (CP) d'un tenseur  $\mathcal{X}$  d'ordre 3 peut être exprimé en une somme de  $N_S$  tenseurs de rang 1 [Andersson and Bro, 2000] :

$$\mathcal{X} = \sum_{m=1}^{N_S} a_m \circ b_m \circ s_m \quad (5.11)$$

Avec  $N_s$  indique le rang du tenseur (le nombre de sources) et  $a_m, b_m$  et  $s_m$  sont des vecteurs représentant chaque dimension du tenseur  $\mathcal{X}$ . Cette décomposition (5.11) est valable dans le cas 3D ( $N_{\lambda^{exc}} = 1$ ).

1. le vecteur  $a_m$  renvoie à des contributions en fonction des distances  $D$
2. le vecteur  $b_m$  renvoie à des contributions en fonction du temps  $t$
3. le vecteur  $s_m$  renvoie aux sources  $S$

Nous pouvons aussi réécrire cette décomposition en 4D. Cela permet d'obtenir un vecteur supplémentaire qui renvoie à des contributions en fonction des longueurs d'onde d'excitation  $\lambda^{exc}$ .

Pour rappel, avec la méthode NMF, nous avons seulement l'évolution de la fluorescence en fonction de la distance, du temps et des longueurs d'onde d'excitation

#### 5.4.1 Contraintes de positivité

Comme pour la méthode de NMF, des contraintes de positivité sont nécessaires. Le modèle Candecomp Parafac gère donc ces contraintes [Andersson and Bro, 2000].

#### 5.4.2 Résultats sur nos données expérimentales d'une méthode de décomposition tensorielle

La principale difficulté de l'utilisation de cette méthode est de déterminer le nombre de sources qui est déterminé arbitrairement. Nous savons d'après l'étude précédente avec la méthode NMF que nous cherchons au moins 4 sources (voir Fig5.6). Nous avons également des connaissances *a priori* sur ces sources dont l'une correspond au spectre de la chlorure e6 (voir Fig.5.3).

Aucune matrice initiale n'a été définie, nous avons seulement utilisé une méthode de GRAM pour l'initialisation [Andersson and Bro, 2000].

### Résultats sur nos données expérimentales en 3D

Nous avons choisi 3 jeux de données différents qui correspondent à 3 longueurs d'onde d'excitation de fluorescence :  $\lambda_{exc} = [365 \ 395 \ 415]$  nm. Pour paramétrer la méthode Candecomp Parafac, nous supposons que les matrices estimées possèdent des contraintes de non-négativité. Par rapport à la méthode précédente, les contributions ne dépendent que de la modalité considérée ( $D$ , temps, etc.) et des sources.

Pour  $\lambda^{exc} = 365$  nm,  $N_s = 2$  sources ont été utilisées pour réaliser la figure 5.9. Celle-ci montre les contributions en fonction des distances SD (en haut à droite) et du temps pour chacune des sources (en bas à gauche). Ce nombre de sources a été choisi puisqu'à partir de 3 sources, un bruit apparaît. Parmi les sources estimées (en haut à gauche, Fig. 5.9), la source relative à la chlorure e6 n'apparaît pas car d'après les spectres de fluorescence mesurés expérimentalement à  $\lambda^{exc} = 365$  nm, le pic caractéristique de la chlorure e6 n'est pas présent. Nous observons que pour les contributions :

- en fonction des distances SD (en haut à droite), l'impact de la source 1 décroît lorsque les fibres de détection sont éloignées de la fibre d'excitation. L'inverse est observé pour la source 2.

- en fonction du temps (en bas à gauche), la contribution de chaque source augmente au bout de 7 minutes. On observe également une diminution à  $T_0 + 13$  minutes. Les deux valeurs des deux sources sont identiques au bout de 20 minutes.

D'après ces observations, nous pouvons en déduire que le fluorophore de la source 1 se situe dans la couche supérieure et le fluorophore de la source 2 se situe dans la couche inférieure. De plus, l'application dans le temps de l'ACO modifie les propriétés optiques, notamment de diffusion du milieu, en particulier ceux de la couche supérieure (chapitre 4).

Nous avons un point d'équilibre à 20 minutes. Cela rejoint les observations réalisées précédemment avec la méthode de séparation de sources NMF. À ce temps d'application de l'ACO, nous pensons que l'accès à l'information du fluorophore de la source 1 et de celui de la source 2 est équivalente. Avant 20 minutes, nous accédons à l'information du fluorophore de la source 2 que nous supposons situer en profondeur. Alors qu'après 20 minutes, la source 1 a des valeurs plus importantes que celles de la source 2. Ces changements peuvent s'expliquer par les phénomènes de déshydratation et d'hydratation du tissu causé par le processus de clarification optique.

Pour  $\lambda^{\text{exc}} = 395$  nm,  $N_S = 4$  sources ont permis de réaliser les résultats de la figure 5.10. Parmi les 4 sources estimées (en haut à gauche), nous pouvons distinguer le spectre de chlorin e6 avec son pic d'émission de fluorescence situé autour de 670 nm (la source 4). En effet, à cette longueur d'onde d'excitation, les données de fluorescence expérimentales révèlent la présence de la chlorine e6. Les sources 1 et 2 ressemblent à celles trouvées pour  $\lambda^{\text{exc}} = 365$  nm. Nous observons également que la source 3 n'a pas l'allure d'un spectre d'émission de fluorescence d'un fluorophore connu de la peau et peut être considérée comme une source de bruit. Nous la négligeons dans le reste de nos observations.

**Remarque 5.1** Pour  $N_S = 3$  sources, l'une des sources estimée possède le pic de chlorine e6 confondu avec un autre pic d'émission de fluorescence.

Pour les différentes contributions :

- en fonction de la distance SD (en haut à droite), la source 1 possède des résultats similaires que pour  $\lambda^{\text{exc}} = 365$  nm, c'est-à-dire qu'elle décroît avec de l'augmentation de la distance entre les fibres d'excitation et de détection. La source 2 a également une tendance proche de celle de  $\lambda^{\text{exc}} = 365$  nm. Cependant, à 0,4 mm, la valeur de la source 2 est proche de 0,5 alors que celle de  $\lambda^{\text{exc}} = 365$  nm proche de 0 et à 1 mm, elle est proche de 0 (comme la source 1) alors que la source 2 de  $\lambda^{\text{exc}} = 365$  nm est proche de 0,5. Donc nous ne pouvons pas affirmer que ces deux sources sont identiques. La valeur la plus élevée de la source 4 est obtenue à 0,8 mm et elle continue à être supérieure aux valeurs des autres sources pour la dernière distance 1 mm.
- en fonction du temps (en bas à gauche), les observations des tendances de la source 1 est identique que celle réalisée pour  $\lambda^{\text{exc}} = 365$  nm. La source 2 est différente de celle  $\lambda^{\text{exc}} = 365$  nm car cette dernière à sa contribution augmente au bout de 7 minutes alors que la source 2 observée sur la Fig.5.10 diminue (tout comme la source 1). La courbe des contributions de la source 4 rejoint celle de la source 1 entre 13 et 25 minutes puis à 37 minutes. À 20 minutes, les contributions sont quasiment toutes superposées.

Ces observations de la source 4 (représentant le spectre d'émission de fluorescence de la chlorine e6) est située dans le substrat de gel sur laquelle repose un morceau de peau *ex vivo* confirment que le fluorophore de la source 1 provient de la couche supérieure et celui de la source 2 est difficile à localiser, mais semble aussi être située dans la couche supérieure à cause de la variations des contributions en fonction des distances et du temps.

Le processus de clarification optique permet de mettre en avant les informations situées en profondeur notamment celles de la couche de gel. Les phénomènes osmotiques de l'ACO entraînent au bout de 37 minutes des contributions quasiment identiques pour les sources 1 et 4 alors que leurs fluorophores respectifs sont situés dans des couches différentes.

Pour  $\lambda^{\text{exc}} = 415$  nm,  $N_S = 4$  sources ont aussi été utilisées pour réaliser la figure 5.11 car le pic d'émission de fluorescence de la Ce6 est présent dans les spectres de fluorescence mesurés expérimentalement. L'analyse réalisée pour  $\lambda^{\text{exc}} = 395$  nm s'applique également pour ces résultats.

En utilisant nos données expérimentales en 3D et avec une méthode de décomposition tensorielle (Candecomp Parafac), nous obtenons 3 sources de 3 fluorophores situés dans 3 couches différentes. Nous étendons l'application de cette méthode sur nos données expérimentales en 4D.

### Résultats sur nos données expérimentales en 4D

Nous avons testé une matrice d'entrée  $X$  de 4D contenant les données de fluorescence pour  $\lambda_{\text{exc}} = [365 \ 395 \ 415]$  nm, en fonction des distances SD et du temps. J'ai choisi ces trois longueurs d'onde, car la variété des spectres de fluorescence est significative. Pour  $N_S = 5$  sources, les résultats de la méthode Candecomp Parafac ont été affichés sur la figure 5.13. Dans cette étude, nous considérons la source 2 comme étant un bruit négligeable. Nous nous focalisons donc sur 4 autres sources d'émission de fluorescence.

Plusieurs contributions sont étudiées :

- celle en fonction de la distance nous donne donc des informations sur les fluorophores situés en profondeur. Les fluorophores issus de la source 1 et la source 3 semblent présents dans la couche supérieure, car pour ces deux sources, les contributions sont très élevées pour la première distance et diminuent fortement pour les autres distances. Les autres sources semblent provenir des couches inférieures.
- en fonction du temps, la source 4 a une contribution élevée à  $T_0$  et diminue au cours du temps. Toutes les sources se rejoignent autour de  $T_0 + 20$ . La source 5 a la plus faible contribution à  $T_0$  et augmente jusqu'à avoir la contribution la plus élevée à  $T_0 + 37$ .
- en fonction de  $\lambda^{\text{exc}}$ , les fluorophores issus de la source 1 et de la source 4 ont probablement un spectre d'excitation très similaire, car leurs contributions sont superposées.

Nous pouvons penser que la source 1 et la source 4 sont identiques, mais les contributions montrent une distinction entre ces deux sources exceptées pour la contribution en fonction des  $\lambda^{\text{exc}}$  où les contributions de ces deux sources sont superposées. La source 1 est identifiée comme le spectre d'émission du NAD(P)H [Wagnieres et al., 1998] et la source 4 correspond au spectre d'émission du collagène/élastine.

La séparation entre la source 3 et la source 5 est difficile car les contributions en fonction des  $\lambda^{\text{exc}}$ , en particulier, montrent des tendances proches. Cependant nous savons que la source 5 correspond au spectre d'émission de chlorine e6 et la source 3 correspond au spectre d'émission des flavines.

Au bout de 37 minutes, la contribution la plus forte est celle de la chlorine e6.

Nous supposons que la quantité de fluorophore de Ce6 contenue dans la couche de gel est très élevée.

La reconstruction des spectres obtenus à partir d'une méthode tensorielle est affichée sur

la figure 5.14. Celle-ci montre un meilleur ajustement entre les spectres simulés et les spectres expérimentaux comparée à la Fig. 5.12 pour une application 3D.

### 5.4.3 Conclusion sur les méthodes de décomposition tensorielle

Cette méthode permet d'apporter des informations détaillées sur les sources en fonction de  $\lambda$ , des distances  $D$ , du temps et de  $\lambda^{\text{exc}}$  comparée à la méthode NMF où l'interprétation des abondances est plus difficile, à cause de l'imbrication des informations liées aux distances et au temps dans la matrice  $A$ . Nous pensons que les méthodes de décomposition tensorielle sont les mieux adaptées à nos données de fluorescence spectrales et favorisent l'interprétation des spectres. Cependant, la limite se situe au niveau de l'ajustement entre le modèle et les données expérimentales, indiqué par le nombre de concordances (Core consistency test). Ce nombre est faible (inférieur à 100 %) et nous pensons que cela est dû au modèle linéaire utilisé. En effet, le modèle appliqué dans cette étude considère que les sources sont mélangées de façon linéaire. Or, les propriétés optiques de la peau sont modélisées de façon non-linéaire (voir Chapitre 1). Pour la suite des travaux, l'application d'un modèle non-linéaire serait mieux adaptée à l'exploitation de nos données expérimentales.

## 5.5 Conclusion

Des spectres d'AutoFluorescence (AF) à excitations multiples et à résolution spatiale (RS) ont été acquis sur un échantillon de peau *ex vivo* posé sur un substrat de gel fluorescent. Ces spectres ont été étudiés tout au long du processus de clarification optique (CO) due à une solution à base de saccharose appliquée à différents temps par voie topique. Une méthode de séparation à source aveugle par factorisation en matrices non-négatives (NMF) basée sur la méthode des moindres carrés alternatifs (ALS) a été utilisée avec succès pour démêler les contributions de fluorophores intrinsèques des tissus cutanés des spectres AF en vrac, exploitant la multidimensionnalité des données acquises, c'est-à-dire les spectres résolus en cinq longueurs d'onde d'excitation, quatre séparations SD et huit fois la mesure. L'analyse de la matrice d'abondance estimée nous a permis d'identifier les contributions relatives de trois sources liées à la fluorescence intrinsèque du collagène/élastine (dans le derme), des NAD(P)H et des flavines (dans l'épiderme) et une source liée à la fluorescence Ce6 provenant du substrat de gel. L'évolution temporelle de ces sources spectrales a été étudiée conjointement pour toutes les distances et toutes les longueurs d'onde d'excitation de fluorescence sous l'application topique de l'ACO sur la peau à partir des contributions de chaque fluorophore. Ces cinétiques ont mis en évidence plusieurs phases distinctes de variation d'amplitude en accord avec les principales étapes successives du processus de diffusion de l'ACO vers les couches les plus profondes de la peau. Cependant, il est bien connu que la propagation de la lumière dans les tissus biologiques est hautement non-linéaire, en raison de la variété des phénomènes photophysiques d'absorption, de diffusion et de fluorescence impliqués et de la structure complexe multi-échelle des tissus biologiques. Par conséquent, pour nos travaux futurs, nous prévoyons i) d'étudier des modèles de mélange plus complexes et ii) d'élaborer le potentiel de l'approche de séparation à la source pour analyser les données provenant de bandes de peau de différentes épaisseurs et de différents phototypes et peut-être de peau *in vivo*. Pour conclure, ces méthodes de séparation de sources apportent des informations complémentaires à celles obtenues à partir d'une inversion de modèle, en particulier pour l'analyse des spectres d'autofluorescence.

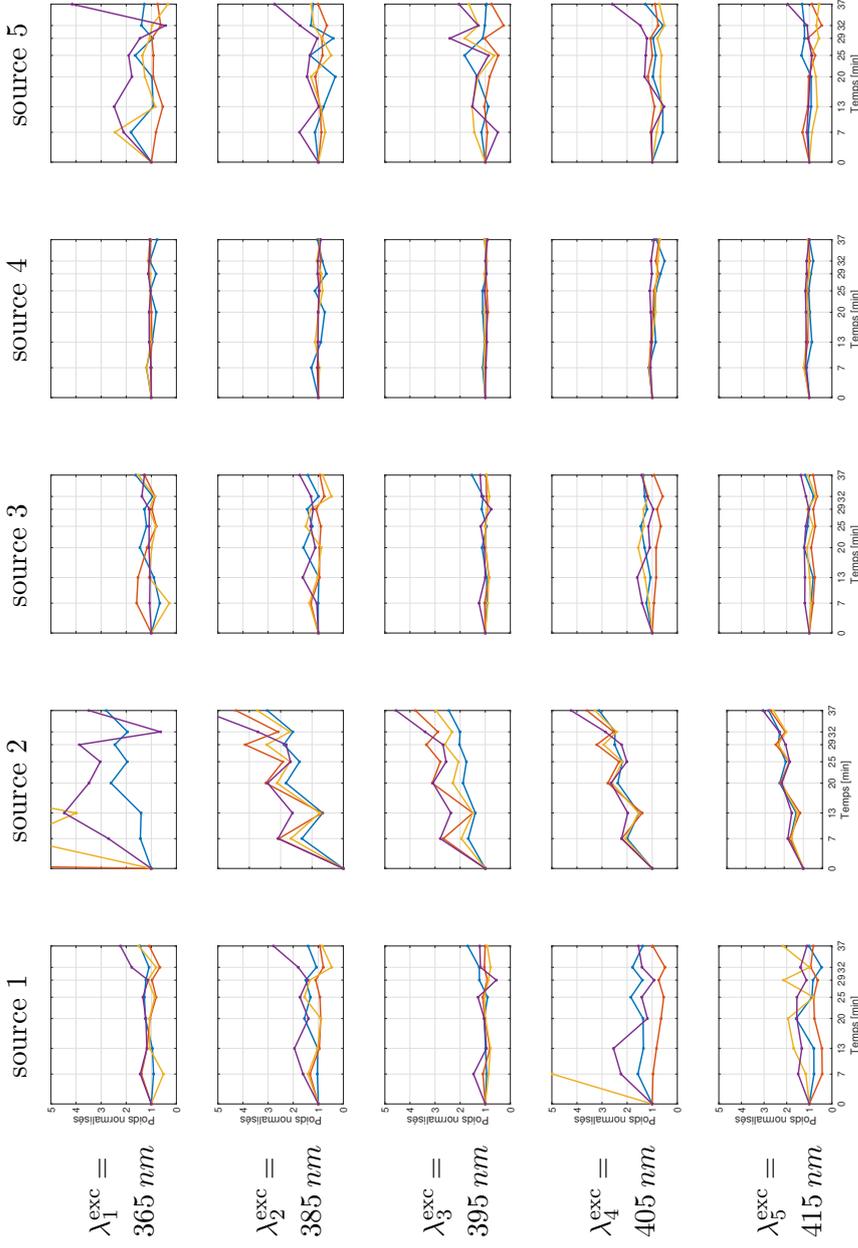


FIGURE 5.7 – Évolution temporelle des coefficients de pondération dans la matrice d'abondance estimée  $\hat{\mathbf{A}}$  avec un nombre total de sources fixé à  $N_S = 5$ . Chaque point correspond à la valeur d'un coefficient  $a_{i,m} = a_{i+N_D \times (j-1) + N_D \times N_{exc} \times (k-1), m}$  avec  $i \in \{1, \dots, N_D = 4\}$ ,  $j \in \{1, \dots, N_{exc} = 5\}$ ,  $k \in \{1, \dots, N_t = 8\}$  et  $m \in \{1, \dots, N_S = 5\}$  la distance SD, la longueur d'onde d'excitation, le moment et les nombres sources respectivement. Les résultats (poids normalisés à leur valeur initiale à  $T_0$ ) sont tracés en bleu, rouge, jaune et violet correspondant aux couleurs des distances  $D_{1:4}$  respectivement, (i) pour les 5 longueurs d'onde d'excitation de fluorescence  $\lambda_{1:5}^{exc}$  en ligne de haut en bas et (ii) pour les 5 sources  $S_{1:5}$  de gauche à droite.

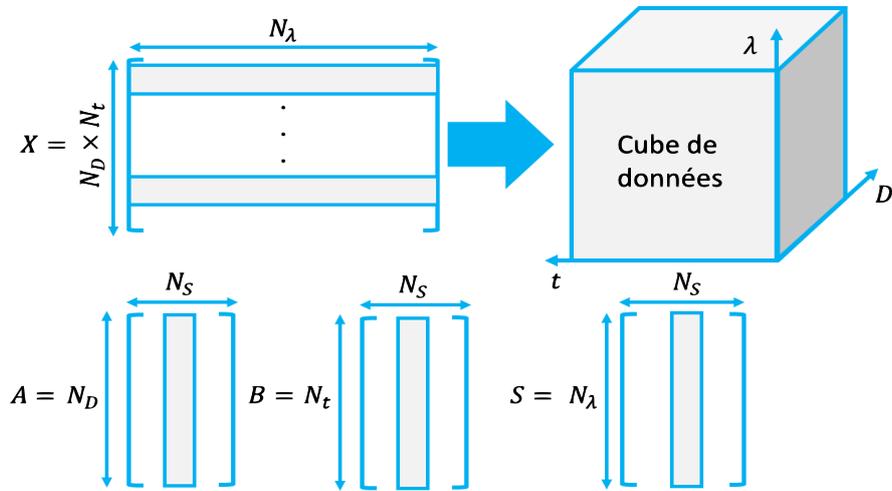


FIGURE 5.8 – Organisation des données pour l'utilisation d'une méthode de décomposition tensorielle, avec  $\mathcal{X}$  les données expérimentales,  $N_D$  le nombre de distances,  $N_t$  le nombre de temps de mesure et  $N_\lambda$  le nombre de longueurs d'onde. La matrice A renvoie à  $a_m$  contenant les contributions en fonction des distances D, la matrice B renvoie à  $b_m$  contenant les contributions en fonction du temps et S renvoie à  $s_m$  contenant les sources dépendantes de  $\lambda$ .

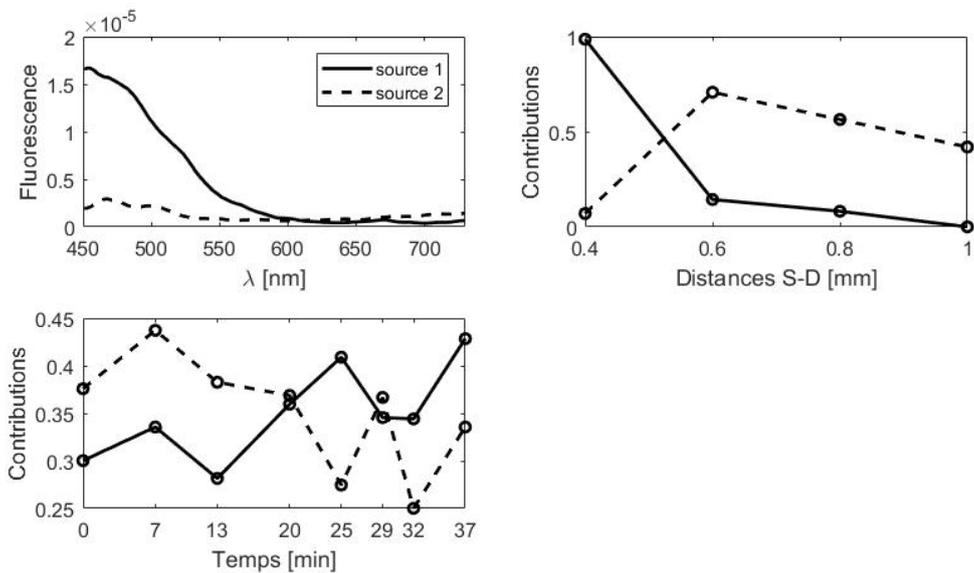


FIGURE 5.9 – Résultats de la méthode Candecomp Parafac (3D) avec l'estimation des sources (en haut à gauche), avec les différentes contributions en fonction de la distance SD (en haut à droite) et du temps (en bas à gauche) pour  $N_S = 2$  et  $\lambda^{\text{exc}} = 365$  nm

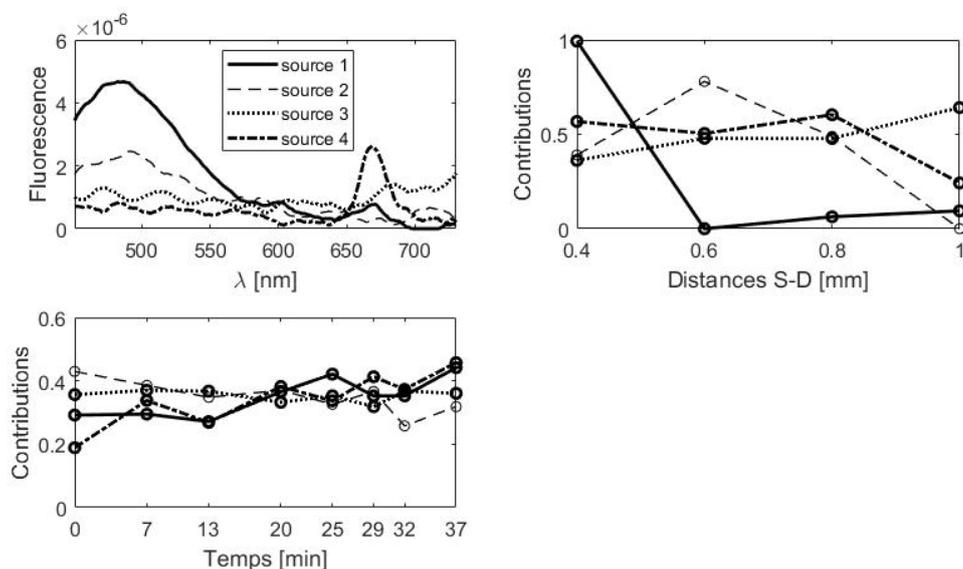


FIGURE 5.10 – Résultats de la méthode Candecomp Parafac (3D) avec l'estimation des sources (en haut à gauche), avec les différentes contributions en fonction de la distance SD (en haut à droite) et du temps (en bas à gauche) pour  $N_S = 4$  et  $\lambda^{\text{exc}} = 395$  nm

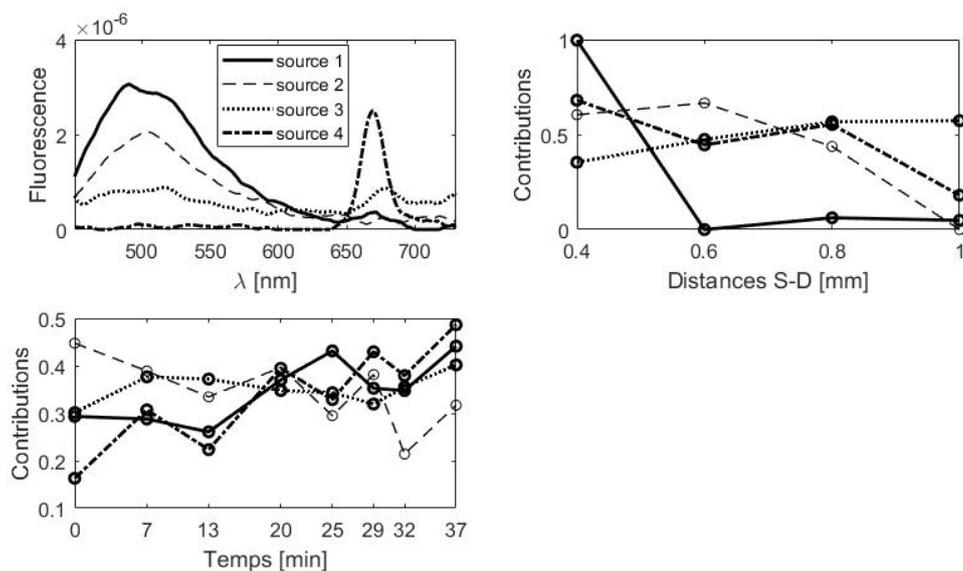


FIGURE 5.11 – Résultats de la méthode Candecomp Parafac (3D) avec l'estimation des sources (en haut à gauche), avec les différentes contributions en fonction de la distance SD (en haut à droite) et du temps (en bas à gauche) pour  $N_S = 4$  et  $\lambda^{\text{exc}} = 415$  nm

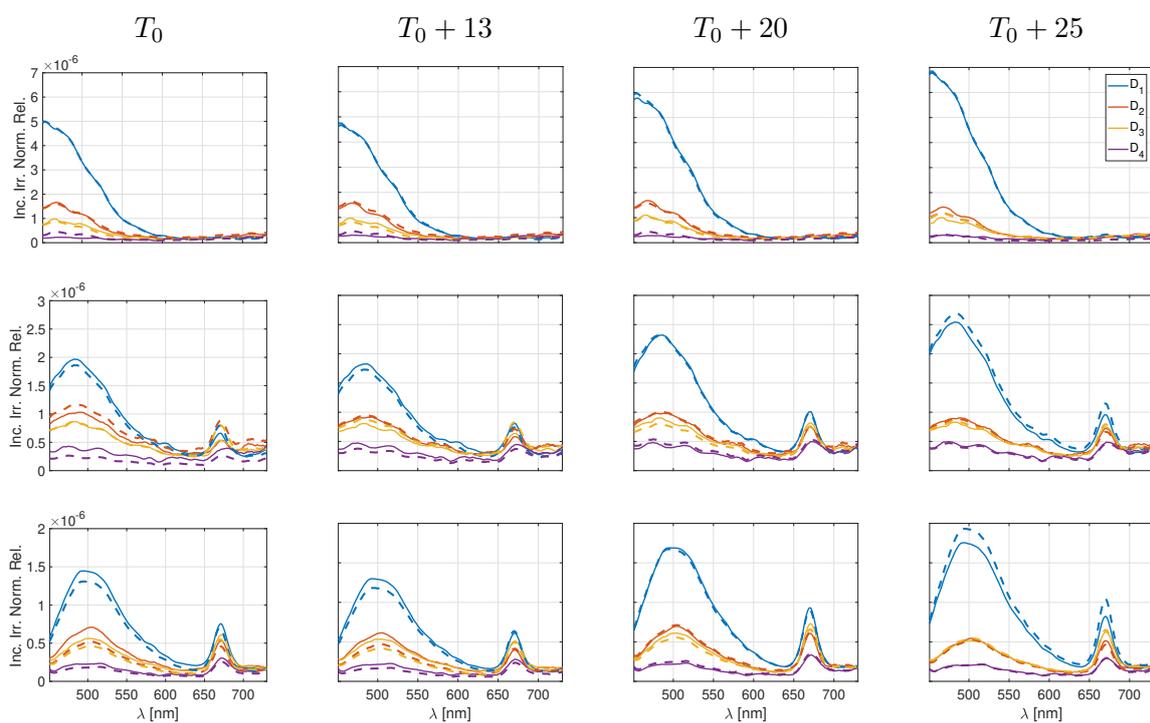


FIGURE 5.12 – Spectres de fluorescence reconstruits à partir des données expérimentales en 3D avec en haut, les spectres de fluorescence pour  $\lambda^{exc} = 365 \text{ nm}$ , au milieu, les spectres de fluorescence pour  $\lambda^{exc} = 395 \text{ nm}$  et en bas, les spectres de fluorescence pour  $\lambda^{exc} = 415 \text{ nm}$ .

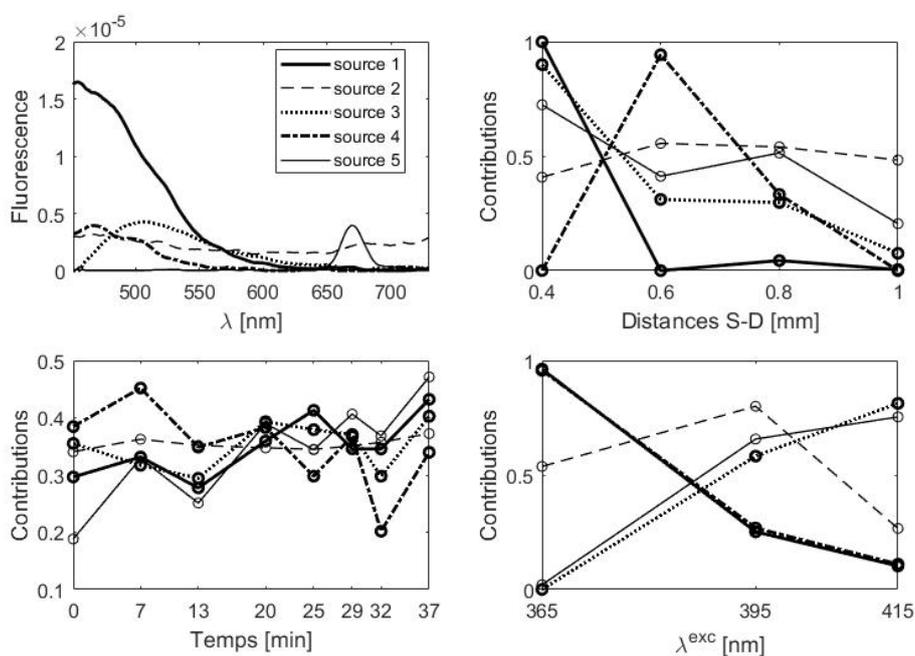


FIGURE 5.13 – Résultats de la méthode Candecomp Parafac (4D) avec  $N_S = 5$  sources pour  $\lambda^{exc} = [365, 395, 415]$  nm. En haut à gauche, les 5 sources, en haut à droite, les contributions des sources en fonction des distances, les contributions des sources en fonction du temps (en bas à gauche) et les contribution des sources en fonction des 3  $\lambda^{exc}$  (en bas à droite).

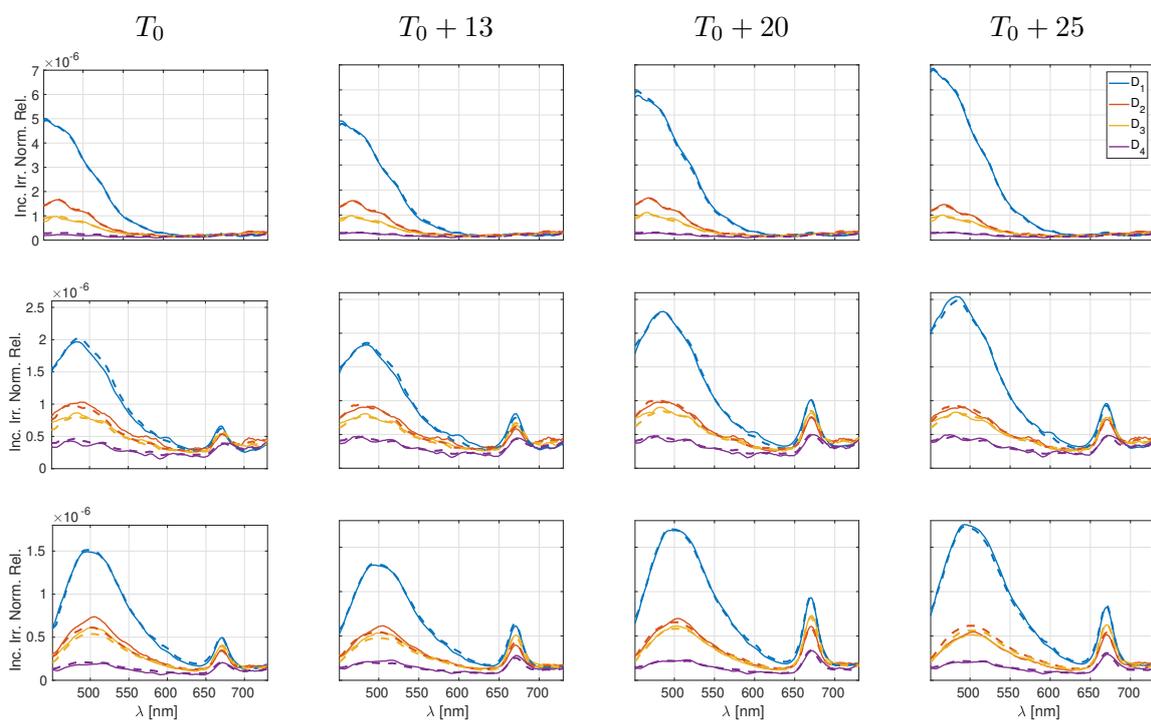


FIGURE 5.14 – Spectres de fluorescence reconstruits à partir des données expérimentales en 4D avec en haut, les spectres de fluorescence pour  $\lambda^{exc} = 365 \text{ nm}$ , au milieu, les spectres de fluorescence pour  $\lambda^{exc} = 395 \text{ nm}$  et en bas, les spectres de fluorescence pour  $\lambda^{exc} = 415 \text{ nm}$ .

# Conclusion générale

*La fin justifie les moyens (...)*

*Mais qui justifiera la fin ?*

---

Alain Damasio

Dans cette thèse intitulé *Inversion de modèle et séparation de signaux de spectroscopie optique pour la caractérisation in vivo de tissus cutanés*, nous avons étudié des données issues de la spectroscopie tissulaire en réflectance diffuse et en autofluorescence dans le but de caractériser les tissus cutanés.

L'une des premières caractérisations réalisée au cours de la thèse est d'estimer les propriétés optiques du tissu biologique à l'aide d'une inversion de modèle.

La première tâche a été de mettre en place une simulation MC fonctionnelle et rapide. Pour cela, j'ai choisi une simulation MC déjà parallélisée sur GPU et je l'ai modifié pour y intégrer :

- la modalité en fluorescence,
- les contraintes spectrales liées aux paramètres optiques
- et les contraintes de résolution spatiale adaptée à la géométrie de la sonde optique utilisée.

La définition de ce modèle de propagation des photons est donc une étape nécessaire dans le processus d'inversion de modèle.

À partir d'un état de l'art sur les fonctions coûts et les algorithmes d'optimisation, nous avons étudié les meilleures combinaisons possibles. Nous avons ainsi proposé une fonction coût intégrant les deux modalités pour répondre à notre problématique. L'aspect stochastique de notre simulation MC a justifié le choix de l'utilisation d'un algorithme d'optimisation globale, PSO.

Afin d'améliorer l'estimation des propriétés optiques des couches inférieures de la peau, un agent de clarification optique a été appliqué localement en fonction du temps. L'agent modifie les propriétés optiques des tissus superficiels et permet ainsi d'atteindre les informations issues des tissus profonds. Nous avons montré la diminution du coefficient de diffusion à l'aide d'une estimation des propriétés optiques de la peau à deux temps de mesures différents.

Enfin, une autre des possibilités de caractérisation du tissu, étudiée au cours de la thèse, est d'appliquer des méthodes de séparation de sources. Nous avons donc appliqué à des mesures d'AF expérimentales acquises à différents temps d'application d'un ACO des méthodes de NMF et des méthodes tensorielles telles que Parafac. Ces méthodes consomment moins de temps de calcul, mais elles utilisent des modèles linéaires.

Les résultats de ces deux méthodes ont montré qu'on a réussi à identifier les principaux fluorophores présents dans la peau. Cependant, les méthodes tensorielles semblent plus adaptées

à nos données en particulier pour identifier précisément les fluorophores présents dans le milieu étudié.

## Perspectives

D'autres fonctionnalités supplémentaires peuvent être ajoutées à la simulation MC pour améliorer la modélisation de la propagation des photons et rester proche de la réalité physique des tissus biologiques. Pour la fluorescence, l'effet de cascade peut être ajouté à l'algorithme, c'est-à-dire que le nouveau photon émis, suite à un événement de fluorescence, peut subir un événement de fluorescence lui aussi si un fluorophore à son pic d'excitation autour de la longueur d'onde d'émission du photon émis. Le photon émis à une nouvelle longueur d'onde d'émission peut être diffusé et absorbé à cette nouvelle longueur d'onde.

Un autre objectif est de réussir à résoudre le problème inverse en temps réel. Le développement technologie permet de se tourner vers des méthodes de type **réseaux de neurones**.

Les réseaux de neurones comme l'indique le nom dérive de la biologie du système nerveux. Ces méthodes ont besoin d'un apprentissage supervisé, c'est-à-dire, il faut entraîner le réseau à résoudre le problème inverse avec un ensemble de données suffisamment diversifiées [Tsui et al., 2018, Ivančič et al., 2018]. Le manque de diversité des données d'entraînement et l'interprétation des solutions trouvées sont les principaux inconvénients de ces méthodes [Zidouk, 2014].

L'étude de l'estimation des paramètres optiques situés en profondeur en utilisant un ACO peut être approfondie par l'utilisation de différentes épaisseurs de la peau.

Pour le démixage des spectres dans le but d'identifier les fluorophores du tissu, nous avons appliqué des modèles linéaires de séparation de sources avec des contraintes de positivité. Pour améliorer la correspondance avec les données expérimentales, des modèles non linéaires sont à considérer.

## Annexe A

# Modèle Monte Carlo CUDA

### A.1 Généralités sur le code

Un ensemble de fichiers sont donc nécessaires pour la création de l'exécutable.

| Nom de fichiers       | Contenu                                   |
|-----------------------|---|
| cudamcml.h            | Fichier head                              |
| cudamcmlio.cu         | Gestion des données d'entrée et de sortie |
| cudamcmlmain.cu       | Fichier principal ( <i>Main</i> )         |
| cudamcmlmem.cu        | Allocation mémoire                        |
| cudamcmrng.cu         | Aléatoire                                 |
| cudamcmltransport.cu  | Transport des photons                     |
| safeprimes_base32.txt | Générateur de nombre aléatoire            |
| cudart.dll            | Bibliothèque                              |

Tableau A.1 – Organisation des fichiers CUDA

Le code est donc écrit en CUDA/C.

Le fichier de sortie est ensuite mis en forme avec le code Matlab.

Pour d'autres informations, on peut se reporter à [Alerstam et al., 2008].

#### A.1.1 Fichier d'entrée

Le fichier d'entrée de la simulation est présenté ci-dessous. En fonction de la configuration du milieu de propagation et de la géométrie de la sonde, ce fichier doit être modifié avant de lancer la simulation. Ce fichier est lu par `cudamcmlio.cu`.

```
NumberOfRuns      : 1
PhotonNumber      : 10000000
LayerNumber       : 2
LambdaNumber      : 1
SourceDiameter    : 0.06
```

```
FiberNumber      : 4
FiberDiameter    : 0.02
FiberPosition    : 0.04 0.06 0.08 0.1
dr               : 0.01
nr               : 200
dz               : 0.01
nz               : 200
N                : 1.45 1.33 1.33 1
muA              : 20.8000 18.6000
muS              : 820.3255 761.2919
d                : 0.05 1
g                : 0.85 0.85
nFluo            : 1 1
pasLbd           : 5 5
muaf             : 2.2800 4.2400
nLbd             : 5 5
Emi              : 0.0024 1 0.86 0.33 0.08 0.0073 0.5 0.98 1 0.83
LbdEmi           : 600 660 665 675 700 465 500 520 525 550
NumericalA      : 0.22
MaxTime          : 1.0
OutputFileName   : fluo_inf_test.txt
AorB             : A
NumberBlocks     : 500
NumThreadsBlock : 320
NumberThreads    : 160000
```

Les variables pour paramétrer le milieu sont listées :

- LayerNumber indique le nombre de couches
- LambdaNumber indique le nombre de longueurs d'onde
- dr, nr, dz, nz désignent les dimensions du milieu
- N représente un vecteur des indices de réfraction des différents milieux de taille (LayerNumber + 2) : le premier et le dernier chiffres indiquent les indices de réfraction des milieux extérieurs et le(s) chiffre(s) au milieu (en fonction du nombre de couches) indique(nt) les indices de réfraction du milieu de propagation
- muA désigne un vecteur des coefficients d'absorption dépendant de LambdaNumber et de LayerNumber
- muS désigne un vecteur des coefficients de diffusion dépendant de LambdaNumber et de LayerNumber
- muaf désigne un vecteur des coefficients d'absorption des fluorophores dépendant de LambdaNumber et de LayerNumber
- rq désigne un vecteur de rendement quantique dépendant de LayerNumber
- d désigne les épaisseurs des couches implémentées et dépend de LayerNumber
- g indique le coefficient d'anisotropie de chaque couche et dépend de LayerNumber

Les variables pour paramétrer la géométrie de la sonde sont listées :

- `SourceDiameter` indique le diamètre de la source
- `FiberNumber` indique le nombre de distances SD
- `FiberPosition` indique la position des fibres

Les variables pour paramétrer la simulation sont listées ci-dessous :

- `NumberOfRuns` le nombre de simulations par défaut laissé à 1
- `PhotonNumber` le nombre de photons
- `OutputFileName` le nom du fichier de sortie
- `NumberBlocks` le nombre de *blocks* pris en compte sur la carte graphique
- `NumThreadsBlock` le nombre de *threads* par *blocks*
- `NumberThreads` le nombre total de *threads* utilisés

### A.1.2 Fichier de Sortie

Le fichier de sortie de la simulation Monte Carlo donne les spectres d'AF et de RD pour chaque  $D_{1:4}$  en fonction de la longueur d'onde  $\lambda$  :

- Pour l'AF, les résultats sont organisés par vecteur (4 vecteurs au total). Un vecteur représente une distance SD, nommé  $F1 : 4$ . La taille de ces vecteurs dépendent des longueurs d'onde d'émission. Lorsque la simulation est lancée pour plusieurs longueurs d'onde d'excitation simultanées, ce ne sont plus des vecteurs mais des matrices. Les dimensions des matrices dépendent ainsi du nombre de longueurs d'onde d'excitation et d'émission.
- Pour la RD, les résultats s'expriment sous la forme d'un seul vecteur de dimension 4 correspondant aux nombres de distance SD de la sonde optique. Dans le cas où toutes les longueurs d'onde d'excitation sont prises en compte, les résultats sont données dans une matrice dépendant du nombre de distance SD et du nombre de longueurs d'onde d'excitation.

L'utilisation d'un script Matlab permet d'ordonner les spectres obtenus.

### A.1.3 Autres

La documentation de CUDA Toolkit donne énormément d'information les commandes utilisables, sur comment fonctionne un GPU et sur comment configurer le fichier d'exécution. La commande `valgrind` permet de vérifier si des fuites de mémoires sont présentes à la fin lorsqu'on libère la mémoire et si les allocations sont bien prises en compte.

### Plateforme Explor

Pour lancer/utiliser les codes sur la plateforme Explor, les commandes *shell* (programmation *bash*) de Linux et de *slurm* pour soumettre des *jobs* sont nécessaires.

ajouter `-R` pour copier l'intégralité d'un dossier

|                       |  |
|-----------------------|--|
| Commande <i>shell</i> |  |
| ls                    | Affiche le contenu d'un dossier                              |
| cd                    | Permet de changer de dossier ( <i>path</i> )                 |
| df -k                 | Affiche la taille disponible et occupée                      |
| cp                    | Copie un fichier,  |
| mv                    | Bouger un fichier  |
| rm                    | Supprime un fichier  |
| vi + Nom fichier      | Ouvre un fichier   |
| Commande <i>slurm</i> |  |
| squeue                | permet d'afficher la liste des jobs en cours                 |
| sbatch                | + le nom du job permet de soumettre un job sur la plateforme |

Tableau A.2 – Quelques commandes basiques pour la programmation *bash*/commandes *shell* et pour *slurm*.

## Annexe B

# Algorithme de fluorescence

L'algorithme 2 décrit la gestion de la fluorescence dans le code MC au moment de l'absorption du photon. Plusieurs tirages aléatoires sont donc nécessaires. Un premier tirage au sort  $u_1$ , uniforme sur  $\{0, 1\}$ , détermine si l'absorption est réalisée par un absorbeur ou si le photon absorbé émet un nouveau photon fluorescent. Les tirages aléatoires  $u_2$  et  $u_3$ , uniforme sur  $\{0, 1\}$ , déterminent quel fluorophore interagit avec le photon et la longueur d'onde du nouveau photon émis  $\lambda^{emi}$  en utilisant une somme cumulative désignée par  $CS$ .

---

**Algorithme 2** Algorithme de fluorescence intégré à la simulation MC.

---

```
1: Tirage aléatoire pour déterminer si le photon est absorbé par fluorescence ou non
2:  $u_1 \leftarrow rand$ 
3: if  $u_1 \times P_{tot} \leq P_{abs}$  or  $p.lbd > 0$ 
    $p.weight = p.weight - p.weight \times P_{abs}$ 
4: else
5: Tirage aléatoire pour déterminer quel fluorophore sera utilisé
6:  $u_2 \leftarrow rand$ 
7: if  $u_2 < P_F[0]$ 
8:  $ind \leftarrow 0$ 
9: end if
10: for  $i \leftarrow 1, n_F$  do
11:   if  $u_2 \geq P_F[i - 1]$  and  $u_2 < P_F[i - 1] + P_F[i]$ 
12:      $ind \leftarrow i$ 
13:     break
14:   end if
15: end for
16: Tirage aléatoire pour déterminer la longueur d'onde d'émission
17:  $u_3 \leftarrow rand$ 
18: if  $u_3 < CS[ind][0]$ 
19:  $p.lbd \leftarrow \lambda_{emi}[ind][0]$ 
20:  $p.weight \leftarrow 1$ 
21: end if
22: for  $i \leftarrow 1, n_{\lambda,emi}$  do
23:   if  $u_3 \leq CS[ind][i]$  and  $u_3 > CS[ind][i - 1]$ 
24:      $p.lbd \leftarrow \lambda^{emi}[ind][i]$ 
25:      $p.weight \leftarrow 1$ 
26:     break
27:   end if
28: end for
29: end if
```

---

# Bibliographie

- [Abdat et al., 2012] Abdat, F., Amouroux, M., Guerneur, Y., and Blondel, W. (2012). Hybrid feature selection and svm-based classification for mouse skin precancerous stages diagnosis from bimodal spectroscopy. *Optics Express*, 20(1) :228–244.
- [Alerstam et al., 2008] Alerstam, E., Svensson, T., and Andersson-Engels, S. (2008). Parallel computing with graphics processing units for high-speed monte carlo simulation of photon migration. *Journal of Biomedical Optics*, 13(6) :060504.
- [Alexandrakis et al., 1998] Alexandrakis, G., Farrell, T. J., and Patterson, M. S. (1998). Accuracy of the diffusion approximation in determining the optical properties of a two-layer turbid medium. *Applied Optics*, pages 7401 – 7409.
- [Amouroux et al., 2015] Amouroux, M., Blondel, W., and Delconte, A. (2015). Medical device for fibred bimodal optical spectroscopy. Technical Report WO2017093316A1, University of Lorraine.
- [Amouroux et al., 2009] Amouroux, M., Díaz-Ayil, G., and Blondel, W. C. P. M. (2009). Classification of ultraviolet irradiated mouse skin histological stages by bimodal spectroscopy : multiple excitation autofluorescence and diffuse reflectance. *Journal of Biomedical Optics*, pages 014011–1 – 14.
- [Andersson and Bro, 2000] Andersson, C. A. and Bro, R. (2000). The n-way toolbox for matlab. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, 52(1) :1–4.
- [Arridge, 1999] Arridge, S. R. (1999). Optical tomography in medical imaging. *Inverse problems*, 15(2) :R41.
- [Artemyev, 2018] Artemyev, D. (2018). Mathematical model of skin autofluorescence induced by 450 nm laser. *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*, 4(2) :020303.
- [Ash et al., 2017] Ash, C., Dubec, M., Donne, K., and Bashford, T. (2017). Effect of wavelength and beam width on penetration in light-tissue interaction using computational methods. *Lasers in Medical Science*, 32(8) :1909–1918.
- [Bashkatov et al., 2000] Bashkatov, A. N., Genina, E. A., Kochubey, V. I., and Tuchin, V. V. (2000). Effects of scattering particle concentration on light propagation through turbid media. volume 3917, pages 256–263.
- [Blacker et al., 2014] Blacker, T. S., Mann, Z. F., Gale, J. E., Ziegler, M., Bain, A. J., Szabadkai, G., and Duchon, M. R. (2014). Separating nadh and nadph fluorescence in live cells and tissues using flim. *Nature Communications*, 5 :3936.
- [Blondel et al., 2018] Blondel, W., Rakotomanga, P., Khairallah, G., Soussen, C., Feng, W., Zhu, D., Chen, H., Daul, C., Delconte, A., Marchal, F., et al. (2018). Skin optical properties modifications using optical clearing agents : experimental and modelling results. In *2018 International Conference Laser Optics (ICLO)*, pages 507–507. IEEE.

- [Bordier, 2007] Bordier, C. (2007). *Diffusion de la lumière par des tissus biologiques : Etude expérimentale et modélisation par l'équation de transfert radiatif vectorielle*. phdthesis.
- [Borisova et al., 2014] Borisova, E., Angelova, L., and Pavlova, E. (2014). Endogenous and exogenous fluorescence skin cancer diagnostics for clinical applications. *Selected Topics in Quantum Electronics, IEEE Journal of*, 20 :1–12.
- [Borisova et al., 2012a] Borisova, E., Pavlova, P., , T., and Avramov, L. (2012a). Optical biopsy of human skin - a tool for cutaneous tumours' diagnosis. *International Journal Bioautomation Volume 16, Issue 1, 2012, Pages 53-72*, 16(1) :53–72.
- [Borisova et al., 2012b] Borisova, E., Pavlova, P., Pavlova, E., Troyanova, P., and Avramov, L. (2012b). Optical biopsy of human skin—a tool for cutaneous tumours' diagnosis. *Int J Bioautomation*, 16(1) :53–72.
- [Borisova et al., 2008] Borisova, E., Troyanova, P., Pavlova, P., and Avramov, L. (2008). Diagnostics of pigmented skin tumors based on laser-induced autofluorescence and diffuse reflectance spectroscopy. *Quantum Electronics*, 38(6) :597.
- [Boussaïd et al., 2013] Boussaïd, I., Lepagnot, J., and Siarry, P. (2013). A survey on optimization metaheuristics. *Information Sciences*, 237 :82–117. Prediction, Control and Diagnosis using Advanced Neural Computations.
- [Brancaleon et al., 2001] Brancaleon, L., Durkin, A. J., Tu, J. H., Menaker, G., Fallon, J. D., and Kollias, N. (2001). In vivo fluorescence spectroscopy of nonmelanoma skin cancer. *Photochemistry and Photobiology*, 73(2) :178–183.
- [Brancaleon et al., 1999] Brancaleon, L., Lin, G., and Kollias, N. (1999). The in vivo fluorescence of tryptophan moieties in human skin increases with uv exposure and is a marker for epidermal proliferation. *Journal of Investigative Dermatology*, 113(6) :977–982.
- [Bratchenko et al., 2015] Bratchenko, I., Artemyev, D., Myakinin, O., Vrakova, M., Shpunteenko, K., Moryatov, A., Kozlov, S., and Zakharov, V. (2015). Malignant melanoma and basal cell carcinoma detection with 457 nm laser-induced fluorescence. *Journal of Biomedical Photonics & Engineering*, 1(3) :180–185.
- [Calabro and Bigio, 2014] Calabro, K. W. and Bigio, I. J. (2014). Influence of the phase function in generalized diffuse reflectance models : review of current formalisms and novel observations. *Journal of Biomedical Optics*.
- [Calin et al., 2013] Calin, M., Parasca, S., Savastru, R., Calin, R., and Dontu, S. (2013). Optical techniques for the noninvasive diagnosis of skin cancer. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 139.
- [Caspers et al., 2003] Caspers, P. J., Lucassen, G., and Puppels, G. (2003). Combined in vivo confocal raman spectroscopy and confocal microscopy of human skin. *Biophysical journal*, 85(1) :572–580.
- [Chen et al., 2007] Chen, R., Huang, Z., Lui, H., Hamzavi, I., McLean, D. I., Xie, S., and Zeng, H. (2007). Monte carlo simulation of cutaneous reflectance and fluorescence measurements—the effect of melanin contents and localization. *Journal of Photochemistry and Photobiology B : Biology*, 86(3) :219–226.
- [Comon and Jutten, 2010] Comon, P. and Jutten, C., editors (2010). *Handbook of Blind Source Separation, Independent Component Analysis and Applications*. Academic Press.
- [Croce and Bottiroli, 2014] Croce, A. and Bottiroli, G. (2014). Autofluorescence spectroscopy and imaging : a tool for biomedical research and diagnosis. *European Journal of Histochemistry*, 58(4).

- 
- [de Boer et al., 2018] de Boer, L., M. Bydlon, T., van Duijnhoven, F., T. F. D. Vranken Peeters, M.-J., E. Loo, C., Winter-Warnars, H., Sanders, J., Sterenborg, H., Hendriks, B., and J. M. Ruers, T. (2018). Towards the use of diffuse reflectance spectroscopy for real-time in vivo detection of breast cancer during surgery. *Journal of Translational Medicine*, 16(367).
- [Diamond et al., 2003] Diamond, K. R., Farrell, T. J., and Patterson, M. S. (2003). Measurement of fluorophore concentrations and fluorescence quantum yield in tissue-simulating phantoms using three diffusion models of steady-state spatially resolved fluorescence. *Physics in Medicine & Biology*, 48(24) :4135.
- [Ding et al., 2006] Ding, H., Lu, J. Q., Wooden, W. A., Kragel, P. J., and Hu, X.-H. (2006). Refractive indices of human skin tissues at eight wavelengths and estimated dispersion relations between 300 and 1600 nm. *Physics in Medicine & Biology*, 51(6) :1479.
- [Dodgson et al., 1986] Dodgson, J. T., Mandelis, A., and Andreetta, C. (1986). Optical-absorption coefficient measurements in solids and liquids using correlation photoacoustic spectroscopy. *Canadian Journal of Physics*, 64(9) :1074–1080.
- [Dolin et al., 2012] Dolin, L. S., Gelikonov, G., Gelikonov, V., Gladkova, N. D., Iksanov, R. R., Kamensky, V., Kuranov, R. S., Shakhova, N. M., and Tuchin, I. (2012). *Handbook of Coherent-Domain Optical Methods : Biomedical Diagnostics, Environmental Monitoring and Material Science.*, volume 2. Springer-Verlag.
- [Du Le et al., 2017] Du Le, V. N., Provias, J., Murty, N., Patterson, M. S., Nie, Z., Hayward, J. E., Farrell, T. J., McMillan, W., Zhang, W., and Fang, Q. (2017). Dual-modality optical biopsy of glioblastomas multiforme with diffuse reflectance and fluorescence : ex vivo retrieval of optical properties. *Journal of Biomedical Optics*, 22(2) :027002.
- [Dubois et al., 2018a] Dubois, A., Levecq, O., Azimani, H., Davis, A., Ogien, J., Siret, D., and Barut, A. (2018a). Line-field confocal time-domain optical coherence tomography with dynamic focusing. *Optics express*, 26(26) :33534–33542.
- [Dubois et al., 2018b] Dubois, A., Levecq, O., Azimani, H., Siret, D., Barut, A., Suppa, M., Del Marmol, V., Malveyh, J., Cinotti, E., Rubegni, P., et al. (2018b). Line-field confocal optical coherence tomography for high-resolution noninvasive imaging of skin tumors. *Journal of Biomedical Optics*, 23(10) :106007.
- [Farrell et al., 1992] Farrell, T. J., Patterson, M. S., and Wilson, B. (1992). A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties in vivo. *Med. Phys.*, 19 :879 – 888.
- [Feng et al., 2019] Feng, X., Fox, M. C., Reichenberg, J. S., Lopes, F. C., Sebastian, K. R., Markey, M. K., and Tunnell, J. W. (2019). Biophysical basis of skin cancer margin assessment using raman spectroscopy. *Biomedical optics express*, 10(1) :104–118.
- [Foschum et al., 2011] Foschum, F., Jäger, M., and Kienle, A. (2011). Fully automated spatially resolved reflectance spectrometer for the determination of the absorption and scattering in turbid media. *Review of Scientific Instruments*, 82(10) :103104.
- [Foundation, 2012] Foundation, T. S. C. (2012). The skin cancer foundation - le carcinome épidermoïde cutané.
- [Fredriksson et al., 2012] Fredriksson, I., Larsson, M., and Strömberg, T. (2012). Inverse Monte Carlo method in a multilayered tissue model for diffuse reflectance spectroscopy. *Journal of Biomedical Optics*, pages 047004–1 – 12.

- [Gardner et al., 1996] Gardner, C. M., Jacques, S. L., and Welch, A. J. (1996). Fluorescence spectroscopy of tissue : recovery of intrinsic fluorescence from measured fluorescence. *Applied optics*, 35(10) :1780–1792.
- [Genin et al., 2019] Genin, V. D., Rakotomanga, P., Zaytsev, S. M., Genina, E. A., Lazareva, E. N., Khairallah, G., Amouroux, M., Soussen, C., Chen, H., Feng, W., et al. (2019). Research and development of effective optical technologies for diagnostics in dermatology. In *Saratov Fall Meeting 2018 : Optical and Nano-Technologies for Biology and Medicine*, volume 11065, page 1106505. International Society for Optics and Photonics.
- [Gladytz et al., 2017] Gladytz, T., Hoppe, A., Cantow, K., Pohlmann, A., Flemming, B., Niendorf, T., Seeliger, E., and Grosenick, D. (2017). Reliable determination of tissue optical properties from spatially resolved reflectance. In *Design and Quality for Biomedical Technologies X*, volume 10056, page 100560W. International Society for Optics and Photonics.
- [Grosenick et al., 2013] Grosenick, D., Steinkellner, O., Wabnitz, H., Macdonald, R., Niendorf, T., Cantow, K., Flemming, B., and Seeliger, E. (2013). Near-infrared spectroscopy of renal tissue in vivo. In *Optical Tomography and Spectroscopy of Tissue X*, volume 8578, page 85781P. International Society for Optics and Photonics.
- [Guo et al., 2016] Guo, L., Shi, R., Zhang, C., Zhu, D., Ding, Z., and Li, P. (2016). Optical coherence tomography angiography offers comprehensive evaluation of skin optical clearing in vivo by quantifying optical properties and blood flow imaging simultaneously. *J. Biomed. Optics*, 21(8) :1–6.
- [Hammer et al., 2001] Hammer, M., Yaroslavsky, A. N., and Schweitzer, D. (2001). A scattering phase function for blood with physiological haematocrit. *Physics in Medicine & Biology*, 46(3) :N65.
- [Hayakawa et al., 2001] Hayakawa, C. K., Spanier, J., Bevilacqua, F., Dunn, A. K., You, J. S., Tromberg, B. J., and Venugopalan, V. (2001). Perturbation Monte Carlo methods to solve inverse photon migration problems in heterogenous tissues. *Optics Letters*, pages 1335 – 1337.
- [Hennessy et al., 2015] Hennessy, R., Markey, M. K., and Tunnell, J. W. (2015). Impact of one-layer assumption on diffuse reflectance spectroscopy of skin. *Journal of Biomedical Optics*, pages 027001–(1–6).
- [Hennessy et al., 2013] Hennessy, R. J., Lim, S. L., Markey, M. K., and Tunnell, J. W. (2013). Monte carlo lookup table-based inverse model for extracting optical properties from tissue-simulating phantoms using diffuse reflectance spectroscopy. *Journal of biomedical optics*, 18(3) :037003.
- [Henyey and Greenstein, 1941] Henyey, L. and Greenstein, J. L. (1941). Diffuse radiation in Galaxy. *Astrophysical Journal*, 93 :70–83.
- [Hidović-Rowe and Claridge, 2005] Hidović-Rowe, D. and Claridge, E. (2005). Modelling and validation of spectral reflectance for the colon. *Physics in Medicine & Biology*, pages 1071 – 1093.
- [Hidović-Rowe et al., 2006] Hidović-Rowe, D., Claridge, E., Ismail, T., Taniere, P., and Graham, J. (2006). Analysis of multispectral images of the colon to reveal histological changes characteristic of cancer. *Medical Image Understanding Analysis MIUA*, 1 :66–70.
- [INC, 2018a] INC (2018a). Institut national du cancer, diagnostic d’un mélanome de la peau.
- [INC, 2018b] INC (2018b). Institut national du cancer, examen anatomopathologique.

- 
- [Ivančić et al., 2018] Ivančić, M., Naglič, P., Pernuš, F., Likar, B., and Bürmen, M. (2018). Efficient estimation of subdiffusive optical parameters in real time from spatially resolved reflectance by artificial neural networks. *Optics letters*, 43(12) :2901–2904.
- [Jacques, 2013] Jacques, S. L. (2013). Corrigendum : Optical properties of biological tissues : a review. *Physics in Medicine and Biology*, pages R37–R61.
- [Jayanthi et al., 2011] Jayanthi, J., Narayanan, S., Stephen, M., Philip, E., and Beena, V. (2011). Comparative evaluation of the diagnostic performance of autofluorescence and diffuse reflectance in oral cancer detection : A clinical study. *Journal of biophotonics*, 4(10) :696–706.
- [Kanick et al., 2011] Kanick, S. C., Gamm, U. A., Schouten, M., Sterenborg, H. J. C. M., Robinson, D. J., and Amelink, A. (2011). Measurement of the reduced scattering coefficient of turbid media using single fiber reflectance spectroscopy : fiber diameter and phase function dependence. *Biomedical optics express*.
- [Karlsson et al., 2012] Karlsson, H., Fredriksson, I., Larsson, M., and Strömberg, T. (2012). Inverse Monte Carlo for estimation of scattering and absorption in liquid optical phantoms. *Optics express*, pages 12233–12246.
- [Karlsson et al., 2011] Karlsson, H., Pettersson, A., Larsson, M., and Strömberg, T. (2011). Can a one-layer optical skin model including melanin and inhomogeneously distributed blood explain spatially resolved diffuse reflectance spectra ? In *Optical Tomography and Spectroscopy of Tissue IX*, volume 7896, page 78962Y. International Society for Optics and Photonics.
- [Katika and Pilon, 2006] Katika, K. M. and Pilon, L. (2006). Steady-state directional diffuse reflectance and fluorescence of human skin. *Applied Optics*, 45(17) :4174–4183.
- [Keller et al., 2018] Keller, A., Bialecki, P., Wilhelm, T., and Vetter, M. (2018). Diffuse reflectance spectroscopy of human liver tumor specimens - towards a tissue differentiating optical biopsy needle using light emitting diodes. *Biomedical Optics Express*, 9(3) :1069–1081.
- [Khairallah et al., 2017] Khairallah, G., Amouroux, M., Rakotomanga, P., Soussen, C., Marchal, F., Delconte, A., Feng, W., Zhu, D., and Blondel, W. (2017). Preliminary study investigating depth sensitivity of spatially resolved bimodal spectroscopy combined to optical clearing agents on a human skin based-hybrid model. In *Asia Communications and Photonics Conference*, pages S4I–3. Optical Society of America.
- [Kholodtsova, 2016] Kholodtsova, M. (2016). *Spectral, spatial and temporal properties of multi-layered epithelial tissue in vivo in presence of metal nanoparticles in multimodal spectroscopy*. PhD thesis, Université de Lorraine - General Physics Institute, Russian Academy of Sciences.
- [Kholodtsova et al., 2016] Kholodtsova, M. N., Daul, C., Loschenov, V. B., and Blondel, W. C. P. M. (2016). Spatially and spectrally resolved particle swarm optimization for precise optical property estimation using diffuse-reflectance spectroscopy. *Optics Express*, 24(12) :12682–12700.
- [Kienle and Glanzmann, 1999] Kienle, A. and Glanzmann, T. (1999). In vivo determination of the optical properties of muscle with time-resolved reflectance using a layered model. *Phys. Med. Biol.*, pages 2689 – 2702.
- [Kienle et al., 1998] Kienle, A., Patterson, M. S., Dögnitz, N., Bays, R., Wagnières, G., and van den Bergh, H. (1998). Noninvasive determination of the optical properties of two-layered turbid media. *Applied optics*, pages 779 – 791.
- [Kinnunen et al., 2006] Kinnunen, M., Zhao, Z., and Myllylä, R. (2006). Glucose-induced changes in the optical properties of intralipid. *Optics and Spectroscopy*, 101(1) :54–59.

- [Kollias et al., 2002] Kollias, N., Zonios, G., and Stamatas, G. (2002). Fluorescence spectroscopy of skin. *Vibrational Spectroscopy*, 28 :17–23.
- [Kozina et al., 2012] Kozina, A. M., Genina, E. A., Terentyuk, G. S., Terentyuk, A. G. and Bashkatov, A. N., Tuchin, V. V., and Khlebtsov, B. N. (2012). The development of skin immersion clearing method for increasing of laser exposure efficiency on subcutaneous objects. *SPIE Proc.*, 8427.
- [Krishnaswamy and Baranoski, 2004] Krishnaswamy, A. and Baranoski, G. V. (2004). A biophysically-based spectral model of light interaction with human skin. In *Computer Graphics Forum*, volume 23, pages 331–340. Wiley Online Library.
- [Kubelka and Munk, 1931] Kubelka, P. and Munk, F. (1931). An article on optics of paint layers. *Z. Tech. Phys*, 12(593-601).
- [LaCroix and Haidekker, 2009] LaCroix, J. T. and Haidekker, M. A. (2009). Quantifying light scattering with single-mode fiber -optic confocal microscopy. *BMC Medical Imaging*, 9 :19.
- [Lee and Seung, 1999] Lee, D. D. and Seung, H. S. (1999). Learning the parts of objects by non-negative matrix factorization. *Nature*, 401 :788–791.
- [Lee and Seung, 2001] Lee, D. D. and Seung, H. S. (2001). Algorithms for non-negative matrix factorization. In *Advances in neural information processing systems*, pages 556–562.
- [Liao and Tseng, 2014] Liao, Y.-K. and Tseng, S.-H. (2014). Reliable recovery of the optical properties of multi-layer turbid media by iteratively using a layered diffusion model at multiple source-detector separations. *Biomedical optics express*, pages 975 – 989.
- [Liemert and Kienle, 2011] Liemert, A. and Kienle, A. (2011). Analytical solution of the radiative transfer equation for infinite-space fluence. *Physical Review A*, 83(1) :015804.
- [Liemert and Kienle, 2012] Liemert, A. and Kienle, A. (2012). Analytical approach for solving the radiative transfer equation in two-dimensional layered media. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 113(7) :559–564.
- [Liemert and Kienle, 2013] Liemert, A. and Kienle, A. (2013). Exact and efficient solution of the radiative transport equation for the semi-infinite medium. *Scientific Reports*, 3 :2018.
- [Lim et al., 2014] Lim, L., Nichols, B. S., Migden, M. R., Rajaram, N., Reichenberg, J., Markey, M. K., Ross, M. I., and Tunnell, J. W. (2014). Clinical study of noninvasive in vivo melanoma and nonmelanoma skin cancers using multimodal spectral diagnosis. *Journal of Biomedical Optics*, 19(11) :117003.
- [Lister et al., 2012] Lister, T., Wright, P. A., and Chappell, P. H. (2012). Review of optical properties of human skin. *Journal of Biomedical Optics*, pages 090901–1 – 15.
- [Liu, 2012] Liu, H. (2012). *Caractérisation de tissus cutanés cicatriciels hypertrophiques par spectroscopie multi-modalités in vivo : instrumentation, extraction et classification de données multi-dimensionnelles*. PhD thesis, Université de Lorraine.
- [Liu et al., 2012] Liu, H., Gisquet, H., Blondel, W. C. P. M., and Guillemain, F. (2012). Bimodal spectroscopy for in vivo characterization of hypertrophic skin tissue : pre-clinical experimentation, data selection and classification. *Biomedical optics express*, pages 3278 – 3290.
- [Liu and Ramanujam, 2006] Liu, Q. and Ramanujam, N. (2006). Sequential estimation of optical properties of a two-layered epithelial tissue model from depth-resolved ultraviolet-visible diffuse reflectance spectra. *Applied optics*, 45(19) :4776–4790.

- 
- [Liu and Ramanujam, 2007] Liu, Q. and Ramanujam, N. (2007). Scaling method for fast monte carlo simulation of diffuse reflectance spectra from multilayered turbid media. *JOSA A*, 24(4) :1011–1025.
- [Liu et al., 2003] Liu, Q., Zhu, C., and Ramanujam, N. (2003). Experimental validation of monte carlo modeling of fluorescence in tissues in the uv-visible spectrum. *Journal of Biomedical Optics*, 8(2) :223–237.
- [Lui et al., 2012] Lui, H., Zhao, J., McLean, D., and Zeng, H. (2012). Real-time raman spectroscopy for in vivo skin cancer diagnosis. *Cancer research*, 72(10) :2491–2500.
- [Martelli et al., 2010] Martelli, F., Del Bianco, S., Ismaelli, A., and Zaccanti, G. (2010). *Light Propagation through Biological Tissue and Other Diffusive Media THEORY, SOLUTIONS, AND SOFTWARE*. Spie edition.
- [Martelli et al., 2012] Martelli, F., Del Bianco, S., and Zaccanti, G. (2012). Retrieval procedure for time-resolved near-infrared tissue spectroscopy based on the optimal estimation method. *Physics in Medicine and Biology*, pages 2915–2929.
- [Masters et al., 1998] Masters, B., So, P., and Gratton, E. (1998). Optical biopsy of in vivo human skin : multi-photon excitation microscopy. *Lasers in Medical Science*, 13(3) :196–203.
- [Mazlin et al., 2017] Mazlin, V., Dalimier, E., Grieve, K. F., Irsch, K., Sahel, J.-A., Fink, M., and Boccarda, A. C. (2017). Non-contact full-field optical coherence tomography : a novel tool for in vivo imaging of the human cornea (conference presentation). In *Ophthalmic Technologies XXVII*, volume 10045, page 1004519. International Society for Optics and Photonics.
- [Meglinski and Matcher, 2002] Meglinski, I. V. and Matcher, S. J. (2002). Quantitative assessment of skin layers absorption and skin reflectance spectra simulation in the visible and near-infrared spectral regions. *Physiol. Meas.*, pages 741 – 753.
- [Meinhardt et al., 2008] Meinhardt, M., Krebs, R., Anders, A., Heinrich, U., and Tronnier, H. (2008). Wavelength-dependent penetration depths of ultraviolet radiation in human skin. *Journal of Biomedical Optics*, 13(4) :044030.
- [Mie, 1908] Mie, G. (1908). Beiträge zur optik trüber medien, speziell kolloidaler metallösungen. *Ann. Phys. (Leipzig)*, 25 :377–445.
- [Migacheva et al., 2010] Migacheva, E., Pravdin, A., and Tuchin, V. (2010). Alterations in autofluorescence signal from rat skin ex vivo under optical immersion clearing. *Journal of Innovative Optical Health Sciences*, 3(03) :147–152.
- [Milej et al., 2014] Milej, D., Gerega, A., Wabnitz, H., and Liebert, A. (2014). A Monte Carlo study of fluorescence generation probability in a two-layered tissue model. *Physics in Medicine and Biology*, pages 1407–1424.
- [Mogensen and Jemec, 2007] Mogensen, M. and Jemec, G. B. E. (2007). Diagnosis of nonmelanoma skin cancer/keratinocyte carcinoma : a review of diagnostic accuracy of nonmelanoma skin cancer diagnostic tests and technologies. *Dermatologic surgery : official publication for American Society for Dermatologic Surgery [et al.]*, 33 10 :1158–74.
- [Montcuquet et al., 2011] Montcuquet, A., Hervé, L., Navarro, F., Dinten, J., and Mars, J. I. (2011). In vivo fluorescence spectra unmixing and autofluorescence removal by sparse nonnegative matrix factorization. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 58(9) :2554–2565.
- [Montcuquet et al., 2010] Montcuquet, A.-S., Hervé, L., Navarro, F. P., Dinten, J.-M., and Mars, J. I. (2010). Nonnegative matrix factorization : a blind spectra separation method for *in vivo* fluorescent optical imaging. *Journal of Biomedical Optics*, 15(May) :1 – 14 – 14.

- [Mordon, 2005] Mordon, S. (2005). Principes et applications de la tomographie cohérence optique (oct) en dermatologie. *Keratin - actualités en recherche dermatologique*, No.10.
- [Nachbar et al., 1994] Nachbar, F., Stolz, W., Merkle, T., Cognetta, A. B., Vogt, T., Landthaler, M., Bilek, P., Braun-Falco, O., and Plewig, G. (1994). The abcd rule of dermatoscopy : high prospective value in the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 30(4) :551–559.
- [Naglič et al., 2016] Naglič, P., Pernuš, F., Likar, B., and Bürmen, M. (2016). Estimation of optical properties by spatially resolved reflectance spectroscopy in the subdiffusive regime. *Journal of Biomedical Optics*, 21(9) :095003.
- [Neher et al., 2009] Neher, R. A., Mitkovski, M., Kirchhoff, F., Neher, E., Theis, F. J., and Zeug, A. (2009). Blind source separation techniques for the decomposition of multiply labeled fluorescence images. *Biophysics Journal*, 96(9) :3791–3800.
- [Nie et al., 2015] Nie, Z., Nguyen Du Le, V., Cappon, D., Provias, J., Murty, N., Hayward, J. E., Farrell, T. J., Patterson, M. S., McMillan, W., and Fang, Q. (2015). Integrated Time-resolved Fluorescence and Diffuse Reflectance Spectroscopy Instrument for Intraoperative Detection of Brain Tumor Margin. *IEEE Journal of selected topics in quantum electronics*.
- [Ninni et al., 2010] Ninni, P. D., Martelli, F., and Zaccanti, G. (2010). The use of india ink in tissue-simulating phantoms. *Optics Express*, 18(26) :26854–26865.
- [Nocedal and Wright, 1999] Nocedal, J. and Wright, S. J. (1999). *Numerical Optimization*. Springer.
- [Palmer and Ramanujam, 2008] Palmer, G. M. and Ramanujam, N. (2008). Monte-carlo-based model for the extraction of intrinsic fluorescence from turbid media. *Journal of Biomedical Optics*, 13(2) :024017.
- [Pengo et al., 2013] Pengo, T., Muñoz-Barrutia, A., Zudaire, I., and Ortiz-de Solorzano, C. (2013). Efficient blind spectral unmixing of fluorescently labeled samples using multi-layer non-negative matrix factorization. *PLoS One*, 8(11).
- [Pires et al., 2016] Pires, L., Demidov, V., Vitkin, I. A., Bagnato, V. S., Kurachi, C., and Wilson, B. C. (2016). Optical clearing of melanoma in vivo : characterization by diffuse reflectance spectroscopy and optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*, 21(8) :081210.
- [Prahl and Jacques, 2018] Prahl, S. and Jacques, S. (2018). Omlc.
- [Prahl, 1995] Prahl, S. A. (1995). The adding-doubling method. In *Optical-thermal response of laser-irradiated tissue*, pages 101–129. Springer.
- [Péry, 2007] Péry, E. (2007). *Spectroscopie bimodale en diffusion élastique et autofluorescence résolue spatialement : instrumentation, modélisation des interactions lumière-tissus et application à la caractérisation de tissus biologiques ex vivo et in vivo pour la détection de cancers*. phdthesis, Institut National Polytechnique de Lorraine.
- [Péry et al., 2009a] Péry, E., Blondel, W. C. P. M., Didelon, J., Leroux, A., and Guillemain, F. (2009a). Simultaneous Characterization of Optical and Rheological Properties of Carotid Arteries via Bimodal Spectroscopy : Experimental and Simulation Results. *IEEE transactions on biomedical engineering*, pages 1267 – 1276.
- [Péry et al., 2009b] Péry, E., Blondel, W. C. P. M., and Thomas, C. (2009b). Monte Carlo modeling of multilayer phantoms with multiple fluorophores : simulation algorithm and experimental validation. *Journal of Biomedical Optics*, pages 024048–1 – 11.

- 
- [Radosevich et al., 2015] Radosevich, A. J., Eshein, A., Nguyen, T.-Q., and Backman, V. (2015). Subdiffusion reflectance spectroscopy to measure tissue ultrastructure and microvasculature : model and inverse algorithm. *Journal of Biomedical Optics*, 20(9) :097002.
- [Rajaram et al., 2008] Rajaram, N., Nguyen, T. H., and Tunnell, J. W. (2008). Lookup table-based inverse model for determining optical properties of turbid media. *Journal of Biomedical Optics*.
- [Rakotomanga et al., 2018a] Rakotomanga, P., Khairallah, G., Amouroux, M., Feng, W., Zhu, D., Chen, H., Daul, C., Delconte, A., Marchal, F., Soussen, C., et al. (2018a). Spatially resolved autofluorescence and diffuse reflectance spectroscopy-based evaluation of human skin optical properties subjected to optical clearing agents. In *8th International Symposium Europe-China Stem Cells and Regenerative Medicine*.
- [Rakotomanga et al., 2017] Rakotomanga, P., Soussen, C., and Blondel, W. C. (2017). Influence of cost functions and optimization methods on solving the inverse problem in spatially resolved diffuse reflectance spectroscopy. In *Dynamics and Fluctuations in Biomedical Photonics XIV*, volume 10063, page 100630Y. International Society for Optics and Photonics.
- [Rakotomanga et al., 2018b] Rakotomanga, P., Soussen, C., Khairallah, G., Amouroux, M., Marchal, F., Delconte, A., Chen, H., Feng, W., Zhu, D., and Blondel, W. (2018b). Estimation des propriétés optiques de peau humaine modifiées par un agent de clarification optique et mesurées par spectroscopie tissulaire bimodale.
- [Rakotomanga et al., 2019] Rakotomanga, P., Soussen, C., Khairallah, G., Amouroux, M., Zaytsev, S., Genina, E., Chen, H., Delconte, A., Daul, C., Tuchin, V., and Blondel, W. (2019). Source separation approach for the analysis of spatially resolved multiply excited autofluorescence spectra during optical clearing of ex vivo skin. *Biomedical Optics Express*, 10(7).
- [Rapin, 2014] Rapin, J. (2014). *Sparse decompositions for advanced data analysis of hyperspectral data in biological applications*. Theses, Université Paris Sud - Paris XI.
- [Rayleigh, 1871] Rayleigh, J. W. S. B. (1871). *On the scattering of light by small particles*.
- [Sdobnov et al., 2018] Sdobnov, A. Y., Darvin, M. E., Genina, E. A., Bashkatov, A. N., Lademann, J., and Tuchin, V. V. (2018). Recent progress in tissue optical clearing for spectroscopic application. *Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 197 :216–229.
- [Shaikh et al., 2017] Shaikh, R., Prabitha, V., Dora, T., Chopra, S., Maheshwari, A., Deodhar, K., Rekhi, B., Sukumar, N., Krishna, C., and Subhash, N. (2017). A comparative evaluation of diffuse reflectance and raman spectroscopy in the detection of cervical cancer. *Journal of Biophotonics*, 10(2) :242–252.
- [Sharma et al., 2013] Sharma, M., Hennessy, R., Markey, M. K., and Tunnell, J. W. (2013). Verification of a two-layer inverse Monte Carlo absorption model using multiple source-detector separation diffuse reflectance spectroscopy. *Biomedical optics express*, pages 40 – 53.
- [Sharma et al., 2014] Sharma, M., Marple, E., Reichenberg, J., and Tunnell, J. W. (2014). Design and characterization of a novel multimodal fiber-optic probe and spectroscopy system for skin cancer applications. *Review of Scientific Instruments*, 85(8) :083101.
- [Sharma and Banerjee, 2005] Sharma, S. and Banerjee, S. (2005). Volume concentration and size dependence of diffuse reflectance in a fractal soft tissue model. *Medical physics*, 32(6Part1) :1767–1774.

- [Spliethoff et al., 2016a] Spliethoff, J. W., de Boer, L. L., Meier, M. A., Prevoo, W., de Jong, J., Kuhlmann, K., Bydlon, T. M., Sterenborg, H. J., Hendriks, B. H., and Ruers, T. J. (2016a). In vivo characterization of colorectal metastases in human liver using diffuse reflectance spectroscopy : toward guidance in oncological procedures. *Journal of Biomedical Optics*, 21(9) :097004.
- [Spliethoff et al., 2016b] Spliethoff, J. W., Prevoo, W., Meier, M. A., de Jong, J., Klomp, H. M., Evers, D. J., Sterenborg, H. J., Lucassen, G. W., Hendriks, B. H., and Ruers, T. J. (2016b). Real-time in vivo tissue characterization with diffuse reflectance spectroscopy during trans-thoracic lung biopsy : a clinical feasibility study. *Clinical cancer research*, 22(2) :357–365.
- [Storchi, 1984] Storchi, P. (1984). Application of the pn-method to the calculation of the anular flux of gamma rays. *Journal of computational physics*, 55(1) :81–97.
- [Tian, 2013] Tian, D. (2013). A review of convergence analysis of particle swarm optimization. *International Journal of Grid and Distributed Computing*, 6 :117–128.
- [Toussaint, 2016] Toussaint, M. (2016). *Thérapies par rayonnements appliquées au cas du glioblastome : Intérêt du suivi par spectroscopie et imagerie de diffusion par résonance magnétique Vers une thérapie bimodale*. phdthesis, Université de Lorraine.
- [Tseng et al., 2008] Tseng, S.-H., Hayakawa, C. K., Spanier, J., and Durkin, A. J. (2008). Determination of Optical Properties of Superficial Volumes of Layered Tissue Phantoms. *IEEE transactions on biomedical engineering*, pages 335 – 339.
- [Tseng et al., 2011] Tseng, T.-Y., Chen, C.-Y., Li, Y.-S., and Sung, K.-B. (2011). Quantification of the optical properties of two-layered turbid media by simultaneously analyzing the spectral and spatial information of steady-state diffuse reflectance spectroscopy. *Biomedical optics express*, pages 901 – 914.
- [Tsui et al., 2018] Tsui, S.-Y., Wang, C.-Y., Huang, T.-H., and Sung, K.-B. (2018). Modelling spatially-resolved diffuse reflectance spectra of a multi-layered skin model by artificial neural networks trained with monte carlo simulations. *Biomedical optics express*, 9(4) :1531–1544.
- [Tuchin, 2007] Tuchin, V. (2007). *Tissue optics : light scattering methods and instruments for medical diagnosis*, volume 642. SPIE press Bellingham.
- [Valette and Bourg-Heckly, 2002] Valette, S. and Bourg-Heckly, G. (2002). La spectroscopie tissulaire appliquée à la détection des états précancéreux et cancéreux précoces, chapter 2. *HERMES, Lavoisier*, pages 103–168.
- [Van de Hulst and Graaff, 1996] Van de Hulst, H. and Graaff, R. (1996). Aspects of similarity in tissue optics with strong forward scattering. *Physics in Medicine & Biology*, 41(11) :2519.
- [Van Gemert et al., 1989] Van Gemert, M., Jacques, S. L., Sterenborg, H., and Star, W. (1989). Skin optics. *IEEE Transactions on biomedical engineering*, 36(12) :1146–1154.
- [Van Staveren et al., 1991] Van Staveren, H. J., Moes, C. J., van Marie, J., Prahl, S. A., and Van Gemert, M. J. (1991). Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400–1100 nm. *Applied optics*, 30(31) :4507–4514.
- [Vargas et al., 2008] Vargas, G., Barton, J. K., and Welch, A. J. (2008). Use of hyperosmotic chemical agent to improve the laser treatment of cutaneous vascular lesions. *Journal of Biomedical Optics*, 13(2) :021114.
- [Vargas et al., 1999] Vargas, G., Chan, E. K., Barton, J. K., Rylander III, H. G., and Welch, A. J. (1999). Use of an agent to reduce scattering in skin. *Lasers in Surgery and Medicine*, 24(2) :133–141.

- 
- [Vargas and Niklasson, 1997] Vargas, W. E. and Niklasson, G. A. (1997). Applicability conditions of the kubelka–munk theory. *Applied optics*, 36(22) :5580–5586.
- [Volynskaya et al., 2008] Volynskaya, Z. I., Haka, A. S., Bechtel, K. L., Fitzmaurice, M., Shenk, R., Wang, N., Nazemi, J., Dasari, R. R., and Feld, M. S. (2008). Diagnosing breast cancer using diffuse reflectance spectroscopy and intrinsic fluorescence spectroscopy. *Journal of biomedical optics*, 13(2) :024012.
- [Vrabie et al., 2007] Vrabie, V., Gobinet, C., Piot, O., Tfayli, A., Bernard, P., Huez, R., and Manfait, M. (2007). Independent component analysis of raman spectra : Application on paraffin-embedded skin biopsies. *Biomedical Signal Processing and Control*, 2(1) :40–50.
- [Wagnieres et al., 1998] Wagnieres, G. A., Star, W. M., and Wilson, B. C. (1998). In vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications. *Photochemistry and photobiology*, 68 :603–632.
- [Wang and Jacques, 1993] Wang, L. and Jacques, S. L. (1993). Hybrid model of monte carlo simulation and diffusion theory for light reflectance by turbid media. *JOSA A*, 10(8) :1746–1752.
- [Wang et al., 1995] Wang, L., Jacques, S. L., and Zheng, L. (1995). MCML - Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, ELSEVIER, 47 :131–146.
- [Wang, 1998] Wang, L. V. (1998). Rapid modeling of diffuse reflectance of light in turbid slabs. *JOSA A*, 15(4) :936–944.
- [Watté et al., 2015a] Watté, R., Aernouts, B., Van Beers, R., Herremans, E., Tri Ho, Q., Verboven, P., Nicolai, B., and Saeys, W. (2015a). Modeling the propagation of light in realistic tissue structures with MMC-fpf : a meshed Monte Carlo method with free phase function. *Optics express*, pages 17467 – 17486.
- [Watté et al., 2015b] Watté, R., Aernouts, B., Van Beers, R., and Saeys, W. (2015b). Robust metamodel-based inverse estimation of bulk optical properties of turbid media from spatially resolved diffuse reflectance measurements.
- [Welch et al., 1997] Welch, A., Gardner, C., Richards-Kortum, R., Chan, E., Criswell, G., Pfeffer, J., and Warren, S. (1997). Propagation of fluorescent light. *Lasers in Surgery and Medicine : The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery*, 21(2) :166–178.
- [Welch and Richards-Kortum, 1995] Welch, A. and Richards-Kortum, R. (1995). Monte carlo simulation of the propagation of fluorescent light. *Laser-induced interstitial thermotherapy*, pages 174–189.
- [Wen et al., 2009] Wen, X., Tuchin, V. V., Luo, Q., and Zhu, D. (2009). Controlling the scattering of intralipid by using optical clearing agents. *Physics in Medicine and Biology*, 54(22) :6917.
- [Wilson and Jacques, 1990] Wilson, B. C. and Jacques, S. L. (1990). Optical reflectance and transmittance of tissues : Principles and applications. *journal of quantum electronics*, pages 2186 – 2199.
- [Yudovsky and Pilon, 2010] Yudovsky, D. and Pilon, L. (2010). Rapid and accurate estimation of blood saturation, melanin content, and epidermis thickness from spectral diffuse reflectance. *Applied optics*.

- [Zeng et al., 1997] Zeng, H., MacAulay, C., McLean, D. I., and Palcic, B. (1997). Reconstruction of in vivo skin autofluorescence spectrum from microscopic properties by monte carlo simulation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B : Biology*, 38(2-3) :234–240.
- [Zhang et al., 2005] Zhang, R., Verkruysse, W., Choi, B., Viator, J. A., Jung, B., Svaasand, L. O., Aguilar, G., and Nelson, J. S. (2005). Determination of human skin optical properties from spectrophotometric measurements based on optimization by genetic algorithms. *Journal of Biomedical Optics*, pages 024030– 1 – 11.
- [Zhang et al., 2017] Zhang, Y., Liu, H., Tang, J., Li, Z., Zhou, X., Zhang, R., Chen, L., Mao, Y., and Li, C. (2017). Noninvasively imaging subcutaneous tumor xenograft by a handheld raman detector, with the assistance of an optical clearing agent. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9(21) :17769–17776.
- [Zhou et al., 2014] Zhou, G., Cichocki, A., Zhao, Q., and Xie, S. (2014). Nonnegative matrix and tensor factorizations : An algorithmic perspective. *IEEE Sig. Proc. Mag.*, 31(3) :54–65.
- [Zhu and Liu, 2013] Zhu, C. and Liu, Q. (2013). Review of Monte Carlo modeling of light transport in tissues. *Journal of Biomedical Optics*, pages 050902–1 – 12.
- [Zhu et al., 2008] Zhu, C., Palmer, G., Breslin, T., Harter, J., and Ramanujam, N. (2008). Diagnosis of breast cancer using fluorescence and diffuse reflectance spectroscopy : A monte-carlo-model-based approach. *Journal of Biomedical Optics*, 13 :034015.
- [Zhu et al., 2013] Zhu, D., Larin, K. V., Luo, Q., and Tuchin, V. V. (2013). Recent progress in tissue optical clearing. *Laser & photonics reviews*, 7(5) :732–757.
- [Zidouk, 2014] Zidouk, A. (2014). *Recovering the optical properties of a tissue using maximum a posteriori based estimation*. PhD thesis, University of Birmingham.
- [Zonios and Dimou, 2011] Zonios, G. and Dimou, A. (2011). Modeling diffuse reflectance from homogeneous semi-infinite turbid media for biological tissue applications : a Monte Carlo study. *Biomedical optics express*, pages 3284 – 3294.



## Résumé

La détection de tissus biologiques pré-cancéreux au cours d'un diagnostic clinique est rendue possible grâce au développement de méthodes spectroscopiques optiques, appelées également biopsie optique. Ces méthodes permettent de mettre en évidence les modifications du métabolisme et de la structure des tissus biologiques. Dans cette thèse, les mesures optiques sont réalisées sur les tissus cutanés à l'aide d'un instrument intégrant deux modalités : la réflectance diffuse résolue spatialement et l'autofluorescence. L'exploitation des spectres consiste à résoudre un problème inverse non-linéaire pour estimer les propriétés optiques du milieu sondé à l'aide d'un modèle d'interaction lumière-tissu. À partir de ces propriétés optiques, la caractérisation de l'état du tissu, sain ou anormal, est possible. La première contribution de la thèse est de proposer une méthode d'inversion qui intègre une simulation Monte Carlo rapide et une fonction coût gérant les deux modalités spectrales dans le but d'améliorer la précision de l'estimation des propriétés optiques, quelle que soit la géométrie de la sonde. La deuxième contribution de la thèse est d'étudier la cinétique des fluorophores présents dans les tissus par une approche de séparation de sources, qui ne nécessite pas le recours à une simulation Monte Carlo. Dans cette approche, une collection de spectres acquis au cours du temps est analysée conjointement, avec peu d'hypothèses *a priori* de la forme des signaux sources. La sensibilité de cette approche est validée par l'emploi d'agents de clarification optique qui augmentent la transparence des tissus en diminuant la diffusion et l'absorption des photons dans les tissus, et donnent ainsi accès à des informations plus précises en profondeur.

**Mots-clés:** Bimodalité spectroscopique, Propriétés optiques de la peau, Réflectance diffuse résolue spatialement, spectres d'autofluorescence, Simulation Monte Carlo, Problème inverse, Fonction coût, Algorithme d'optimisation, Séparation de sources

## Abstract

The detection of pre-cancerous biological tissues during clinical diagnosis is made possible by the development of optical spectroscopic methods, also known as optical biopsy. These methods make it possible to identify changes in the metabolism and structure of biological tissues. In this thesis, optical measurements are performed on skin tissues using an optical device that integrates two modalities : spatially resolved diffuse reflectance and autofluorescence. Spectra exploitation involves solving a non-linear inverse problem to estimate the optical properties using a light-tissue interaction model. From these optical properties, it is possible to characterize the condition of the tissue, healthy or abnormal. The first contribution of the thesis is to propose an inversion method that integrates a fast Monte Carlo model and a cost function managing two spectral modalities in order to improve the accuracy of the estimation of optical properties, regardless of the geometry of the probe. The second contribution is to study the kinetics of fluorophores present in tissues by a source separation approach, which does not require the use of a Monte Carlo model. In this approach, a collection of spectra acquired over time is analyzed together, with few *a priori* assumptions about the shape of the source signals. The sensitivity of this approach is validated by the use of optical clearing that increase tissue transparency by decreasing photon diffusion and absorption in tissues, thus providing access to more accurate in-depth information.

**Keywords:** Bimodal spectroscopy, Optical properties of the skin, Spatially resolved diffuse reflectance, Autofluorescence spectra, Monte Carlo simulation, Inverse problem, cost function, Optimization algorithm, Source separation.