

ÉCOLE DE TECHNOLOGIE SUPÉRIEURE
UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'ÉCOLE DE TECHNOLOGIE SUPÉRIEURE

COMME EXIGENCE PARTIELLE
À L'OBTENTION DE LA
MAÎTRISE EN GÉNIE ÉLECTRIQUE
M.Eng.

PAR
MATHIEU COURSOLLE

DÉVELOPPEMENT D'UN APPAREIL D'IMAGERIE PHOTO-ACOUSTIQUE POUR
LES PROTÉINES FLUORESCENTES

MONTREAL, LE 10 JANVIER 2007

CE MÉMOIRE A ÉTÉ ÉVALUÉ

PAR UN JURY COMPOSÉ DE :

**M. Jean-Marc Lina, directeur de mémoire
Département de génie électrique à l'École de technologie supérieure**

**M. Frédéric Lesage, codirecteur
Département de génie électrique à l'École Polytechnique de Montréal**

**M. Claude Thibeault, président du jury
Département de génie électrique à l'École de technologie supérieure**

**M. Christian Gargour, membre du jury
Département de génie électrique à l'École de technologie supérieure**

IL A FAIT L'OBJET D'UNE SOUTENANCE DEVANT JURY ET PUBLIC

LE 21 DÉCEMBRE 2006

À L'ÉCOLE DE TECHNOLOGIE SUPÉRIEURE

DÉVELOPPEMENT D'UN APPAREIL D'IMAGERIE PHOTO-ACOUSTIQUE POUR LES PROTÉINES FLUORESCENTES

Mathieu Coursolle

SOMMAIRE

De récentes recherches sur la maladie d'Alzheimer soulèvent de nouvelles hypothèses quant aux causes de cette maladie. Certaines de ces hypothèses l'associent à divers processus neuronaux pouvant être étudiés sur de petits animaux.

D'autre part, le développement de techniques d'imagerie médicale à l'échelle moléculaire permet de générer des images permettant de quantifier différents processus physiologiques. Or, la résolution spatiale de la plupart des techniques existantes est souvent insuffisante pour étudier les processus neuronaux ciblés par ces recherches. Développée au cours des dernières années, l'imagerie photo-acoustique est une technique d'imagerie moléculaire non-invasive qui permet d'obtenir une résolution spatiale suffisamment précise pour ces études. Cette technique consiste à détecter les vibrations moléculaires générées par une source de lumière pulsée.

Ce mémoire décrit la conception et la réalisation d'un appareil d'imagerie photo-acoustique pouvant être utilisé afin de générer des images précises de la distribution de protéines fluorescentes. Les protéines fluorescentes sont par exemple utilisées comme marqueurs génétiques sur des modèles de souris transgéniques étudiées dans le cadre de ces recherches. La conception mécanique, électrique et logicielle du système est présentée, de même qu'un algorithme utilisé afin de reconstruire des images à l'échelle moléculaire.

Cet appareil est ensuite validé par des résultats obtenus en effectuant des mesures sur des échantillons de gélatine. Dans un premier temps, des tubes micrométriques remplis d'encre noire sont insérés dans une gélatine, permettant d'estimer la résolution du système à environ 500 micromètres. Par la suite, un lysat de cellules mortes exprimant une protéine fluorescente est utilisé afin de valider le concept de la photo-acoustique sur ces protéines.

DEVELOPMENT OF A PHOTOACOUSTIC IMAGING DEVICE FOR FLUORESCENT PROTEINS

Mathieu Coursolle

ABSTRACT

Recent researches on Alzheimer disease raise new assumptions as for the causes of this disease. Some of these assumptions associate it to various neuronal processes which are studied on small animals.

In addition, the development of molecular imaging techniques allows to quantify various physiological processes. However, the spatial resolution of most of the existing techniques is often too weak to study the neuronal processes targeted by those researches. Developed during the last years, photoacoustic imaging is a molecular non-invasive technique allowing to obtain a precise space resolution for these studies. This technique detects the molecular vibrations generated by a pulsed light source.

This thesis describes the design of a photoacoustic imaging device which can be used in order to generate precise images of the distribution of fluorescent proteins. The fluorescent proteins are used as genetic markers on transgenic mice models studied within the framework of those researches. The mechanical, electrical and software design of the system are presented, as an algorithm used to reconstruct images at a molecular scale.

The results presented in this thesis are obtained from gelatine samples. First, micrometer-width tubes filled with black ink are inserted in a gelatine, allowing to estimate the resolution of the system to approximately 500 micrometers. Then, a lysate of dead cells expressing a fluorescent protein is used in order to validate the concept of photoacoustic on those proteins.

REMERCIEMENTS

Ce mémoire présente les résultats de recherches effectuées à l'Institut universitaire de gériatrie de Montréal du mois de septembre 2005 au mois de novembre 2006. J'aimerais remercier tous ceux qui ont participé de près ou de loin à ce projet.

Plus particulièrement, j'aimerais remercier M. Jean-Marc Lina ainsi que M. Frédéric Lesage, respectivement directeur et codirecteur, pour leur aide ainsi que pour leurs nombreux conseils tout au long du projet. Ils m'ont permis d'aborder de nombreux aspects de l'imagerie photo-acoustique.

J'aimerais aussi remercier le Centre de recherche sur le cancer de l'université McGill de nous avoir offert des échantillons permettant de valider notre concept.

J'aimerais aussi remercier l'École de technologie supérieure ainsi que l'Institut universitaire de gériatrie de Montréal pour leur support logistique et matériel. Plus particulièrement, j'aimerais remercier M. Claude Thibeault pour avoir fourni le circuit de développement FPGA.

Enfin, j'aimerais remercier le Réseau de recherche en transgénèse du Québec pour leur soutien financier.

TABLE DES MATIÈRES

	Page
SOMMAIRE.....	i
ABSTRACT.....	ii
REMERCIEMENTS.....	iii
TABLE DES MATIÈRES	iv
LISTE DES TABLEAUX.....	vi
LISTE DES FIGURES	vii
LISTE DES ABRÉVIATIONS ET SIGLES	xii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 THÉORIE	17
1.1 Problème direct.....	18
1.2 Problème inverse.....	22
CHAPITRE 2 SIMULATIONS.....	25
2.1 Problème direct.....	26
2.2 Problème inverse.....	31
2.3 Etudes des paramètres	33
2.3.1 Impulsion laser	34
2.3.2 Réponse des transducteurs.....	37
2.3.3 Nombre de transducteurs	39
2.3.4 Effet du bruit.....	42
2.3.5 Distance et géométrie des transducteurs	45
CHAPITRE 3 SYSTÈME D'ACQUISITION	48
3.1 Description	48
3.2 Source laser	48
3.3 Transducteur d'ultrasons.....	53
3.4 Amplificateur	58
3.5 Système mécanique	59

CHAPITRE 4	SYSTÈME DE CONTRÔLE	62
4.1	Description	62
4.2	Module d'acquisition	67
4.3	Module de gestion des données	74
4.4	Module de contrôle du moteur.....	81
4.5	Module de communication	84
4.6	Interface de commandes	91
CHAPITRE 5	EXPÉRIMENTATIONS	93
5.1	Validation de la photo-acoustique	94
5.2	Calibration du système	100
5.3	Étude de la résolution spatiale.....	103
5.4	Application aux protéines fluorescentes.....	108
INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS		110
CONCLUSION		112
BIBLIOGRAPHIE		114

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau I Atténuation résultant du changement d'impédance acoustique.....	53
Tableau II Types de transducteurs utilisés.....	54
Tableau III Distances du champ proche.....	56
Tableau IV Angles d'ouverture du champ acoustique.....	57
Tableau V Signaux d'entrées/sorties du système de contrôle.....	66
Tableau VI Signaux d'entrée/sortie du module d'acquisition (lecture des échantillons).....	67
Tableau VII Espace mémoire du système de contrôle utilisée.....	69
Tableau VIII Signaux d'entrées/sorties du module d'acquisition (sauvegarde et transfert des échantillons).....	71
Tableau IX Signaux d'entrées/sorties du module de gestion des données.	76
Tableau X Protocole de réception du système de contrôle.	80
Tableau XI Signaux d'entrées/sorties du module de contrôle du moteur.	82
Tableau XII Paramètres du protocole de communication.....	84
Tableau XIII Signaux d'entrées/sorties du module de réception.	85
Tableau XIV Signaux d'entrées/sorties du module de transmission.....	85
Tableau XV Séquence permettant de générer l'horloge de 115.2 kHz.....	90
Tableau XVI Rayon du plan de détection des transducteurs.	102

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1	Processus de la fluorescence. 4
Figure 2	Exemple du spectre d'absorption et d'émission d'un fluorophore. 5
Figure 3	Premier spectrophone. 6
Figure 4	Appareil d'imagerie photo-acoustique pour de petits animaux. 7
Figure 5	GFP (<i>Green fluorescent protein</i>). 10
Figure 6	Méduse <i>Aequorea Victoria</i> 11
Figure 7	Spectre d'absorption du GFP. 11
Figure 8	Schéma bloc de l'appareil d'imagerie photo-acoustique. 14
Figure 9	Principe de la photo-acoustique. 17
Figure 10	Géométrie sphérique. 18
Figure 11	Exemple du positionnement des transducteurs. 21
Figure 12	Fantômes simulés. 26
Figure 13	Exemple d'une impulsion laser simulée. 27
Figure 14	Exemple de la bande passante simulée d'un transducteur. 28
Figure 15	Exemple de la géométrie d'un transducteur. 29
Figure 16	Sinogrammes simulés. 29
Figure 17	Effet de la discrétisation. 30
Figure 18	Reconstruction d'une gaussienne centrée. 31
Figure 19	Reconstruction d'une gaussienne décalée. 32
Figure 20	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan. 32

Figure 21	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan ($\sigma = 100$ ns).....	34
Figure 22	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan ($\sigma = 200$ ns).....	35
Figure 23	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan ($\sigma = 500$ ns).....	35
Figure 24	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan ($\sigma = 1000$ ns).....	36
Figure 25	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 2.25 MHz).37	
Figure 26	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 3.5 MHz).38	
Figure 27	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 5 MHz)... 38	
Figure 28	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (250 positions).	39
Figure 29	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (50 positions).....	40
Figure 30	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (25 positions).....	40
Figure 31	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (10 positions).....	41
Figure 32	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (rapport signal sur bruit de 20 dB).	42
Figure 33	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (rapport signal sur bruit de 15 dB).	43
Figure 34	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (rapport signal sur bruit de 10 dB).	43
Figure 35	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (rapport signal sur bruit de 5 dB).	44
Figure 36	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 12.7 mm de diamètre placé à 25 mm de l'origine).....	45
Figure 37	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 12.7 mm de diamètre placé à 40 mm de l'origine).....	46
Figure 38	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 12.7 mm de diamètre placé à 55 mm de l'origine).....	46
Figure 39	Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 12.7 mm de diamètre placé à 70 mm de l'origine).....	47

Figure 40	Système d'acquisition.	49
Figure 41	Puissance de la source laser en fonction de la longueur d'onde.	50
Figure 42	Source laser.	51
Figure 43	Collimateur de la source laser.	52
Figure 44	Exemple de la bande passante d'un transducteur (2.25 MHz).	55
Figure 45	Champ acoustique d'un transducteur.	56
Figure 46	Modèles de transducteurs utilisés.	57
Figure 47	Appareil d'imagerie photo-acoustique.	60
Figure 48	Appareil d'imagerie photo-acoustique.	61
Figure 49	Schéma bloc du système de contrôle.	64
Figure 50	Circuit de développement <i>Altera Stratix EP1S80 DSP</i>	65
Figure 51	Module d'acquisition (lecture des échantillons).	68
Figure 52	Module d'acquisition (sauvegarde et transfert des échantillons).	70
Figure 53	Séquence d'acquisition (première partie).	72
Figure 54	Séquence d'acquisition (deuxième partie).	73
Figure 55	Module de gestion des données.	75
Figure 56	Séquence du processus de gestion de l'acquisition.	77
Figure 57	Séquence du processus de gestion des communications (mode de transmission).	78
Figure 58	Séquence du processus de gestion des communications (mode de réception).	79
Figure 59	Module de contrôle du moteur.	81
Figure 60	Séquence de contrôle du moteur.	83
Figure 61	Module de communication.	86

Figure 62	Séquence de réception du module de communication.	87
Figure 63	Séquence de transmission du module de communication.	88
Figure 64	Interface du logiciel de commandes.	92
Figure 65	Fantôme utilisé pour la calibration du système.	94
Figure 66	Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V306 sans moyennage).	95
Figure 67	Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V306 moyenné sur 16 mesures).	95
Figure 68	Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V306 moyenné sur 64 mesures).	95
Figure 69	Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V384 sans moyennage).	96
Figure 70	Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V384 moyenné sur 16 mesures).	96
Figure 71	Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V384 moyenné sur 64 mesures.	96
Figure 72	Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V309 sans moyennage).	97
Figure 73	Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V309 moyenné sur 16 mesures).	97
Figure 74	Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V309 moyenné sur 64 mesures).	97
Figure 75	Distance de la source photo-acoustique.	98
Figure 76	Effet du moteur sur le signal photo-acoustique.	99
Figure 77	Configuration pour la calibration de l'appareil.	101
Figure 78	Exemple d'un sinogramme de calibration contenant 100 mesures.	101
Figure 79	Premier fantôme utilisé afin d'estimer la résolution du système.	103

Figure 80	Sinogramme mesuré d'un fantôme comportant un tube d'encre (250 positions moyennées 128 fois).	104
Figure 81	Reconstruction du fantôme comportant un tube d'encre.	104
Figure 82	Second fantôme utilisé afin d'estimer la résolution du système.	105
Figure 83	Sinogramme mesuré d'un fantôme comportant deux tubes d'encre (250 positions moyennées 128 fois).	106
Figure 84	Reconstruction du fantôme comportant deux tubes d'encre.	106
Figure 85	Résolution du système.	107
Figure 86	Signal photo-acoustique provenant de cellules exprimant le GFP.	109

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET SIGLES

BNC	Bayonet Neill-Concelman
BOLD	Blood Oxygenation Level Dependent
CAN	Convertisseur analogique à numérique
ETX	End of Transmission
FPGA	Field Programmable Gate Array
GFP	Green fluorescent protein
ICG	Indocyanine Green
IOD	Imagerie optique diffuse
IRMf	Imagerie par résonnance magnétique fonctionnelle
keV	Kiloelectron Volt
PTP	Protéine Tyrosine Phosphatase
STX	Start of Transmission
TEP	Tomographie par émission de positrons
TTL	Transistor Transistor Logic
VHDL	Very High Speed Integrated Circuit Hardware Description Language
YFP	Yellow fluorescent protein

INTRODUCTION

Mise en contexte

L'imagerie cérébrale est l'un des domaines de recherche et de développement technologique parmi les plus dynamiques à l'heure actuelle. L'émergence de nouvelles technologies offre de nouvelles perspectives sur des enjeux cliniques tels que les maladies neuro-dégénératives. Ainsi, de nombreux groupes de recherche s'intéressent à la visualisation du fonctionnement du cerveau afin d'en étudier les processus, qu'ils soient normaux ou dysfonctionnels. Plusieurs techniques ont été développées au cours des dernières années afin de visualiser les structures du cerveau tant anatomiques que fonctionnelles. Un des enjeux importants s'y rattachant est le développement de méthodes non-invasives permettant d'atteindre une excellente résolution spatiale de même que temporelle afin d'étudier les processus physiologiques. En effet, la résolution spatiale permet de localiser avec précision une région responsable de ces processus alors que la résolution temporelle permet de déterminer le moment précis de cette activation. Il existe actuellement plusieurs techniques permettant d'étudier l'activité neuronale, chacune fonctionnant à partir de principes physiques spécifiques. La liste qui suit décrit quelques-unes de ces techniques ainsi que leurs caractéristiques.

Électroencéphalographie

L'électroencéphalographie mesure l'activité électrique du cerveau afin d'en étudier les processus physiologiques. Des électrodes sont disposées sur le scalp ou parfois directement dans le cerveau de façon à enregistrer les différences de potentiels entre un point et une référence. Cette technique permet d'obtenir une excellente résolution temporelle, généralement de l'ordre de quelques millisecondes. Cependant, l'activité électrique perçue est le résultat de plusieurs groupes de neurones synchronisés, et il est donc difficile

de localiser précisément l'origine du signal bioélectrique mesuré à l'extérieur du cerveau. L'électroencéphalographie est utilisée, entre autre, afin d'étudier les phases du sommeil, l'épilepsie ou encore la réponse à certains stimulus en neuropsychologie. L'analyse des signaux recueillis est toutefois d'une grande complexité et demande une expertise spécialisée afin d'analyser les différents processus s'y rattachant [23].

Imagerie par résonnance magnétique fonctionnelle

L'imagerie par résonnance magnétique fonctionnelle (IRMf) se base sur la réponse hémodynamique du cerveau pour mesurer l'activité neuronale. Cette réponse est caractérisée par l'apport en oxygène des vaisseaux sanguins aux différentes régions du cerveau. Lorsqu'une région du cerveau est activée, la consommation en oxygène des cellules nerveuses augmente, provoquant une augmentation du flux sanguin. L'hémoglobine contenue dans les globules rouges perd son oxygène au profit de ces cellules. Le signal BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent) résulte des propriétés magnétiques de l'hémoglobine, qui dépendent de son niveau d'oxygénation. On peut ainsi caractériser l'activité locale du cerveau. Le temps de réponse entre l'activité d'une région du cerveau et l'apport en oxygène par les vaisseaux sanguins est toutefois de l'ordre de 1 à 5 secondes. La résolution temporelle de cette technique est donc nettement inférieure à l'électroencéphalographie. Cependant, l'IRMf permet d'obtenir une résolution spatiale supérieure, soit de l'ordre de 3 à 6 millimètres [24]. Enfin, l'IRMf nécessite de l'équipement hautement spécialisé rendant son utilisation plus complexe que les techniques électrophysiologiques.

Imagerie optique diffuse

L'imagerie optique diffuse (IOD) utilise aussi la réponse hémodynamique afin de caractériser l'activité neuronale. Cette technique d'imagerie non-invasive et non-

destructive consiste à illuminer une région du cerveau à l'aide d'une source laser émettant dans le proche infra-rouge. Des sources et des détecteurs sont disposés directement sur le scalp à l'aide de fibres optiques. Plusieurs détecteurs sont positionnés à quelques centimètres de chaque source et captent l'intensité lumineuse reçue suite à une impulsion laser. Or, l'absorption de la lumière par l'hémoglobine oxygénée (oxyhémoglobine) est différente de celle de l'hémoglobine non-oxygénée (déoxyhémoglobine). Il est ainsi possible de déterminer l'activité d'une région en mesurant son taux d'absorption de la lumière [26]. Cette technique présente une résolution temporelle et spatiale similaire à l'IRMf. Bien qu'en théorie sa résolution temporelle soit meilleure que celle de l'IRMf, cette dernière est dans les deux cas limitée par la réponse hémodynamique. Elle a toutefois l'avantage d'être moins coûteuse et de nécessiter moins d'infrastructures que l'IRMf.

Tomographie par émission de positrons

La tomographie par émission de positrons (TEP) utilise des marqueurs radioactifs qui ciblent le métabolisme au niveau moléculaire. Un isotope radioactif est attaché chimiquement à une molécule activée par le métabolisme étudié, puis injecté dans l'organisme du patient. Ici, l'isotope radioactif émet des positrons qui provoqueront l'émission d'une paire de photons à 511 keV suite à la collision avec un électron. La détection de ces deux photons permet de déterminer la position de la source de positrons et ainsi suivre les molécules d'intérêt dans l'organisme. Cette technique a l'avantage de pouvoir étudier les processus d'un point de vue moléculaire, mais son degré d'invasivité est non négligeable à cause de la radio-activité associée aux marqueurs [27]. De plus, la résolution spatiale est d'environ deux fois moins bonne que celle de l'IRMf et la résolution temporelle est de l'ordre de quelques minutes [21].

Imagerie optique avec fluorescence

Cette technique, basée sur l'IOD, utilise des marqueurs fluorescents afin d'étudier le métabolisme à l'échelle moléculaire. Ces marqueurs ont la propriété d'émettre un nouveau photon de longueur d'onde supérieure à celle du photon absorbé. Ainsi, cette technique détermine l'absorption des molécules ciblées en mesurant l'intensité lumineuse à une longueur d'onde précise, caractéristique du type de marqueur utilisé.

Les molécules responsables du phénomène de la fluorescence sont appelées fluorophores. Lorsqu'un fluorophore est soumis à un photon d'énergie $h\nu_{EX}$, ce dernier est amené dans un état d'excitation électronique S'_1 . Cet état ne dure que quelques nanosecondes, une partie de l'énergie emmagasinée est dissipée sous différentes formes, conduisant vers un état d'excitation S_1 de moindre énergie. À partir de cet état, un nouveau photon d'énergie $h\nu_{EM}$ est émis, permettant au fluorophore de retrouver son état initial S_0 . En raison de la dissipation d'énergie entre l'absorption et l'émission de photons, l'énergie du photon émis est inférieure à celle du photon absorbé. Sa longueur d'onde est donc supérieure.

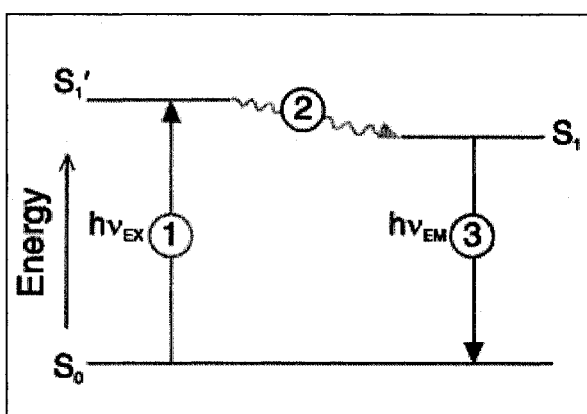


Figure 1 Processus de la fluorescence (Invitrogen™[7]).

Les fluorophores sont donc caractérisés par un spectre d'absorption et un spectre d'émission. Le spectre d'absorption caractérise la probabilité qu'un photon soit absorbé par le fluorophore en fonction de sa longueur d'onde; le spectre d'émission représente la probabilité qu'un photon émis ait une longueur d'onde donnée (Voir figure 2).

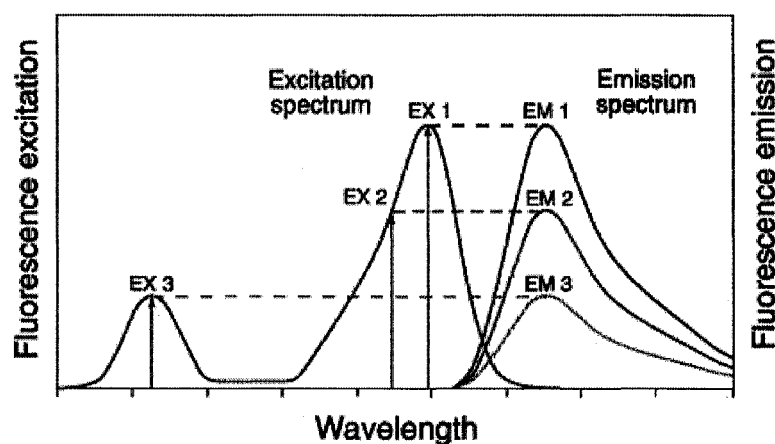


Figure 2 Exemple de spectre d'absorption et d'émission d'un fluorophore (Invitrogen™[7]).

Notons toutefois que certains fluorophores, tout comme la plupart des molécules, retrouvent leur état initial S_0 grâce à d'autres phénomènes que la fluorescence. Par exemple, une partie de l'énergie amène les molécules dans un état vibratoire, provoquant ainsi une onde thermo-acoustique. Tel est le concept de base de l'imagerie photo-acoustique, qui fait l'objet de ce mémoire.

Revue de la littérature

Le concept à la base de l'imagerie photo-acoustique a été étudié pour la première fois en 1880 par Alexander Graham Bell [2], alors que ce dernier tentait de trouver une façon de transmettre un signal sonore sans câble. Il a alors découvert qu'en soumettant certains matériaux à une source de lumière pendant un court instant, il était possible de produire des sons audibles. La source d'énergie lumineuse était un disque muni de plusieurs trous qui tournait, bloquant la lumière du soleil de façon périodique.

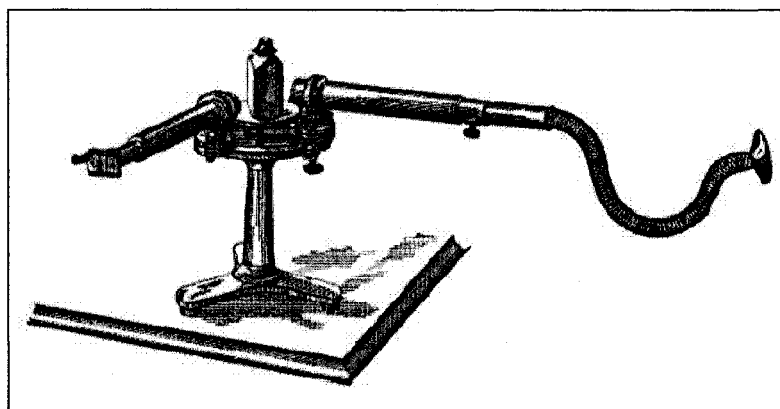


Figure 3 Premier spectrophone (Bell, A.G. [6]).

Ce concept a été repris l'année suivante par J. Thyndall et W. C. Rontgen, qui ont déterminé qu'un signal acoustique pouvait être produit en utilisant une source de lumière pulsée illuminant une cellule contenant un gaz. Cette découverte a par la suite menée à plusieurs expériences sur différents matériaux solides, liquides et gazeux [15]. Depuis, plusieurs physiciens se sont attardés au développement de modèles expliquant les concepts de base du processus photo-acoustique [16].

Avec l'intérêt grandissant des techniques d'imagerie médicale, plusieurs groupes de recherche ont transposé ces modèles à des applications biomédicales. Ces applications

incluent, par exemple, la mesure du taux de glucose [31] et la détection de petites tumeurs dans les tissus [4]. Ces recherches ont permis d'atteindre une résolution spatiale de l'ordre de quelques micromètres [20].

Wang et al. [19] ont par la suite appliqué le concept d'imagerie photo-acoustique à l'imagerie cérébrale chez les souris afin d'évaluer son potentiel comme technique d'imagerie fonctionnelle. L'utilisation de la photo-acoustique en imagerie fonctionnelle permet d'obtenir une excellente résolution spatiale, contrairement à l'imagerie optique dont la résolution est limitée par la diffusion de la lumière dans les tissus.

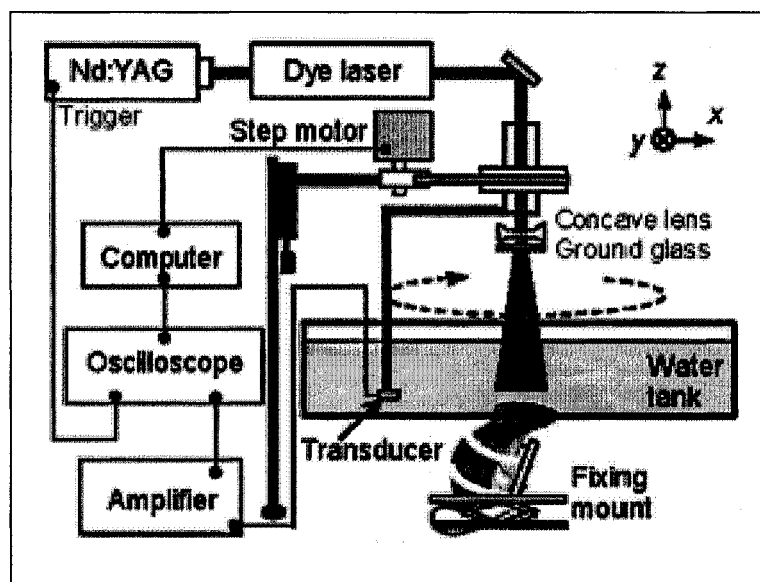


Figure 4 Appareil d'imagerie photo-acoustique pour de petits animaux (Wang et al. [19]).

D'autre part, l'utilisation d'agents de contraste, tel que l'ICG (*Indocyanine Green*), a aussi été exploitée pour produire des images à l'échelle moléculaire, en plus d'augmenter le contraste [18].

Finalement, différentes géométries d'acquisition des données ont été étudiées afin de permettre la reconstruction d'images de plus en plus précises [29]. Il a entre autre été démontré que la résolution des images produites dépend grandement des paramètres d'acquisition, comme par exemple, la bande passante des transducteurs utilisés pour capter le signal acoustique [20].

Problématique

Les récentes découvertes dans les domaines de la génétique et de l'imagerie moléculaire permettent de nouvelles avancées dans la recherche sur les maladies neuro-dégénératives. Le Centre de recherche sur le cancer de l'université McGill s'intéresse plus particulièrement à la fonction de certains enzymes tels que les protéines tyrosines phosphatases (PTP) chez la souris. De récents résultats montrent que certains de ces enzymes (delta et sigma), récemment associées à la plasticité neuronale, pourraient être en lien avec la maladie d'Alzheimer.

Un problème relié à ces recherches est la nécessité d'une technique d'imagerie moléculaire permettant de quantifier les résultats. L'imagerie photo-acoustique est une technique d'imagerie moléculaire non-invasive permettant d'obtenir une excellente résolution spatiale. De plus, cette technique d'imagerie permet l'utilisation d'agents de contraste, permettant de localiser avec une plus grande spécificité les molécules d'intérêt.

Cependant, il peut être difficile d'utiliser certains agents de contraste en imagerie cérébrale. Dans un premier temps, la plupart des marqueurs sont de trop grande taille pour être acheminés jusqu'au cerveau. Cette limitation est communément appelée barrière sang-cerveau. De plus, les marqueurs ont un temps de vie limité dans l'organisme et auront tendance à être éliminés avec le temps, ce qui crée des fluctuations dans les mesures. Le Centre de recherche de l'université McGill utilise donc un modèle de souris transgénique pour lequel certains neurones ciblés expriment une protéine fluorescente (GFP).

Extrait de la méduse *Aequorea victoria*, le GFP est une protéine fluorescente qui absorbe la lumière bleue et émet de la lumière verte. Sous sa forme naturelle, son spectre d'absorption est caractérisé par un maximum à la longueur d'onde de 395 nanomètres. Un second

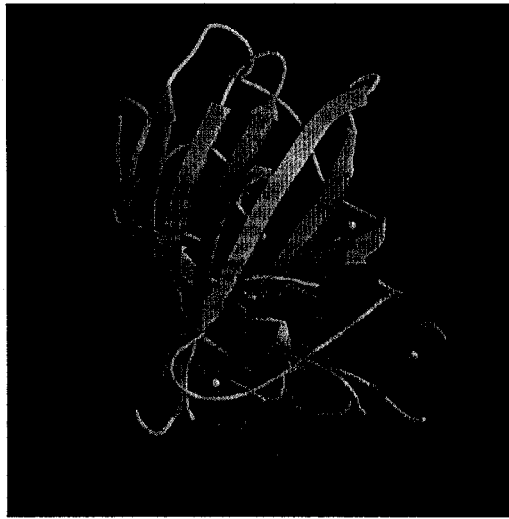


Figure 5 GFP (*Green fluorescent protein*) (©RCSB Protein Data Bank [1]).

maximum, moins élevé par contre, existe aussi à 475 nanomètres. Son spectre d'émission se trouve quant à lui autour de 509 nanomètres [12, 25]. Certaines variantes de la protéine ont été générées à l'aide de mutations dans le but de modifier son spectre de fluorescence. Ainsi, l'EGFP a un spectre d'absorption maximum à 490 nanomètres, alors que d'autres variantes ont un spectre d'absorption et d'émission différent. Par exemple, le YFP (*Yellow fluorescent protein*) a un spectre d'émission se situant dans le jaune (527 nanomètres) [28]. Le GFP est très utilisé en biologie moléculaire à cause de la possibilité de modifier génétiquement des cellules afin qu'elles expriment cette protéine. Ainsi, la génétique permet d'utiliser le GFP comme un marqueur naturel dans plusieurs organismes cellulaires.

L'imagerie photo-acoustique, tout comme l'imagerie optique avec fluorescence, utilise une source laser pour illuminer les molécules à imager. Les photons émis par le GFP sont diffusés par les tissus, limitant l'utilisation de l'imagerie optique. L'imagerie photo-acoustique mesure plutôt l'onde thermo-acoustique résultant de l'absorption de la lumière par le GFP. Cette onde n'étant pas soumise à la diffusion, la résolution spatiale est plutôt limitée par le type de transducteur utilisé pour mesurer cette onde.

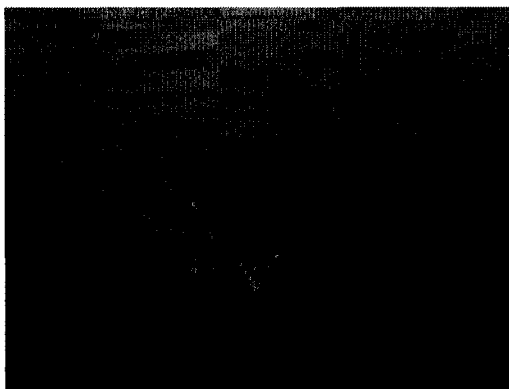


Figure 6 Méduse *Aequorea victoria* (Wikipédia [22]).

Contrairement à l'imagerie optique avec fluorescence, il est toutefois impossible de déterminer directement si un signal provient du GFP ou d'une autre molécule. L'utilisation de plusieurs longueurs d'ondes permet cependant de faire une spectroscopie du spectre d'absorption du GFP et ainsi mettre l'emphasis sur cette protéine.

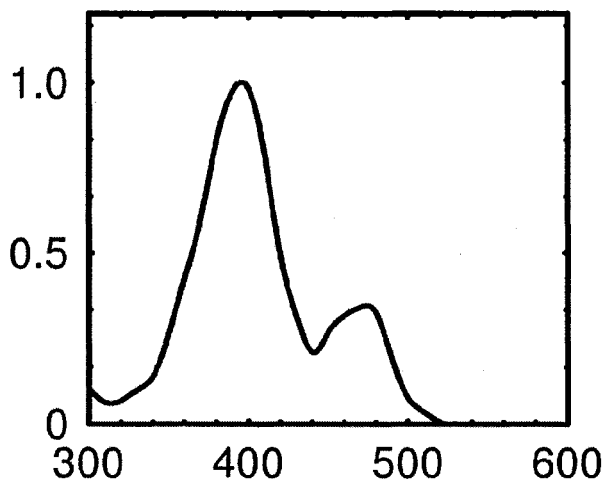


Figure 7 Spectre d'absorption du GFP en nanomètres (Nielsen et al. (2001) [12]).

Objectifs

L'objectif du travail présenté dans ce mémoire est de développer un appareil d'imagerie photo-acoustique dédié à l'imagerie du cerveau de petits animaux, à l'aide de protéines fluorescentes tel que le GFP.

Dans un premier temps, il s'agit de concevoir un appareil dont la configuration permet d'effectuer l'acquisition de signaux photo-acoustiques sur de petits animaux, de façon à être en mesure de reconstruire des images à l'échelle moléculaire du cerveau. Cette étape comprend la conception mécanique ainsi que la géométrie d'acquisition de l'appareil. Cette étape comprend aussi le développement d'un système de contrôle permettant d'effectuer l'acquisition des signaux acoustiques.

Dans un deuxième temps, l'objectif est d'implémenter un algorithme de reconstruction tomographique permettant d'obtenir une carte à haute résolution spatiale du marqueur GFP dans les tissus.

Finalement, il s'agit de caractériser l'appareil à partir d'expériences sur des fantômes simulant les propriétés de tissus biologiques.

Par conséquent, les contributions du travail présenté dans ce mémoire sont les suivantes :

- La construction complète d'un système d'acquisition dédié à l'imagerie photo-acoustique, en suivant les principes présentés dans la littérature [18, 19].
- Le développement d'outils logiciels de contrôle pour ce prototype.

- Le développement d'outils logiciels pour l'analyse des données et la reconstruction tomographique des images.
- L'utilisation novatrice de ce système en utilisant le GFP comme marqueur et la preuve de faisabilité de ce type d'imagerie.

Méthodologie

Basé sur les publications récentes dans le domaine [18, 19], un appareil d'imagerie photo-acoustique est développé afin de générer des images de haute résolution de l'absorption de la lumière par des tissus biologiques.

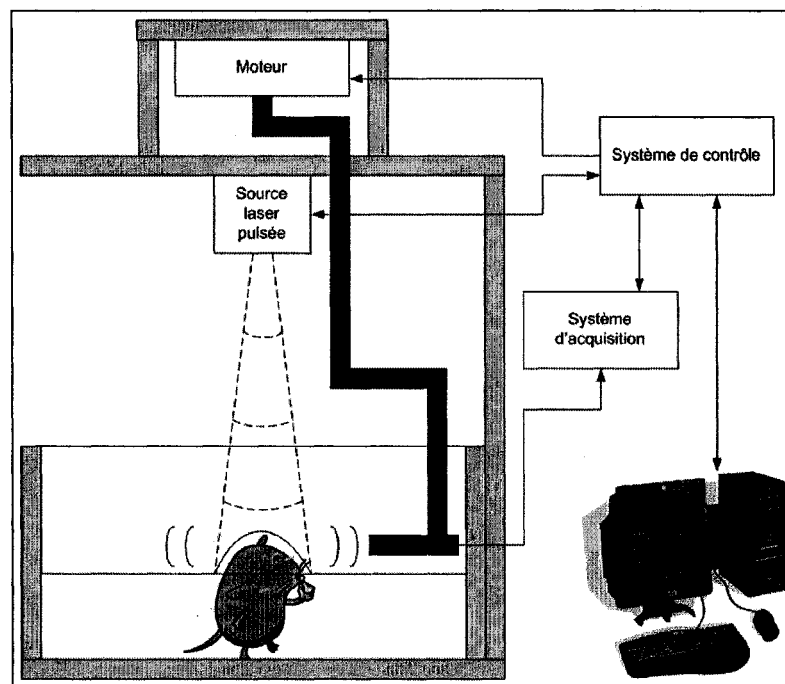


Figure 8 Schéma bloc de l'appareil d'imagerie photo-acoustique.

Dans un premier temps, le problème direct ainsi que le problème inverse en imagerie photo-acoustique sont implémentés sous MATLAB® afin de simuler la génération de mesures photo-acoustiques d'une image. Une série de simulations est ensuite effectuée afin d'évaluer l'effet de différents paramètres d'acquisition sur la reconstruction des images.

Ces paramètres incluent :

- La durée de l'impulsion laser.
- La bande passante des transducteurs.
- Le nombre de positions du transducteur.
- Le rapport signal sur bruit (RSB).
- La géométrie et la distance du transducteur.

Dans un deuxième temps, l'appareil est développé et assemblé afin d'être en mesure d'effectuer des acquisitions réelles. Une configuration cylindrique permettant de reconstruire les images d'une coupe axiale est adoptée. C'est-à-dire que la configuration utilisée ne permet de produire que des images en deux dimensions. Il est toutefois possible de composer une image en trois dimensions en générant plusieurs images de coupes différentes et en les assemblant ultérieurement. Les échantillons ou le spécimen à imager est ainsi positionné dans un aquarium contenant de l'eau, permettant ainsi aux signaux thermo-acoustiques de se propager. Une source laser de type Nd :YAG est utilisée afin d'illuminer l'échantillon. Par la suite, un transducteur d'ultrasons submersible est positionné sur l'axe horizontal de façon à capter l'onde de pression résultante de l'illumination des molécules par la source laser. Ce transducteur est maintenu par un moteur pas-à-pas permettant d'effectuer des mesures sur 360 degrés avec une précision de 0.72 degrés. Il est donc possible d'obtenir des mesures pour 500 angles différents. De plus, un système d'amplification permet de traiter le signal perçu par le transducteur afin de le ramener à une amplitude permettant le traitement de ce dernier.

Dans un troisième temps, un système de contrôle est développé et programmé à partir d'un circuit de développement FPGA. L'utilisation d'un FPGA permet d'automatiser les processus d'acquisition en plus d'effectuer plus d'une tâche simultanément, facilitant le contrôle des différentes composantes. Ce système se synchronise avec la

source laser afin de procéder à l'acquisition numérique des signaux thermo-acoustiques. Le moteur est aussi contrôlé de façon à obtenir des données pour chacune des positions désirées. Différentes commandes peuvent être transmises à ce système par l'entremise d'un interface de contrôle situé sur un ordinateur externe afin de déterminer les différents paramètres d'acquisitions. Une fois les commandes reçues, le système transmet les données recueillies vers l'ordinateur pour fins d'analyse.

Enfin, une série d'acquisitions est effectué en utilisant des fantômes de gélatine dans lesquels de l'encre noir est injecté de façon à valider la résolution ainsi que la sensibilité du système. Une seconde série d'acquisitions est effectuée afin de valider le concept en imageant des protéines fluorescentes (GFP), ouvrant ainsi la voie à une application animal sur des souris modifiées génétiquement exprimant le GFP.

CHAPITRE 1

THÉORIE

L'imagerie photo-acoustique consiste à mesurer indirectement l'absorption d'un milieu en mesurant des signaux acoustiques dépendants du taux d'absorption de la lumière. Ces signaux acoustiques résultent de l'excitation lumineuse du milieu par une source de lumière pulsée. Une partie de l'énergie lumineuse est alors absorbée, produisant une augmentation de la température. Cette augmentation de température crée un phénomène d'expansion thermique au niveau moléculaire, produisant une onde de pression dans le milieu [6].

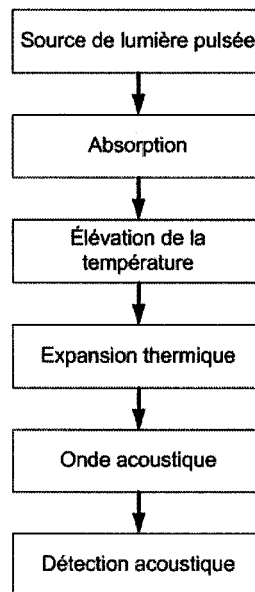


Figure 9 Principe de la photo-acoustique.

Cette section décrit dans un premier temps le problème direct en imagerie photo-acoustique. Le problème direct présente le modèle utilisé afin de déterminer l'onde de

pression mesurée en fonction de différents paramètres d'acquisitions. Par la suite, le problème inverse est décrit afin de présenter la méthode utilisée pour reconstruire des images à partir des mesures acoustiques.

1.1 Problème direct

Le problème direct en imagerie photo-acoustique est développé ici afin de bien comprendre la nature des signaux acoustiques pouvant être mesurés. Ce développement est utilisé dans les simulations de la section suivante afin de générer des mesures synthétiques.

Wang et al. [29] ont défini le problème direct pour une configuration sphérique telle que représenté à la figure 10, où la quantité $A(r)$ représente la distribution des coefficients d'absorption μ_a dans l'espace.

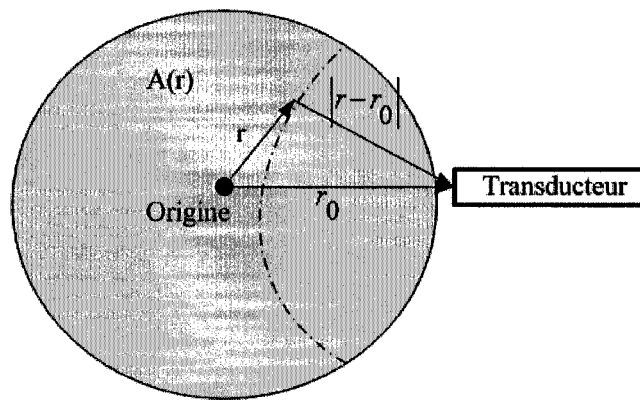


Figure 10 Géométrie sphérique.

La surface à imager est illuminée par une source laser dont la fonction $I(t)$ représente l'énergie lumineuse en fonction du temps. Ici, cette fonction est une impulsion de courte durée, soit de l'ordre de quelques nanosecondes.

La fonction d'échauffement $H(r, t)$ représente la quantité d'énergie thermique provenant de la source et transmise au milieu. Cette fonction dépend directement des coefficients d'absorption du milieu ainsi que de l'impulsion lumineuse. On pose ici l'hypothèse que l'absorption $A(r)$ est constante temporellement et que la fonction d'illumination est constante spatialement.

$$H(r, t) = A(r)I(t) \quad (1.1)$$

La durée de l'impulsion lumineuse étant de quelques nanosecondes, le temps de diffusion thermique est beaucoup plus grand et peut donc être négligé. Ainsi, l'équation de la chaleur s'écrit :

$$H(r, t) = \rho C_p \frac{\partial}{\partial t} T(r, t) \quad (1.2)$$

où ρ est la densité, C_p la chaleur spécifique et $T(r, t)$ la température résultante de l'impulsion lumineuse.

En posant l'hypothèse que le milieu d'intérêt possède des propriétés optiques hétérogènes, mais des propriétés acoustiques homogènes, deux équations sont utilisées pour représenter la propagation d'une onde acoustique. Dans un premier temps, l'équation représentant l'expansion du milieu est décrite selon la relation suivante :

$$\nabla \cdot u(r, t) = -\frac{p(r, t)}{\rho c^2} + \beta T(r, t) \quad (1.3)$$

où β représente le coefficient d'expansion isobare, c la vitesse du son, $u(r, t)$ le déplacement acoustique et $p(r, t)$ la pression acoustique localisée à une position r à un instant t donné. Dans un deuxième temps, l'équation modélisant le déplacement lié à la viscosité du milieu est définie par la relation suivante :

$$\rho \frac{\partial^2}{\partial t^2} u(r, t) = -\nabla p(r, t) \quad (1.4)$$

En combinant les équations 1.2, 1.3 et 1.4, on obtient la forme générale suivante :

$$\nabla^2 p(r, t) - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} p(r, t) = -\frac{\beta}{C_p} \frac{\partial}{\partial t} H(r, t) \quad (1.5)$$

La quantité d'intérêt est ici le signal de pression $p(r, t)$, qui est le signal pouvant être mesuré en imagerie photo-acoustique à l'aide de transducteurs d'ultrasons. La solution basée sur la fonction de Green [29] pour une configuration sphérique est définie par la relation suivante :

$$p(r, t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \iiint \frac{d^3 r'}{|r - r'|} \frac{\partial H(r', t')}{\partial t'} \quad (1.6)$$

où $t' = t - \frac{|r - r'|}{c}$.

En remplaçant $H(r, t)$ par l'équation 1.1, on obtient :

$$p(r, t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \iiint \frac{d^3 r'}{|r - r'|} A(r') I'(t') \quad (1.7)$$

où $I'(t') = dI(t')/dt'$.

Cette relation peut être modifiée pour une configuration cylindrique en intégrant sur seulement deux dimensions :

$$p(r, t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \iint \frac{d^2 r'}{|r - r'|} A(r') I'(t') \quad (1.8)$$

Or, la quantité $p(r, t)$ ne correspond pas à la quantité mesurée en réalité. Les transducteurs d'ultrasons sont caractérisés par une bande passante qui limite la bande de fréquences pouvant être captées. Ainsi, on représentera par $R(t)$ la réponse à l'impulsion d'un transducteur. Le signal $S(t)$ mesuré par un transducteur est donc défini par la relation suivante :

$$S(r, t) = p(r, t) * R(t) \quad (1.9)$$

Toutefois, le signal de pression n'est mesuré qu'à certaines positions définies le long d'un cercle de rayon r_0 :

$$p(r_0, t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \iint \frac{d^2 r}{|r_0 - r|} A(r) I'(t') \quad (1.10)$$

où $t' = t - \frac{|r_0 - r|}{c}$.

Ces positions correspondent aux positions auxquelles un transducteur effectue des mesures pendant une acquisition. Ainsi, on définira par un angle θ la position d'un transducteur. On définit ainsi le sinogramme $S(\theta, t)$ comme étant la matrice contenant les mesures temporelles pour plusieurs positions de transducteurs selon un rayon r_0 donné.

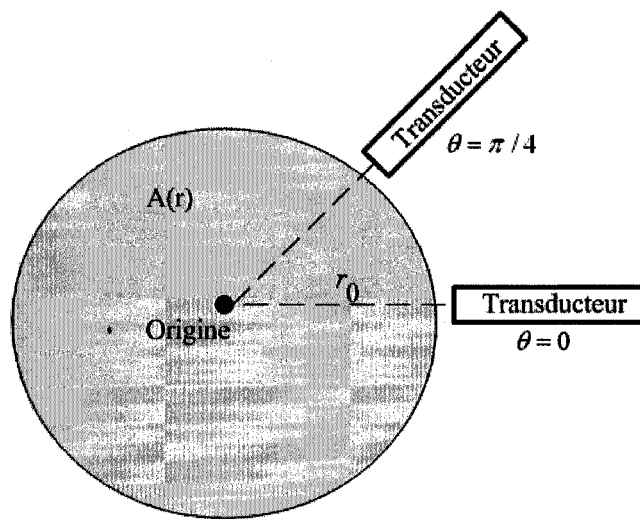


Figure 11 Exemple du positionnement des transducteurs.

1.2 Problème inverse

La solution du problème inverse en imagerie photo-acoustique consiste à reconstruire une image de la distribution des coefficients d'absorption à partir d'un sinogramme contenant des signaux photo-acoustiques mesurés selon différents angles. Wang et al. [29] ont développé une solution exacte pour des configurations cylindriques et sphériques. Cependant, une méthode de rétroprojection filtrée [29, 30] plus simple à implémenter est définie ici.

Soit le sinogramme $S(\theta, t)$ obtenu lors d'une acquisition, le problème direct [29] définit chacun des signaux $S(r_0, t)$ par la relation suivante :

$$S(r_0, t) = \left[\frac{\beta}{4\pi C_p} \iint \frac{d^2 r}{|r_0 - r|} A(r) I' \left(t - \frac{|r_0 - r|}{c} \right) \right] * R(t) \quad (1.11)$$

La première étape consiste donc à déconvoluer les signaux $S(r_0, t)$ avec la réponse à l'impulsion $R(t)$ du transducteur utilisé afin de retrouver le signal de pression $p(r_0, t)$. La déconvolution est définie comme une division dans l'espace de Fourier. Soit $\mathcal{F}\{S(r_0, t)\}$ la transformée de Fourier du signal $S(r_0, t)$, on obtient le signal de pression réel en appliquant la relation suivante :

$$p(r_0, t) = \mathcal{F}^{-1} \left\{ \frac{\mathcal{F}\{S(r_0, t)\}}{R(\omega)} \right\} \quad (1.12)$$

où $R(\omega) = \mathcal{F}\{R(t)\}$.

Or, certaines valeurs de la réponse du système $R(\omega)$ peuvent tendre vers 0, ce qui rend instable la division. De plus, la présence de bruit dans le signal $S(r_0, t)$ peut aussi créer de l'instabilité. Ainsi, un facteur de régularisation α est ajouté afin de stabiliser la

déconvolution. On obtient alors :

$$p(r_0, t) = \mathcal{F}^{-1} \left\{ \frac{\mathcal{F}\{S(r_0, t)\}}{R(\omega) + \alpha} \right\} \quad (1.13)$$

Ce facteur de régularisation doit toutefois être choisi judicieusement afin de ne pas détériorer le signal $p(r_0, t)$.

Avant d'appliquer la déconvolution, une première étape de filtrage est donc effectuée afin de réduire la présence de bruit dans le signal et donc de limiter les instabilités. Un filtre passe-bas $LP(\omega)$ contenant la bande passante du transducteur est construit de façon à obtenir une fréquence de coupure correspondant 1.6 fois la fréquence d'opération du transducteur. Un filtre d'ordre élevé est utilisé afin d'assurer un gain unitaire dans la bande passante du transducteur. Ce filtre est donc appliqué de façon à obtenir le nouveau signal :

$$S_2(r_0, t) = \mathcal{F}^{-1}\{S(r_0, \omega)LP(\omega)\} \quad (1.14)$$

Un second filtre $HP(\omega)$ correspondant à l'inverse de $LP(\omega)$ est créé afin de déterminer la valeur de α à utiliser pour la déconvolution de la réponse du système. Cette méthode considère que les composantes spectrales filtrées par le filtre $LP(\omega)$ sont en fait indésirables et permettent de quantifier le niveau de bruit du signal. Plus le niveau de bruit est élevé, plus le facteur de régularisation doit être élevé afin de réduire les instabilités. Le facteur de régularisation est ainsi déterminé selon la relation suivante :

$$\alpha = k \times \overline{|S_2(r_0, \omega)HP(\omega)|} \quad (1.15)$$

avec $k = 0.0001$. La valeur de k provient d'essais effectués avec des données synthétiques et peut devoir être ajusté selon les mesures utilisées.

Une fois le signal $p(r_0, t)$ récupéré, le problème inverse consiste à récupérer la quantité $A(r)$ dans l'équation suivante :

$$p(r_0, t) = \frac{\beta}{4\pi C_p} \iint \frac{d^2 r}{|r_0 - r|} A(r) I' \left(t - \frac{|r_0 - r|}{c} \right) \quad (1.16)$$

Wang et al. [29] ont montré que la distribution de l'absorption $A(r)$ peut être trouvée en retroprojetant sur des arcs de cercle la quantité

$$\frac{1}{t} \frac{\partial p(r_0, t)}{\partial t} \quad (1.17)$$

tel que $t = |r_0 - r|/c$.

On obtient ainsi la solution suivante :

$$A(r) = -\frac{r_0^2}{2\pi\eta c^4} \int_{\theta} d\theta \frac{1}{t} \frac{\partial p(r_0, t)}{\partial t} \quad (1.18)$$

tel que $t = |r_0 - r|/c$.

Il est donc possible de retrouver la distribution des coefficients d'absorption d'un plan cylindrique en effectuant plusieurs mesures de la pression acoustique suite à l'illumination de ce plan. La section suivante présente quelques simulations afin de valider la solution présentée. De plus, l'impact de certains facteurs tels que la position des transducteurs ainsi que leurs caractéristiques est étudié dans le but de déterminer les paramètres à utiliser lors d'une acquisition réelle.

CHAPITRE 2

SIMULATIONS

Avant d'effectuer la conception de l'appareil d'imagerie photo-acoustique, il importe de bien comprendre les différents paramètres d'acquisition, ainsi que de valider l'algorithme de reconstruction des images. La réalisation et l'implémentation du problème direct permet dans un premier temps de simuler l'acquisition de signaux photo-acoustiques. Dans un deuxième temps, l'algorithme de reconstruction des images est implémenté selon le problème inverse décrit au chapitre précédant. La génération de signaux synthétiques permet principalement de valider cet algorithme avant d'utiliser des signaux réels. Par la suite, différents paramètres d'acquisitions sont étudiés afin d'en définir l'impact sur la reconstruction des images. Ces paramètres sont :

- La durée de l'impulsion laser.
- La bande passante des transducteurs.
- Le nombre de positions du transducteur.
- Le rapport signal sur bruit (RSB).
- La distance et la géométrie du transducteur.

L'étude de ces différents paramètres permet de définir les valeurs à utiliser lors d'une acquisition réelle.

2.1 Problème direct

La réalisation et l'implémentation du problème direct permet de simuler la mesure de signaux photo-acoustiques à partir d'une image représentant la distribution des coefficients d'absorption dans l'espace. Ces images, appelées ici fantômes, représentent la distribution des coefficients d'absorption pour une région de 40 millimètres par 40 millimètres. La figure 12 présente trois fantômes utilisés afin de simuler diverses acquisitions photo-acoustiques. Les deux premiers fantômes modélisent des gaussiennes, l'une centrée et l'autre décalée par rapport à l'origine. Le dernier fantôme est celui de Shepp-Logan, modifié afin de réduire le contraste entre le contour et les coefficients du centre. Une illumination est donc simulée sur ces fantômes, permettant de calculer les signaux photo-acoustiques pouvant être mesurés à différentes positions d'un transducteur selon le problème direct décrit au chapitre précédent.

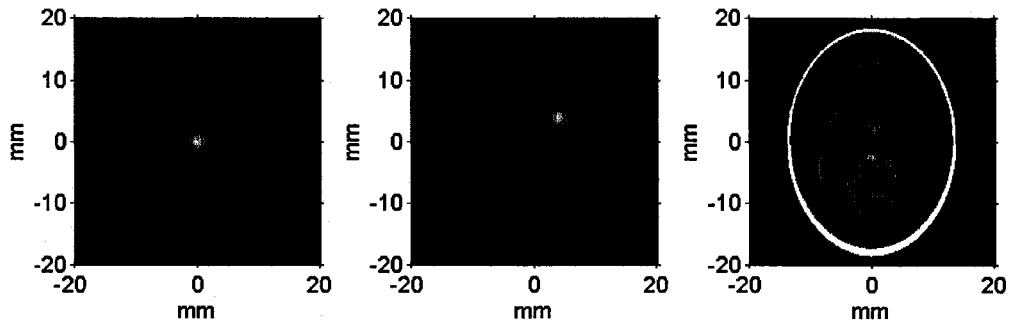


Figure 12 Fantômes simulés.

Étant donné que la forme réelle d'une impulsion laser ne peut être déterminée avec certitude à ce stade, une impulsion de type gaussienne est utilisée afin de modéliser cette dernière. L'équation 2.1 représente la fonction d'illumination utilisée, où la valeur de σ permet de définir la durée de l'impulsion. Un décalage temporel est appliqué afin que l'intensité lumineuse soit presque nulle au temps de départ.

$$I(t) = \exp\left(\frac{-(t - 4\sigma)^2}{2\sigma^2}\right) \quad (2.1)$$

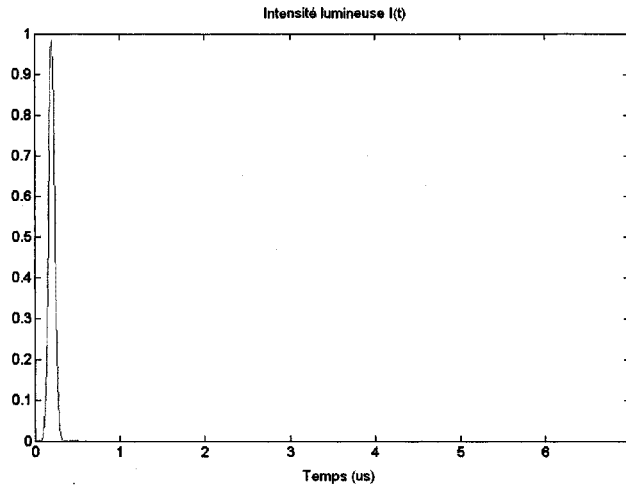


Figure 13 Exemple d'une impulsion laser simulée ($\sigma = 50\text{ns}$).

De plus, le signal de pression est obtenu à l'aide d'un transducteur d'ultrasons ayant une bande passante limitée. Cette bande passante doit être prise en considération lors d'une acquisition réelle. Ainsi, cette dernière est convoluée au signal de pression afin de simuler un signal acoustique réel. Cette bande passante est simulée à l'aide de la fonction 2.2.

$$BP(\omega) = \exp\left(\frac{-(\omega - \omega_0)^4}{2(0.6\omega_0)^4}\right) \quad (2.2)$$

Cette réponse est utilisée puisqu'elle est similaire à la réponse réelle d'un transducteur d'ultrasons (voir figure 44). Les réponses en fréquence des transducteurs réelles sont discutées plus en détail au chapitre suivant.

$$S(r, t) = p(r, t) * R(t) \quad (2.3)$$

En plus d'être limité par une bande-passante déterminée, un transducteur d'ultrasons a un champ d'opération qui dépend de sa géométrie. Ainsi, afin d'en modéliser l'effet sur

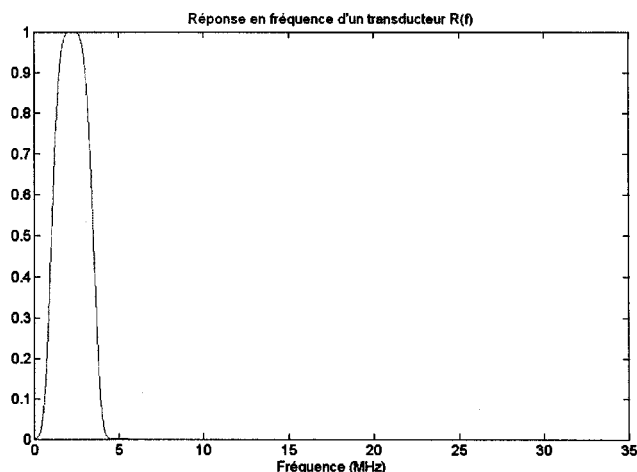


Figure 14 Exemple de la bande passante simulée d'un transducteur.

le signal capté, un transducteur est représenté par un ensemble de petits transducteurs ponctuels. Ainsi, il est possible de modéliser un transducteur selon sa taille, son rayon de courbure ainsi que le nombre d'éléments ponctuels le composant. Les signaux simulés pour chacun de ces éléments sont par la suite additionnés afin de déterminer le signal correspondant à un transducteur complet.

Enfin, une géométrie circulaire définit les positions de mesure d'un transducteur de façon à simuler un sinogramme. Ce sinogramme contient donc les signaux temporels simulés par un transducteur selon plusieurs positions équidistantes sur un cercle contenant le fantôme à imager. Un bruit gaussien est finalement ajouté au sinogramme afin de simuler des signaux réels.

La figure 16 représente des exemples de sinogrammes obtenus suite à la simulation de l'acquisition des fantômes de la figure 12.

On peut remarquer que la discrétisation des fantômes provoque un effet indésirable sur les sinogrammes obtenues. Des ondulations sont présentes sur les ondes de pression simu-

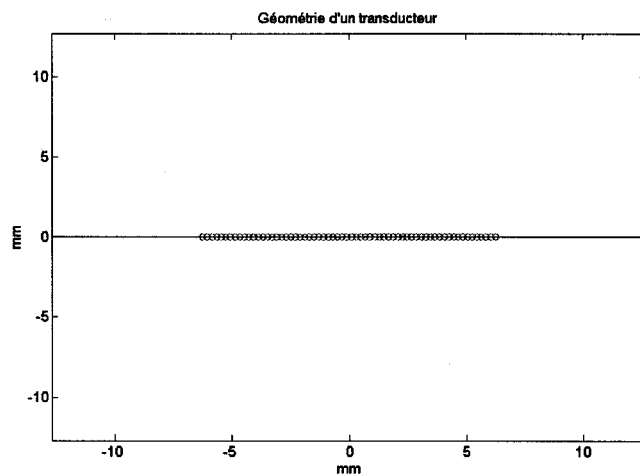


Figure 15 Exemple de la géométrie d'un transducteur.

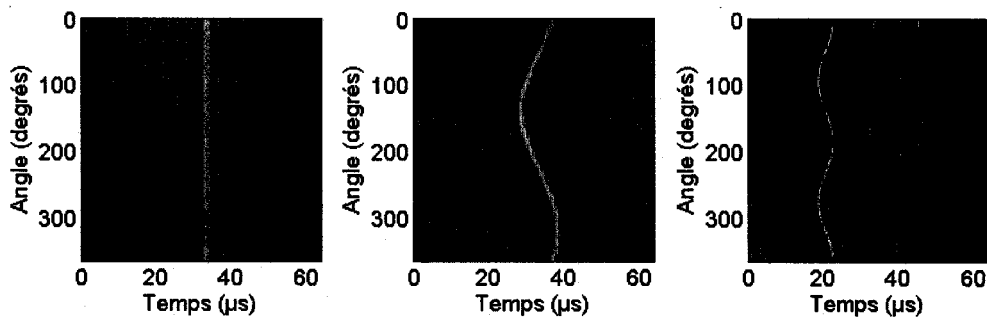


Figure 16 Sinogrammes simulés.

lées à certains angles. Ces ondulations peuvent avoir un effet négatif sur la reconstruction puisque l'amplitude des ondulations est parfois supérieure aux ondulations du signal.

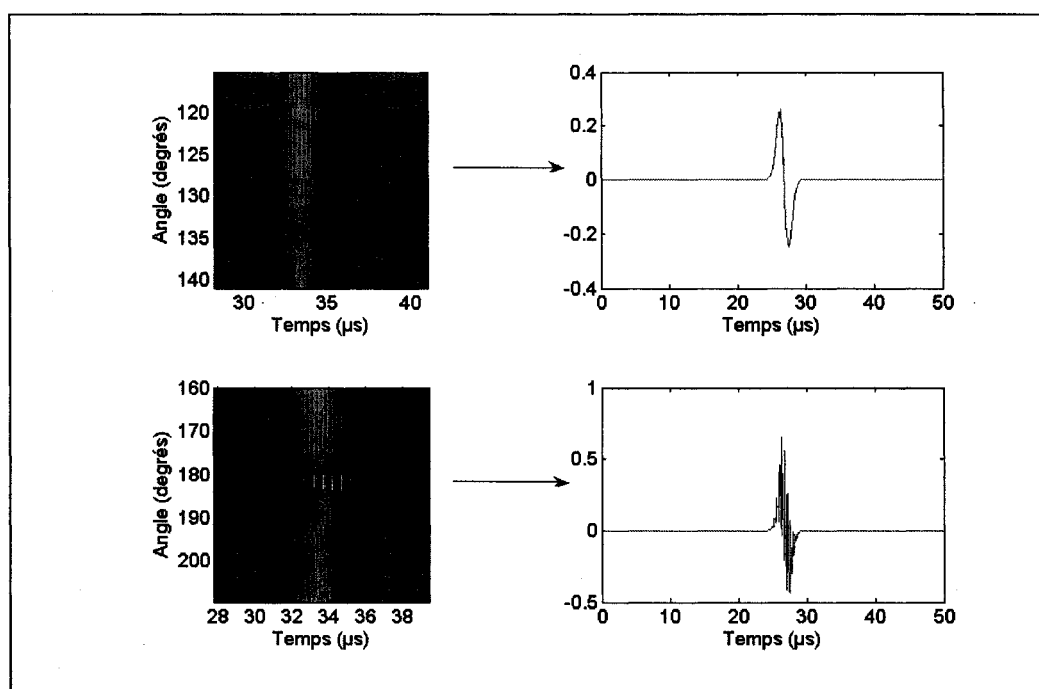


Figure 17 Effet de la discrétisation.

2.2 Problème inverse

L'implémentation du problème inverse consiste au développement de l'algorithme de reconstruction des images à partir des signaux photo-acoustiques. Cet algorithme peut être utilisé autant pour traiter des signaux simulés que des signaux réels.

Les figures 18, 19 et 20 représentent les résultats obtenus lors de la reconstruction des sinogrammes de la figure 16.

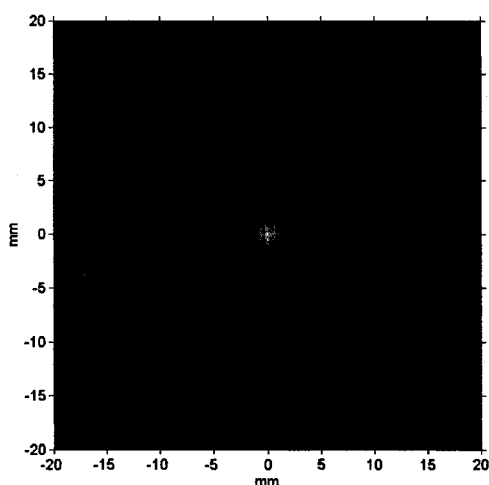


Figure 18 Reconstruction d'une gaussienne centrée.

On remarque que l'effet de la discrétisation est notable, principalement sur les fantômes représentant une gaussienne. Cet effet peut être diminué en augmentant la résolution spatiale des fantômes, mais au coût d'un temps de calcul beaucoup plus élevé. Ainsi, toutes les données synthétiques sont générées sur une résolution de 1024 par 1024 pixels afin de simplifier les calculs. Une autre approche serait d'estimer une fonction continue en utilisant une approximation cubique par exemple, de façon à réduire les effets de la discrétisation.

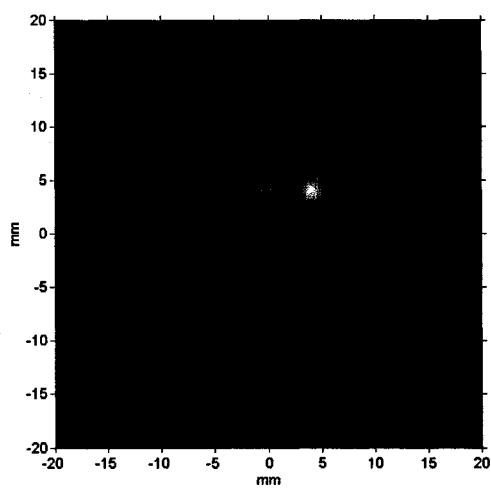


Figure 19 Reconstruction d'une gaussienne décalée.

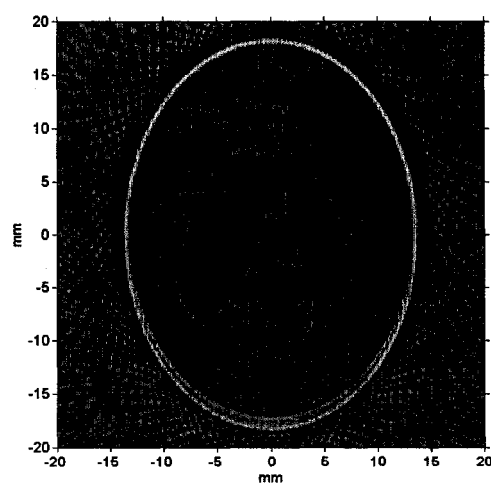


Figure 20 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan.

2.3 Etudes des paramètres

Les résultats présentés précédemment ont été générés en utilisant des paramètres fixes. Toutefois, certains de ces paramètres peuvent différer, ou être modifiés lors d'une acquisition réelle en imagerie photo-acoustique. Les prochaines sections décrivent l'impact de certains de ces paramètres sur la reconstruction des images.

Il est à noter que les paramètres suivants ont été utilisés pour les simulations précédentes et sont utilisés dans le cadre des analyses suivantes, sauf lorsque spécifié autrement.

- 1- Discrétisation du fantôme de 1024 par 1024 pixels.
- 2- Temps d'acquisition de 50 μ s.
- 3- Vitesse du son $c = 1.5$ millimètres par seconde.
- 4- Acquisition sur 2048 points temporels.
- 5- Impulsion lumineuse gaussienne utilisant un σ de 50 ns.
- 6- Transducteur idéal (bande passante infinie).
- 7- Transducteur ponctuel.
- 8- Rapport signal sur bruit infini.
- 9- Espacement entre les détecteurs de 3.6 degrés.
- 10- Distance entre l'origine des fantômes et le transducteur de 40mm.

2.3.1 Impulsion laser

En pratique, l'impulsion laser utilisée pour illuminer les molécules peut durer jusqu'à quelques centaines de nanosecondes. Cependant, la durée exacte de cette impulsion peut varier d'un système à un autre en fonction de la longueur d'onde ainsi que de la source utilisée. Les résultats suivants représentent les images reconstruites selon une impulsion gaussienne dont la valeur du σ varie.

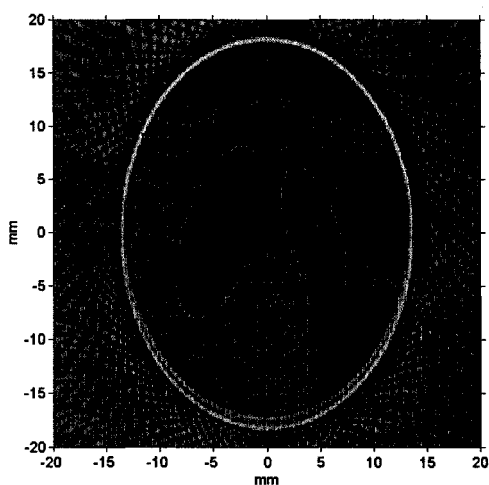


Figure 21 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan ($\sigma = 100$ ns).

On remarque que des composantes de basses fréquences deviennent dominantes lorsque l'impulsion laser se prolonge. Ainsi, il est préférable que cette dernière soit de courte durée afin de limiter son influence sur le signal obtenu.

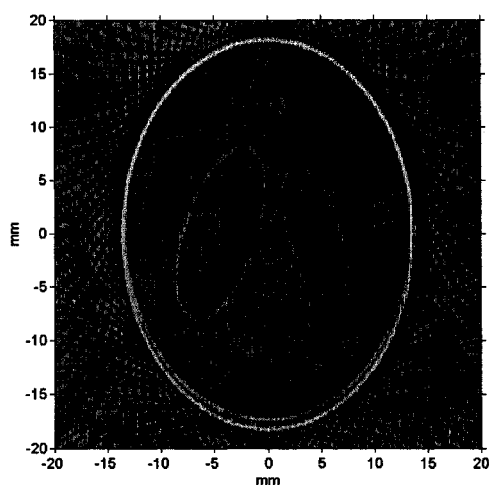


Figure 22 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan ($\sigma = 200$ ns).

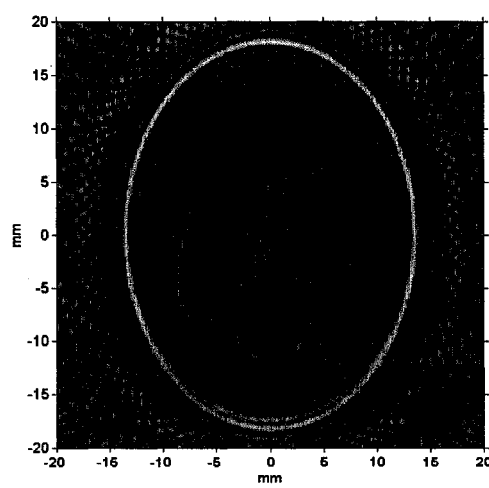


Figure 23 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan ($\sigma = 500$ ns).

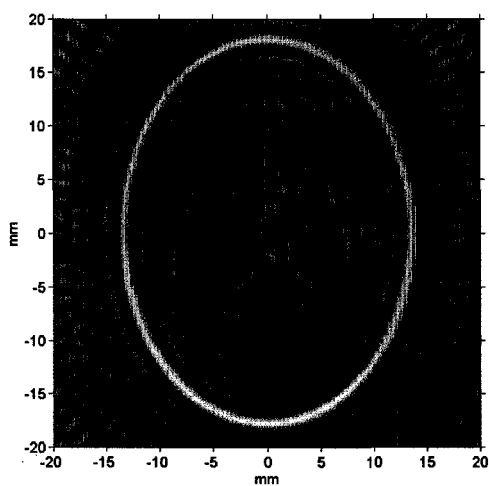


Figure 24 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan ($\sigma = 1000$ ns).

2.3.2 Réponse des transducteurs

En pratique, les transducteurs permettant de capter l'onde thermo-acoustique ont une largeur de bande bien précise. Plusieurs types de transducteurs peuvent être utilisés en imagerie photo-acoustique. Les transducteurs permettant de capter les hautes fréquences sont habituellement utilisés pour imager les détails, alors que les transducteurs à basses fréquences permettent d'imager les formes principales. Cependant, l'onde acoustique est plus sujet à l'atténuation à hautes fréquences, ce qui limite l'utilisation de transducteurs à ces fréquences. Les résultats suivants sont obtenus en simulant quelques fréquences de transducteurs. Il est toutefois à noter que l'atténuation n'est pas considérée dans les calculs.

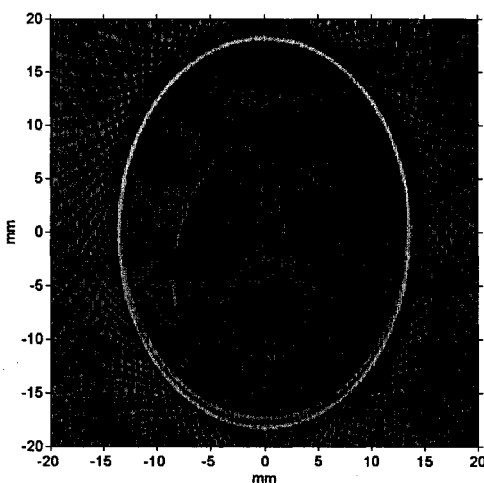


Figure 25 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 2.25 MHz).

L'utilisation de transducteurs à basses fréquences permet de bien représenter les contrastes entre les différents coefficients d'absorption. Cependant, les transitions tendent à être floues. Les transducteurs à plus hautes fréquences permettent de bien représenter les transitions abruptes, mais tendent à perdre l'information sur les coefficients d'absorption. De plus, l'atténuation du signal acoustique dépend de la fréquence, il pourrait donc être avantageux de combiner plusieurs types de transducteurs de façon à reconstruire une image en

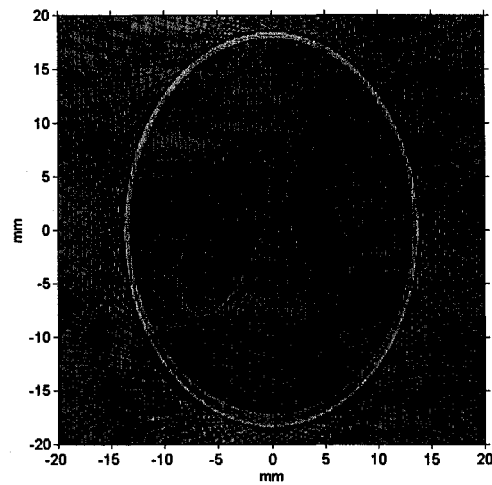


Figure 26 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 3.5 MHz).

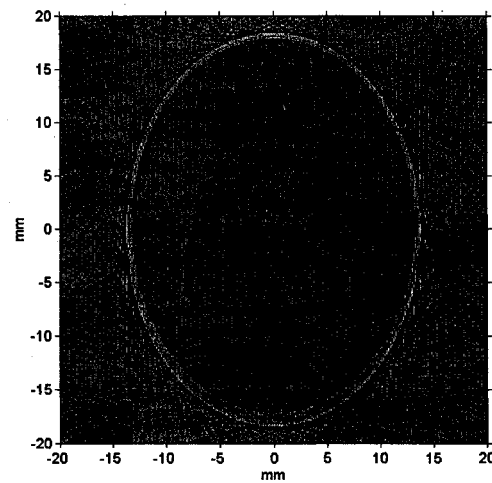


Figure 27 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 5 MHz).

utilisant toute l'information disponible. Cependant, l'acquisition sur plusieurs fréquences peut demander un temps d'acquisition nettement supérieur en fonction du système d'acquisition utilisé.

2.3.3 Nombre de transducteurs

Le temps d'acquisition en imagerie photo-acoustique dépend grandement du nombre de positions angulaires nécessaires afin de reconstruire une image. Il est donc intéressant de déterminer le nombre minimal de positions permettant d'obtenir une certaine qualité d'image. Les figures suivantes représentent le résultat des reconstructions pour plusieurs nombres de positions angulaires.

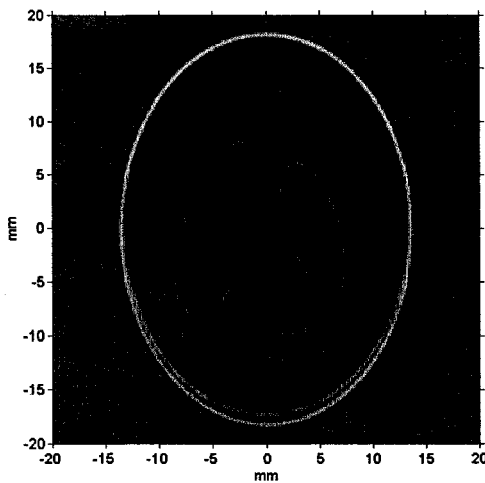


Figure 28 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (250 positions).

On remarque que lorsque le nombre de positions est trop faible, les artefacts créés par la rétroprojection deviennent prédominants sur la région d'intérêt. Il importe donc d'effectuer le plus de mesures possibles afin de pouvoir négliger cet effet. Cependant, un compromis doit être effectué afin de ne pas augmenter de façon significative le temps d'acquisition.

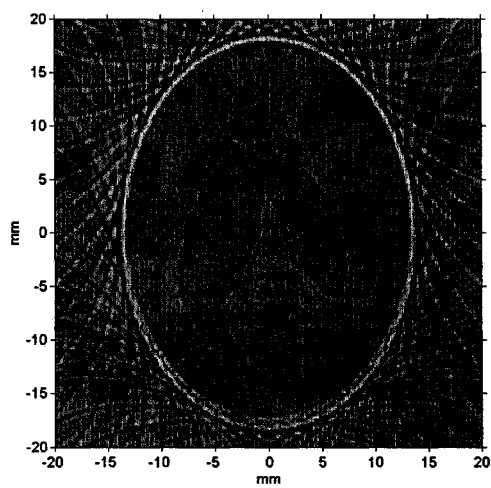


Figure 29 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (50 positions).

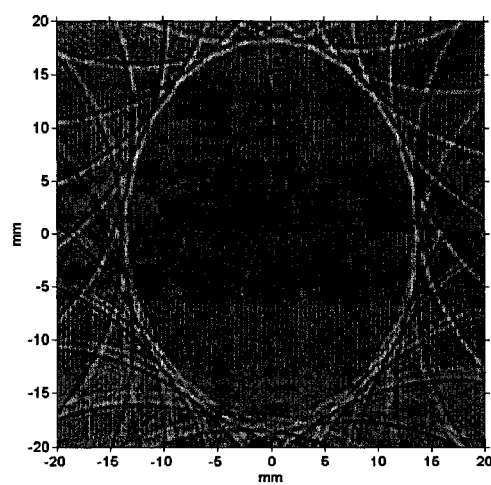


Figure 30 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (25 positions).

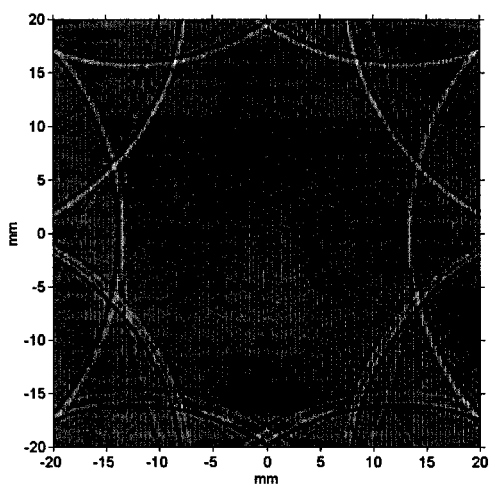


Figure 31 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (10 positions).

2.3.4 Effet du bruit

Les résultats précédents ont été générés à partir de sinogrammes dont le rapport signal sur bruit est infini. Cependant, ce type de signal peut être grandement bruité en réalité. Les résultats suivants représentent les reconstructions obtenues en ajoutant un bruit gaussien au sinogramme avant la reconstruction. Afin d'évaluer l'impact du bruit sur la déconvolution de la réponse du système, la bande passante des transducteurs est ici centrée à 2.25MHz.

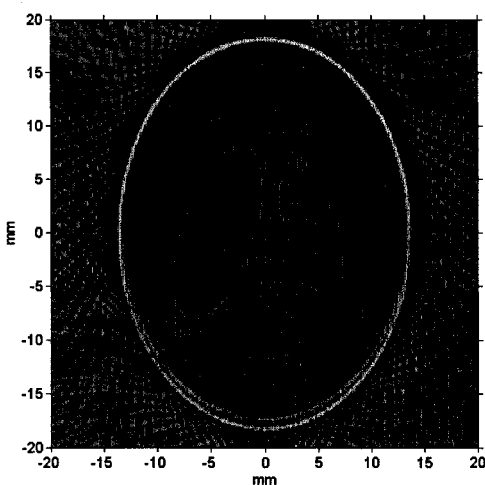


Figure 32 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (rapport signal sur bruit de 20 dB).

On remarque que la reconstruction de l'image est relativement robuste en présence de bruit. Par contre, l'image reconstruite est de moins en moins définie avec la diminution du rapport signal sur bruit. Il serait intéressant d'envisager des techniques de débruitage sur le sinogramme avant de reconstruire les images.

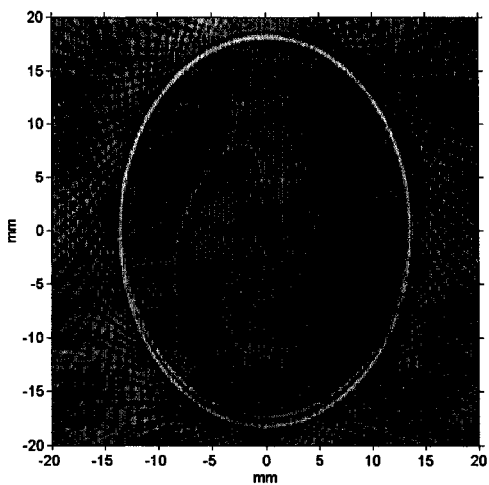


Figure 33 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (rapport signal sur bruit de 15 dB).

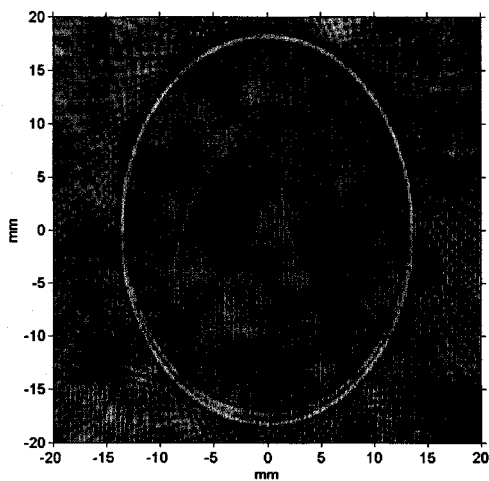


Figure 34 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (rapport signal sur bruit de 10 dB).

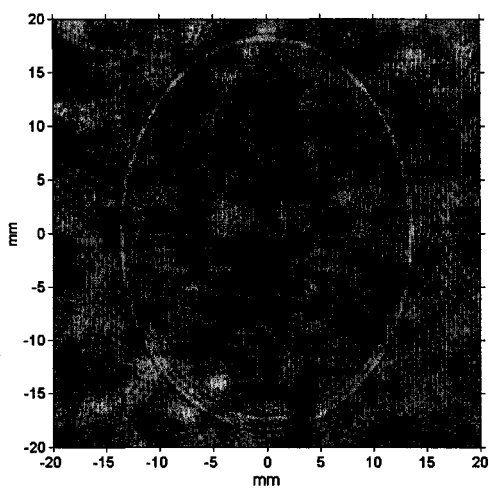


Figure 35 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (rapport signal sur bruit de 5 dB).

2.3.5 Distance et géométrie des transducteurs

Les données précédantes ont été générées en simulant des transducteurs ponctuels. Or, les transducteurs réels ont une taille bien précise pouvant influencer le signal mesuré. Ainsi, la distance à laquelle se trouve le transducteur par rapport à l'origine du fantôme peut avoir un impact sur le signal. Un transducteur plat dont le diamètre est de 12.7 mm est simulé afin d'évaluer l'impact de la distance du transducteur sur le signal capté. Les figures 36 à 39 présentent les images reconstruites pour des distances variant de 25 à 70 millimètres. Il est à noter que le temps d'acquisition ainsi que le nombre de points temporels d'acquisition ont été augmentés à 65 microsecondes et à 4096 points respectivement afin de compenser l'éloignement des transducteurs.

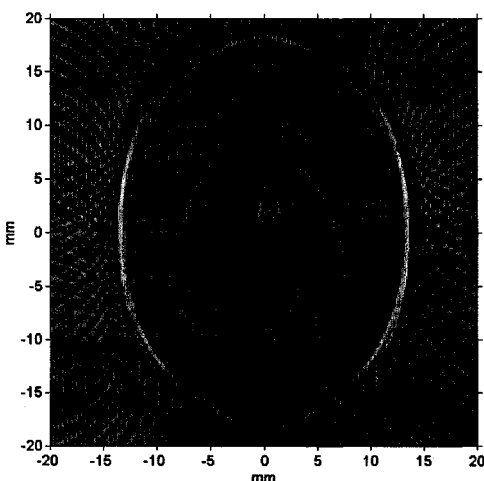


Figure 36 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 12.7 mm de diamètre placé à 25 mm de l'origine).

On remarque que plus le transducteur est éloigné du plan à imager, meilleure est la définition de l'image. Cependant, il peut être difficile d'éloigner le transducteur en réalité à cause de contraintes mécaniques. De plus, le signal mesuré peut être sujet à l'atténuation du signal avec la distance parcouru.

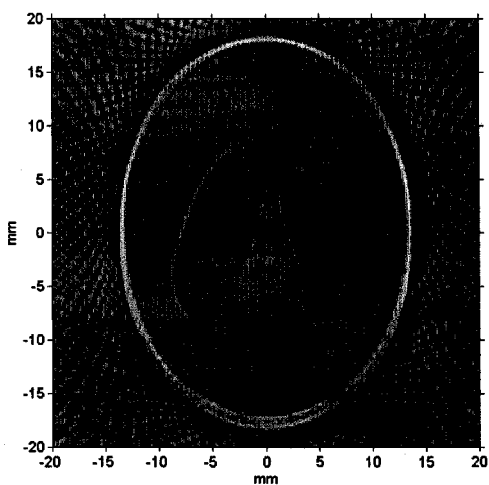


Figure 37 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 12.7 mm de diamètre placé à 40 mm de l'origine).

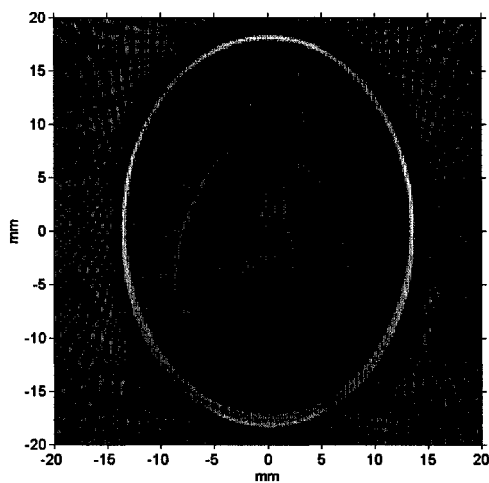


Figure 38 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 12.7 mm de diamètre placé à 55 mm de l'origine).

Les transducteurs sont en fait caractérisés par une région de champ proche et une région de champ lointain. Le champ proche correspond à la région la plus proche du

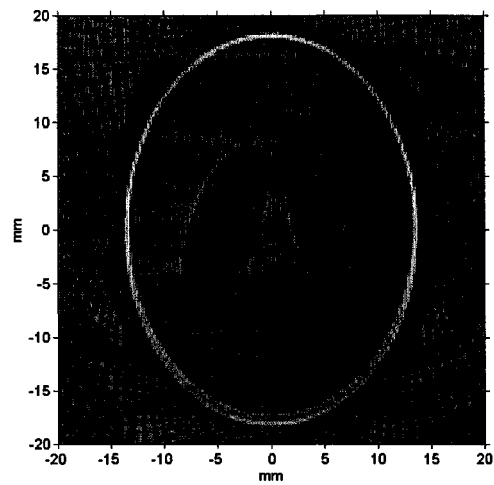


Figure 39 Reconstruction du fantôme de Shepp-Logan (transducteur de 12.7 mm de diamètre placé à 70 mm de l'origine).

transducteur et pour laquelle le signal perçu est perturbé par la géométrie du transducteur. Le concept de champ proche est décrit plus en détail au chapitre suivant.

CHAPITRE 3

SYSTÈME D'ACQUISITION

3.1 Description

Le système d'acquisition a pour but de permettre l'acquisition de données réelles. Ces données sont par la suite utilisées afin de reconstruire des images du milieu imagé en remplacement des données synthétiques générées précédemment. Ce système est développé en se basant sur des travaux réalisés en 2002 [20] ayant permis d'obtenir une résolution spatiale d'environ 200 micromètres. Cette configuration permet de développer un prototype simple nécessitant peu de mécanique et pouvant imager des échantillons afin de calibrer l'appareil. Ce type d'appareil peut aussi être adapté afin d'effectuer des mesures sur de petits animaux par la suite [9]. Ce chapitre comprend la description des composantes optiques, mécaniques et électriques suivantes. Le traitement numérique des données est détaillé au prochain chapitre.

- Source laser.
- Transducteurs d'ultrasons.
- Système d'amplification.
- Système mécanique.

3.2 Source laser

Un système laser configurable Opolette 355 II de la compagnie OPOTEK est utilisé afin d'illuminer le milieu à imager et ainsi augmenter le niveau d'énergie des molécules dans le but de produire un signal photo-acoustique. Ce système comprend une source laser pulsée de type Nd :YAG ainsi qu'un module permettant de sélectionner la longueur d'onde et

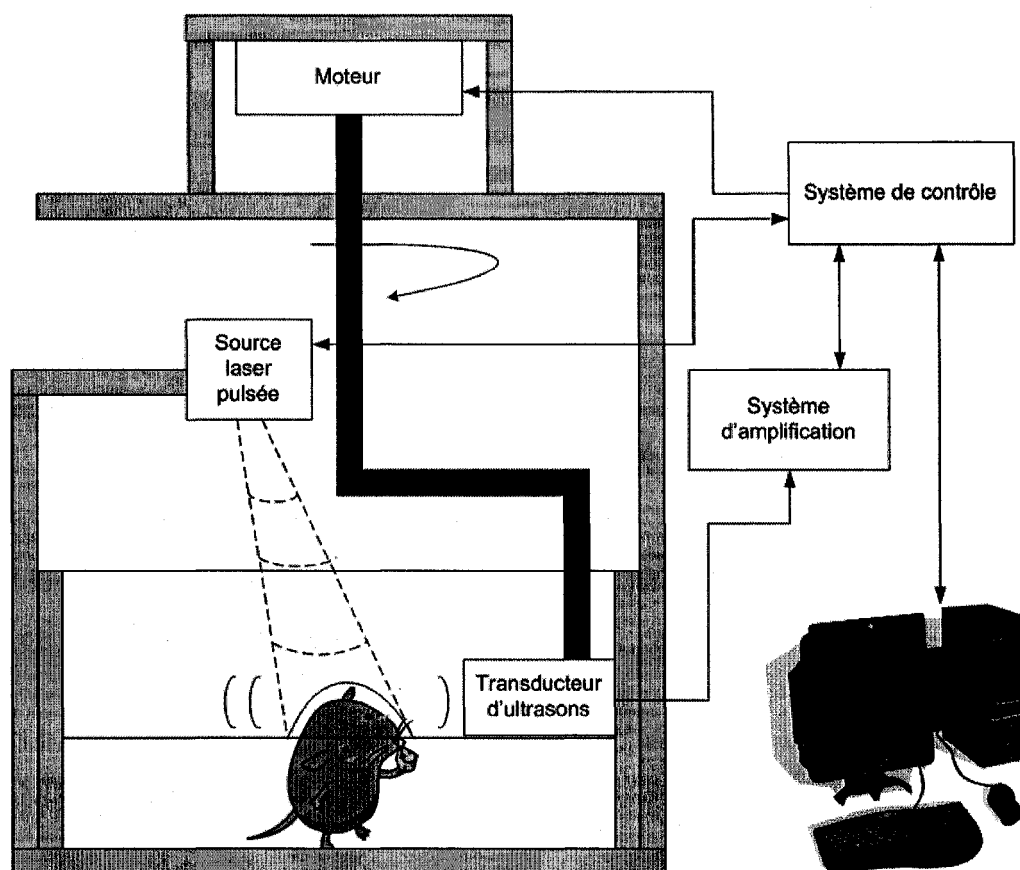


Figure 40 Système d'acquisition.

la puissance de la source. Ce module est utile afin de comparer les mesures obtenues à différentes longueurs d'ondes. En effet, cette option permet entre autre de cibler des molécules dont le spectre d'absorption est connu. Par exemple, le spectre d'absorption du GFP a un maximum à 475 nanomètres. En effectuant des mesures à 475 nanomètres, ainsi qu'à une longueur d'onde pour laquelle le GFP n'absorbe pas de lumière, il est possible de séparer les composantes du signal résultantes de l'absorption du GFP. Cependant, la puissance du laser n'est pas constante et varie selon la longueur d'onde de la source. Cette variation est toutefois donnée par le fabricant et doit être considérée dans l'analyse des résultats.

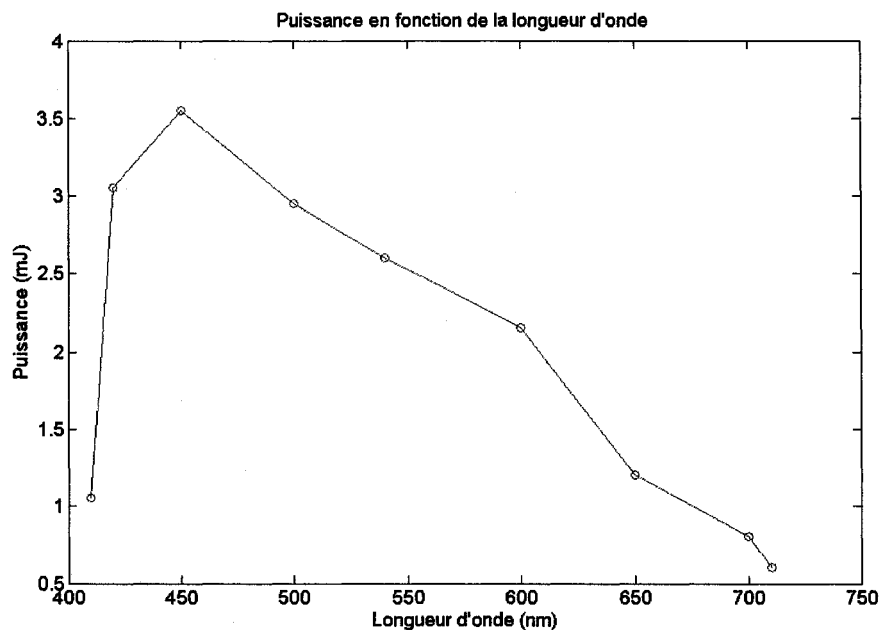


Figure 41 Puissance de la source laser en fonction de la longueur d'onde.

La fréquence d'opération maximale du laser est de 20 Hz, ce qui permet d'obtenir 20 impulsions lumineuses par seconde. En considérant que la puissance maximale pouvant être obtenue est d'environ 3.5 millijoules par impulsion, on obtient 70 millijoules par seconde. La sortie du laser est transmise vers un collimateur à travers une fibre optique. Ce collimateur permet d'obtenir un faisceau laser sensiblement homogène sur la surface du milieu à imager.

Le contrôle du laser s'effectue à l'aide d'un logiciel fourni par le fabricant. Les commandes sont acheminées par l'entremise du port sériel via un ordinateur personnel. Le système laser comprend aussi une sortie TTL accessible par l'entremise d'un connecteur BNC qui signale chaque impulsion du laser. Ce signal est utilisé par le système de contrôle afin de synchroniser l'acquisition des mesures.

Toutefois, la configuration utilisée ne permet pas de placer la collimateur directement au-dessus du milieu à imager. Tel que présenté à la figure 40, le collimateur est placé à côté du bras permettant d'effectuer la rotation du transducteur. En conséquence, la lumière ne peut se rendre jusqu'au milieu à imager lorsque le bras est positionné sous le collimateur. Ainsi, le système présente un angle mort empêchant d'illuminer le milieu à imager pour certaines positions du transducteur. Une solution envisagée serait de placer le moteur plus loin et d'utiliser un système de courroies afin d'effectuer la rotation du transducteur. Le collimateur pourrait ainsi être positionné au centre de l'axe de rotation.

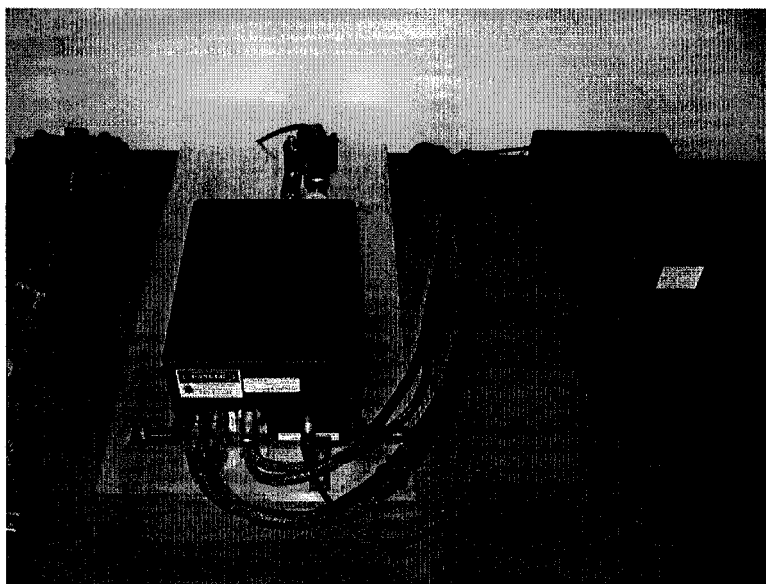


Figure 42 Source laser.

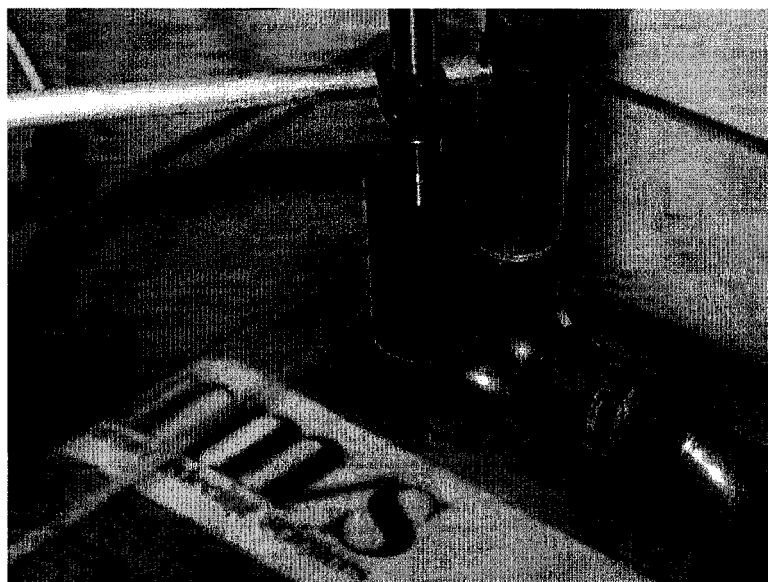


Figure 43 Collimateur de la source laser.

3.3 Transducteur d'ultrasons

Lorsque les molécules ciblées reçoivent l'impulsion laser, une onde thermo-acoustique est produite. Un transducteur d'ultrasons est utilisé afin de capter cette onde et la transformer en un signal électrique pouvant être analysé par la suite. Afin d'assurer que les changements d'impédances acoustiques rencontrés lors de la propagation de l'onde ne provoquent pas une trop grande perte de signal, un couplage acoustique doit être réalisé entre un transducteur et le milieu à imager. L'impédance acoustique des tissus mous est de l'ordre de 1.63. De l'eau (1.58) est donc utilisé comme médium de propagation. Le transducteur, ainsi que le milieu à imager, sont donc immergés sous l'eau. Le couplage d'impédances entre les tissus mous et l'eau favorise la propagation de l'onde comparativement au couplage acoustique entre les tissus et l'air ambiant. L'équation 3.1 permet de déterminer l'atténuation ATT du signal acoustique selon les changements d'impédances acoustiques :

$$ATT = 10 \log_{10} \left[\frac{4Z_1 Z_2}{(Z_1 + Z_2)^2} \right] \quad (3.1)$$

où Z_i représente l'impédance acoustique d'un milieu i .

Le tableau I permet donc de comparer l'atténuation selon différents couplages acoustiques.

Tableau I

Atténuation résultant du changement d'impédance acoustique.

Z_1	Z_2	Atténuation (dB)
Tissus mous (1.63)	Eau (1.58) (20°C)	-0.0011
Tissus mous (1.63)	Air (0.0004) (20°C)	-30.0828

En conséquence, des transducteurs immersibles de la compagnie Panametrics Inc. sont utilisés. Un adaptateur permet d'effectuer le branchement entre un transducteur et un câble BNC afin de transmettre le signal mesuré. Le tableau II présente les différents types de transducteurs utilisés.

Tableau II

Types de transducteurs utilisés.

Modèle	Fréquence (MHz)	Diamètre (mm)
V306	2.25	12.7
V384	3.5	6.35
V309	5	12.7

La fréquence d'opération des différents transducteurs permet d'apporter une information différente sur le signal. Un transducteur opérant à plus basse fréquence permet de détecter des variations plus douces de l'absorption de la lumière par les tissus, alors qu'un transducteur opérant à plus hautes fréquences est plus adapté pour détecter les variations brusques.

En plus de la bande passante, les transducteurs sont caractérisés par leur champ acoustique. Ce champ acoustique est divisé en deux régions, soit le champ proche et le champ lointain. Ce champ correspond à l'intensité du signal capté en fonction de la position d'une source acoustique. Le champ proche est caractérisé par une série de minimums et de maximums, et se termine au dernier maximum. Le champ lointain correspond à l'atténuation suivant le dernier maximum du champ acoustique. L'appareil photo-acoustique décrit ici effectue des mesures sur 360 degrés et utilise un algorithme de rétroprojection circulaire afin de reconstruire des images. Il importe donc que le signal photo-acoustique provenant d'une source puisse être mesuré sans trop de variations selon la position d'un transducteur. Une source située dans le champ proche peut être mesurée différemment selon qu'elle se trouve vis-à-vis un minimum ou un maximum du champ acoustique. En contre-partie, une source

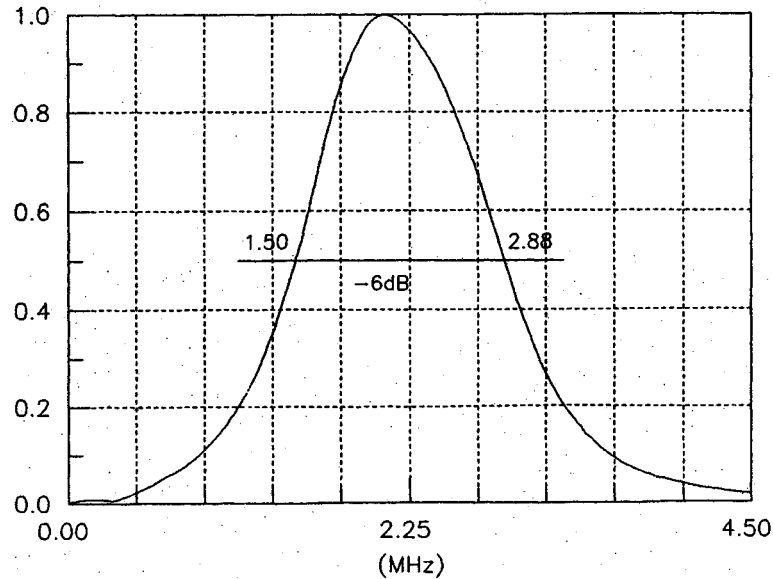


Figure 44 Exemple de la bande passante d'un transducteur (2.25 MHz).

située dans le champ lointain sera mesurée selon une amplitude décroissante en fonction de sa distance avec le transducteur. Les différentes mesures sont donc mieux corrélées lorsque prises dans le champ lointain. L'équation 3.2 permet de calculer la distance à laquelle le champ proche se termine :

$$NF = \frac{D^2 f}{4c} \quad (3.2)$$

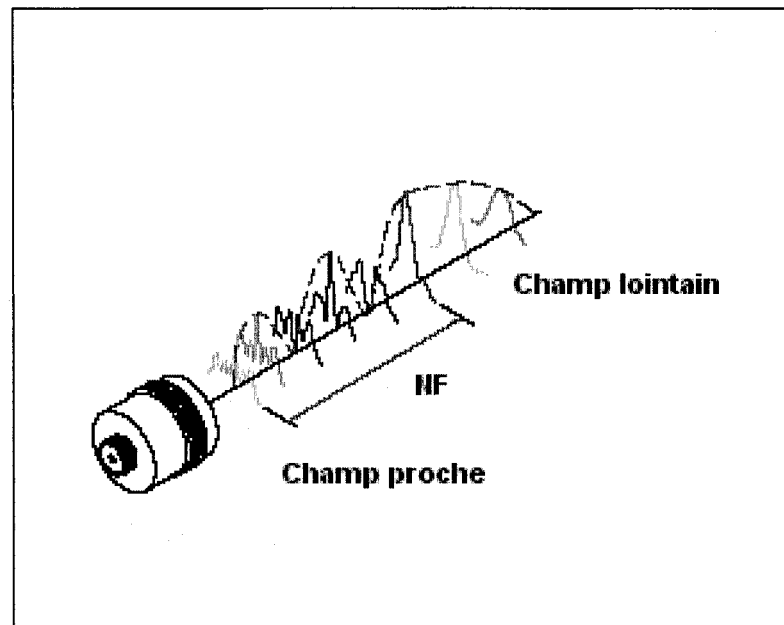
où NF représente la distance à laquelle se termine le champ proche, D le diamètre du transducteur, f la fréquence du transducteur et c la vitesse du son. La vitesse du son dans l'eau est évaluée à environ 1.5 millimètres par microsecondes.

Le tableau III présente les distances du champ proche pour les trois transducteurs utilisés.

Tableau III

Distances du champ proche.

Modèle	Distance (mm)
V306	60.484
V384	23.521
V309	134.408

Figure 45 Champ acoustique d'un transducteur (Panametrics-NDTTM[13]).

En champ lointain, le champ acoustique d'un transducteur est caractérisé par un angle d'ouverture pour lequel une source peut être détectée. L'angle α représente l'angle pour lequel l'atténuation de l'intensité pouvant être mesurée est inférieure à six décibels. L'équation 3.3 permet de calculer cet angle pour un transducteur plat.

$$\sin(\alpha/2) = \frac{0.514c}{fD} \quad (3.3)$$

Le tableau IV représente l'angle d'ouverture pour les modèles V306 et V309 utilisés.

Tableau IV

Angles d'ouverture du champ acoustique.

Modèle	α (degrés)
V306	3.0922
V309	1.3914

Dans le cas d'un transducteur focalisé, le champ acoustique converge. C'est pourquoi l'angle d'ouverture ne peut être déterminé comme dans le cas des transducteurs plats. Ces transducteurs sont caractérisés par une longueur focale, correspondant au point où la sensibilité est maximale. La longueur focale des transducteurs plats correspond approximativement à la distance du champ proche, alors que celle du modèle V384 est définie à 16.51 millimètres.

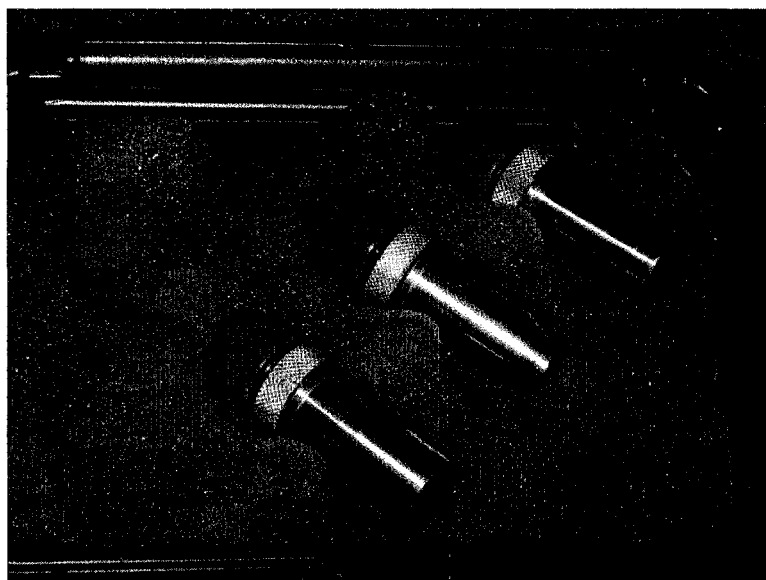


Figure 46 Modèles de transducteurs utilisés.

3.4 Amplificateur

Le signal électrique provenant des transducteurs d'ultrasons est de très faible amplitude, soit de l'ordre de quelques microvolts. Or, ce signal est par la suite numérisé afin de pouvoir l'analyser à l'aide l'algorithmes numériques de traitement du signal. Un étage d'amplification est donc inséré entre le transducteur et le système de contrôle responsable de l'analyse et du traitement des signaux.

Un amplification ZFL-500LN de la compagnie Mini-Circuits est utilisé comme premier étage d'amplification. Cet étage permet d'obtenir un gain de 24 dB. Un amplificateur Noise Suppressor II de la compagnie SLX Inc. est utilisé comme second étage d'amplification afin d'obtenir un gain supplémentaire de 30 dB.

L'ajout de 54 dB de gain sur le signal provenant du transducteur d'ultrasons permet d'élever l'amplitude du signal électrique suffisamment afin que le convertisseur analogique à numérique utilisé dans le système de contrôle soit en mesure de numériser les signaux mesurés.

3.5 Système mécanique

Un système mécanique permet de coupler les différentes composantes décrits précédemment et d'effectuer des mesures photo-acoustiques. Dans un premier temps, un moteur est utilisé afin d'effectuer des mesures selon plusieurs positions de façon automatique. Un moteur pas-à-pas de série CSK de la compagnie Oriental Motors Inc. est utilisé afin de déplacer un bras auquel le transducteur est accroché. Ce moteur permet d'obtenir une précision de 0.72 degrés et ainsi obtenir des mesures jusqu'à 500 positions différentes par rotation.

Le moteur est alimenté par un convertisseur permettant d'alimenter le moteur en courant à partir de signaux logiques. Ce convertisseur est alimenté grâce à une source de tension de 24 volts.

Le moteur est toutefois à la source d'un bruit électromagnétique considérable. Le premier étage d'amplification est très sensible à ce bruit. Afin d'en limiter les effets, la masse de cet amplificateur est reliée à la mise à terre de l'appareil, réduisant ainsi les fluctuations du signal amplifié.

Un bras formé de tuyaux de cuivre est fixé sur le rotor du moteur. Une fixation en plastique permet de fixer un transducteur d'ultrasons à l'autre bout. Le moteur est donc en mesure de faire tourner le transducteur sur un rayon d'environ 37.5 millimètres selon le transducteur utilisé. Un ajustement millimétrique permet aussi d'ajuster la position du moteur verticalement, de façon à positionner l'axe de rotation sur le plan à imager.

Enfin, un bassin rempli d'eau est utilisé afin d'effectuer le couplage entre le milieu à imager et le transducteur. La taille de ce bassin est de 40 cm par 40 cm. L'adaptateur permettant de fixer le transducteur sur un câble BNC a une longueur de 14 cm. À cause

de la taille du bassin et de cet adaptateur, il est difficile d'obtenir une distance supérieure à 37.5 mm entre le transducteur et l'origine du plan de détection. Cette limitation ne permet donc pas d'effectuer des mesures en champ lointain pour les modèles V306 et V309 de transducteurs.

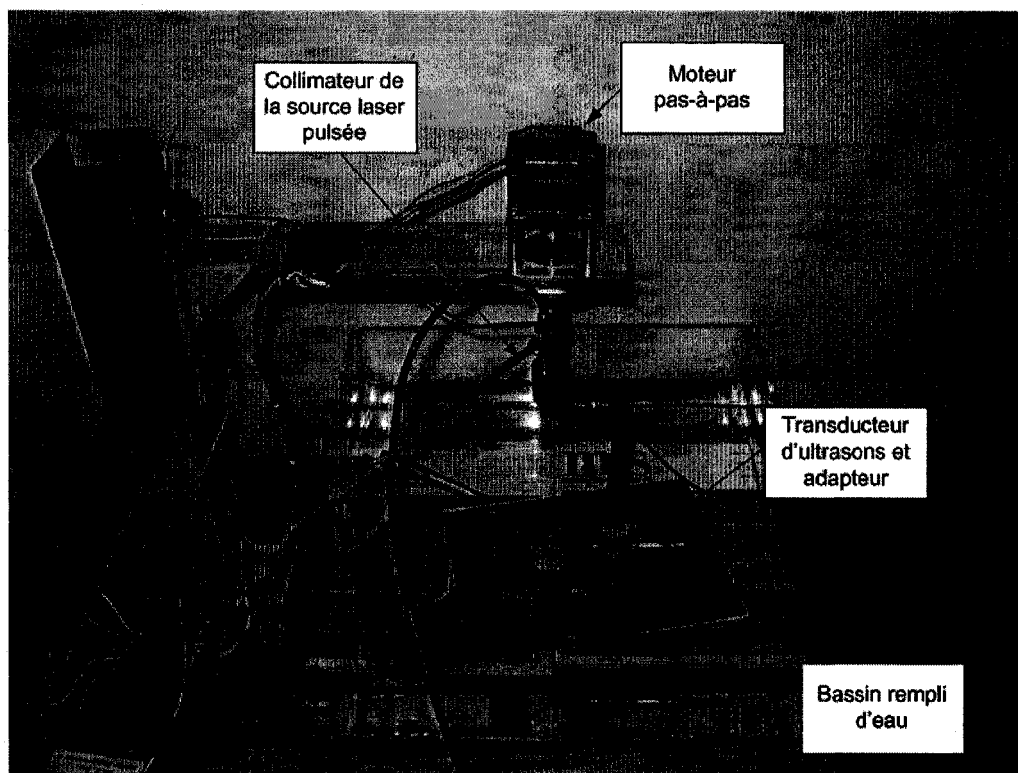


Figure 47 Appareil d'imagerie photo-acoustique.

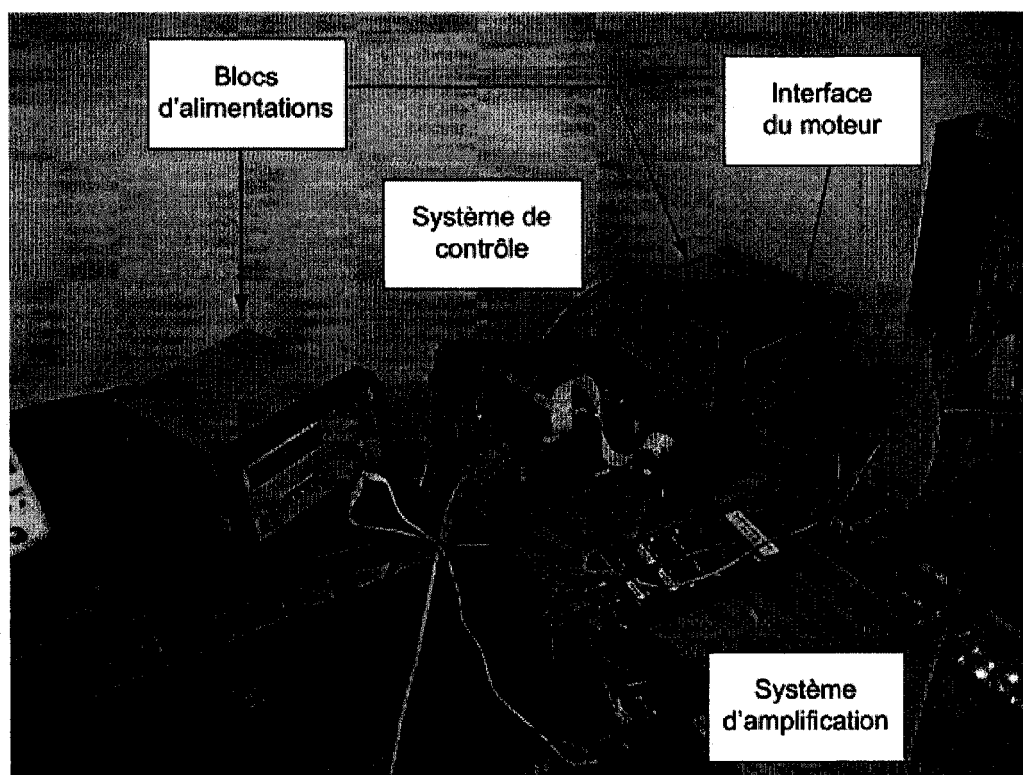


Figure 48 Appareil d'imagerie photo-acoustique.

CHAPITRE 4

SYSTÈME DE CONTRÔLE

4.1 Description

Le système de contrôle permet d'interagir avec les différents composants de l'imageur photo-acoustique, dont un ordinateur personnel utilisé comme interface. Cet ordinateur comprend le logiciel utilisé pour transmettre des commandes vers le système de contrôle qui les interprète et les exécute par la suite. Les données recueillies sont ensuite retransmises à l'ordinateur pour des fins d'analyse. Il est toutefois à noter que la source laser dispose de son propre logiciel de contrôle fourni par le fabricant et est donc indépendante du système de contrôle.

Le système de contrôle est conçu sur un circuit de développement *Altera Stratix EP1S80 DSP*. Ce circuit comprend un FPGA dans lequel plusieurs modules sont programmés en langage VHDL. Il comprend aussi quelques périphériques externes qui seront utilisés pour effectuer l'acquisition du signal acoustique. Le cristal de 80 MHz disponible sur le circuit sera utilisé afin de générer un signal d'horloge. Ce signal permet de synchroniser tous les processus du système de contrôle. De plus, deux canaux de conversion analogique à numérique (CAN) sont disponibles. Un des canaux est utilisé afin de convertir le signal analogique provenant du transducteur d'ultrasons en un signal numérique de 12 bits. Cet échantillonnage s'effectue à la même fréquence que l'horloge principale du système, soit 80 millions échantillons par seconde. Jusqu'à 8 mégaoctets de mémoire sont aussi disponibles afin de sauvegarder temporairement des données; cet espace mémoire est utilisé comme une mémoire tampon lors de l'acquisition du signal acoustique. Enfin, plusieurs ports de données sont disponibles afin d'échanger des signaux avec d'autres modules externes. Un port de communication sériel est utilisé afin de permettre l'échange de données entre le système de contrôle et l'ordinateur de

commande. De plus, un port de données parallèles est utilisé afin d'interfacer avec le moteur. Un bouton poussoir permet finalement d'initialiser le système.

La programmation VHDL du système de contrôle est divisée en plusieurs modules permettant d'accomplir une ou plusieurs tâches bien précises. Les modules implémentés dans le FPGA sont les suivants :

- Le module d'acquisition.
- Le module de gestion des données.
- Le module de contrôle du moteur.
- Le module de communication.

Les prochaines sections décrivent chacun des modules du système de contrôle. Tous ces modules sont reliés par l'entremise de signaux internes (voir tableau V) leur permettant d'interagir entre eux. Certains de ces signaux proviennent ou encore sont acheminés vers un port externe afin d'interfacer avec les modules externes.

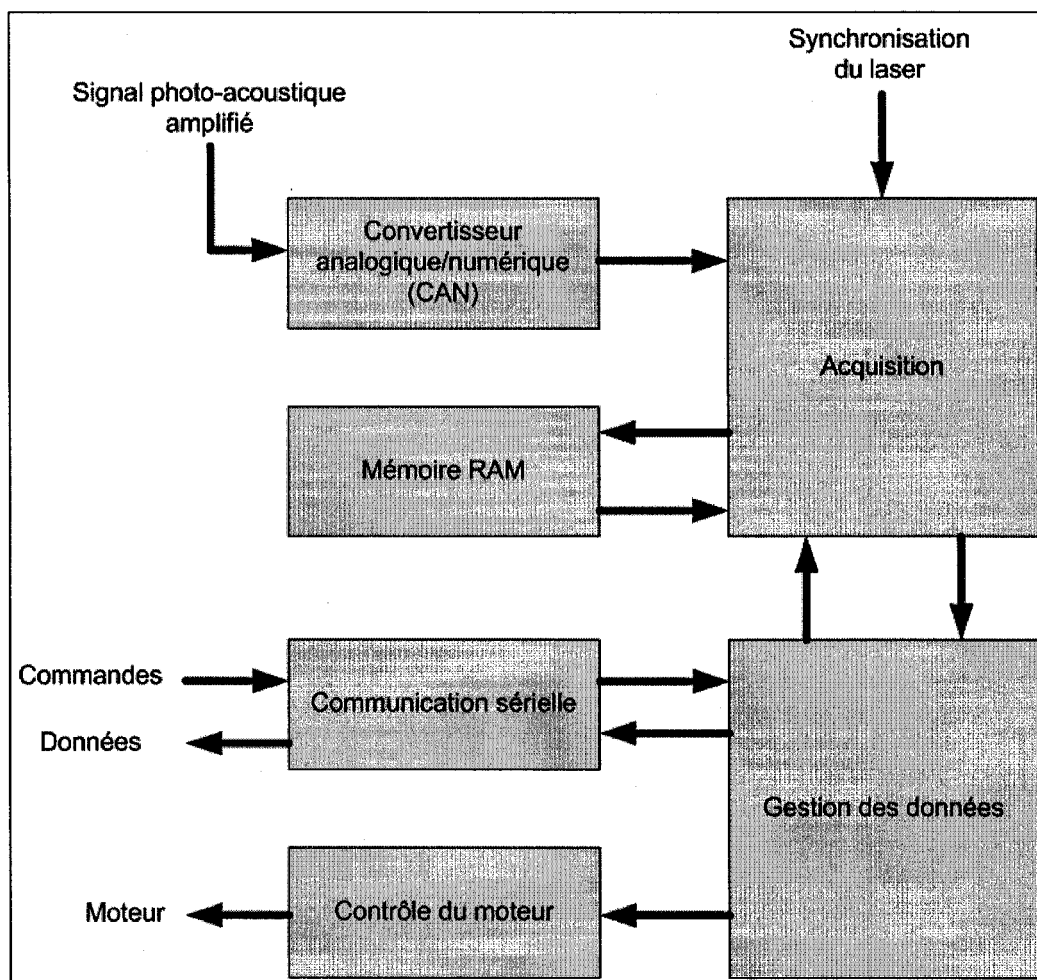


Figure 49 Schéma bloc du système de contrôle.

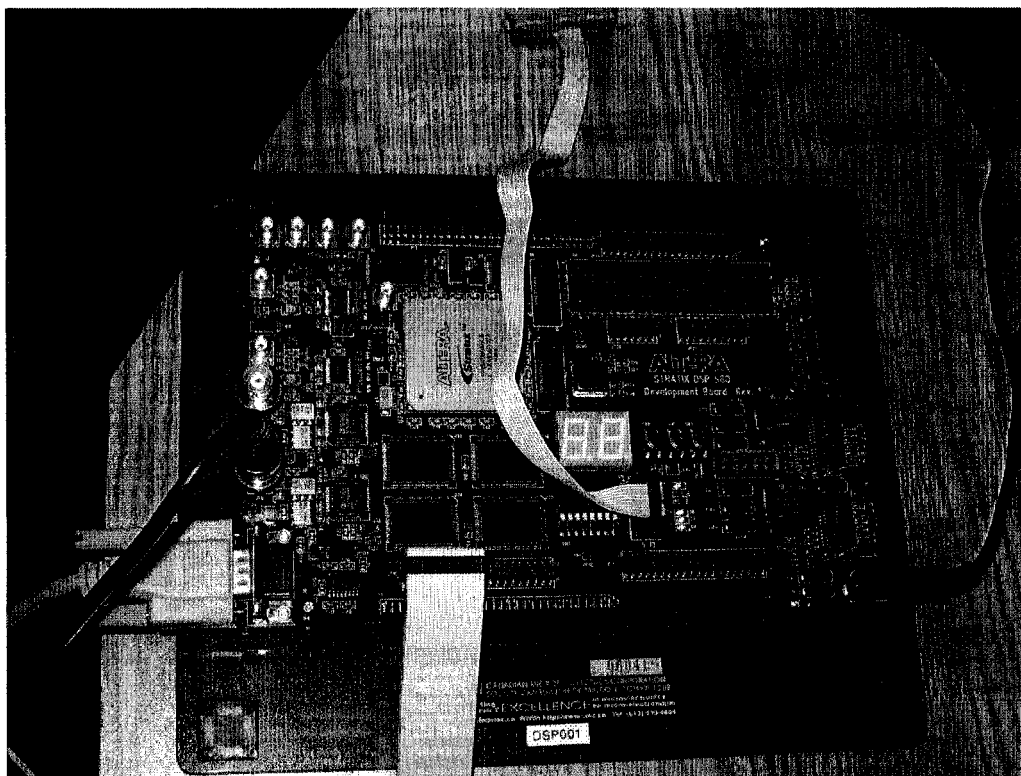


Figure 50 Circuit de développement *Altera Stratix EP1S80 DSP*.

Tableau V

Signaux d'entrées/sorties du système de contrôle.

Signal	Type	Description
CLK	Entrée	Signal d'horloge de 80 MHz permettant de synchroniser l'ensemble des processus.
RESET	Entrée	Signal provenant d'un bouton poussoir utilisé afin de réinitialiser l'ensemble des processus.
ADC_A	Entrée (12 bits)	Signal acoustique échantillonné à 80 millions échantillons par seconde disponible à la sortie du convertisseur analogique à numérique.
LASER_T	Entrée	Signal de synchronisation du laser actif lors de chaque impulsion.
RX	Entrée	Ligne de réception des données de la communication série.
TX	Sortie	Ligne de transmission des données de la communication série.
P_MOTOR_PULSE	Sortie	Signal permettant de déplacer le moteur.
P_MOTOR_DIR	Sortie	Signal définissant la direction de rotation du moteur.
P_MOTOR_STEP	Sortie	Signal définissant le pas de rotation du moteur.

4.2 Module d'acquisition

Le module d'échantillonnage a pour tâche de récupérer le signal acoustique numérisé à la suite d'une impulsion laser. Le CAN (Convertisseur analogique à numérique) échantillonne le signal analogique sur 12 bits de façon continue. Ainsi, un échantillon est disponible à chaque front montant de l'horloge principale, soit à toutes les 12.5 nanosecondes. La sortie du CAN est toutefois en complément 2. Pour ramener la valeur de l'échantillon dans un format non signé et permettre la représentation graphique du signal acoustique numérisé, on effectue l'opération suivante :

$$s[n] = s[n] \oplus 0x800 \quad (4.1)$$

Un premier sous-module est donc implémenté pour réaliser cette transformation. Le tableau VI décrit les différents signaux utilisés dans ce module.

Tableau VI

Signaux d'entrée/sortie du module d'acquisition (lecture des échantillons).

Signal	Type	Description
CLK	Entrée	Horloge de synchronisation.
RESET	Entrée	Signal de réinitialisation.
ADC_ENABLE	Entrée	Activation du module.
ADC_A	Entrée (12 bits)	Signal acoustique numérisé signé.
ADC_B	Entrée (12 bits)	Non utilisé.
ADC_DATA	Sortie (12 bits)	Signal acoustique numérisé non-signé.

Les échantillons non signés sont ensuite acheminés vers le module d'acquisition principal. Ce module a pour tâche de sauvegarder les mesures effectuées suite à une impulsion du laser. Un signal externe (LASER_T) permet de synchroniser ce module sur le laser. L'acquisition est faite ici de façon synchrone directement sur le signal. Cette lecture utilise

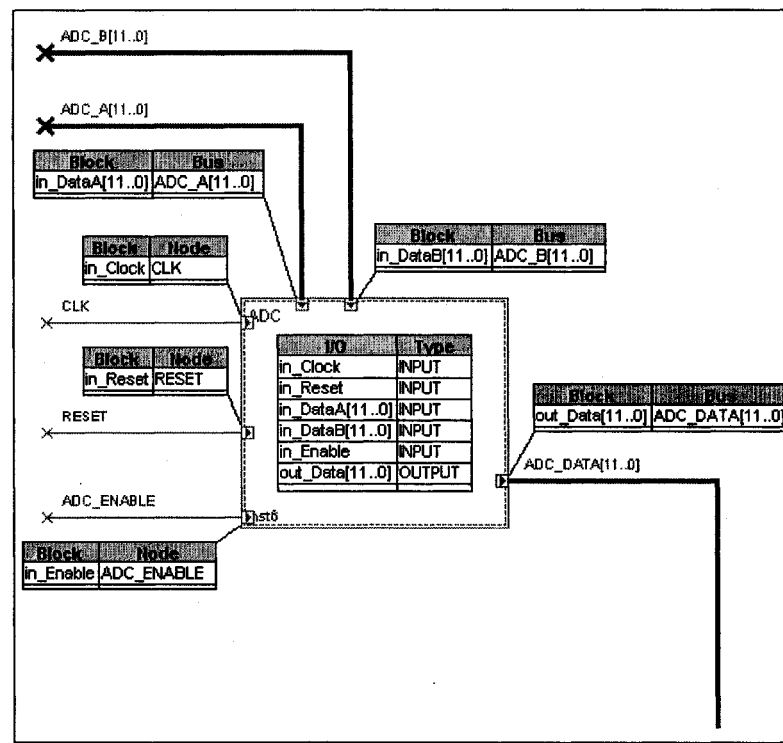


Figure 51 Module d'acquisition (lecture des échantillons).

une seule bascule. L'instabilité due à l'état de la bascule (changement d'état simultanée à la variation du signal échantillonné) n'a pas été élaborée dans cette étude. Toutefois, aucun effet notable n'a été observé lié à cette instabilité. Suite à une impulsion laser, ce module effectue l'acquisition de 5120 échantillons successifs à une vitesse de 80 millions échantillons par seconde. Le vecteur de données correspondant représente donc les 64 microsecondes suivant l'impulsion laser. Ce vecteur est ensuite sauvegardé en mémoire. Cependant, le signal acoustique résultant d'une impulsion lumineuse dans les tissus peut s'avérer de faible amplitude, limitant ainsi le rapport signal sur bruit. La séquence est donc répétée un certain nombre de fois afin d'effectuer la somme de plusieurs vecteurs d'échantillons représentant l'acquisition d'un même point. La mémoire RAM disponible sur le circuit de développement est utilisée afin d'effectuer cette sommation. Trois vecteurs sont ainsi définis : A, B et C.

Tableau VII

Espace mémoire du système de contrôle utilisée.

Mémoire	Taille	Description
A	5120 x 32 bits	Premier vecteur d'échantillons.
B	5120 x 32 bits	Second vecteur d'échantillons.
C	8 x 5120 x 32 bits	Vecteurs de données disponibles aux autres modules.

Pour une position θ donnée, les échantillons du signal numérisé non signés de la première acquisition sont sauvegardés dans le vecteur A. Au cours des acquisitions suivantes à cette même position, les échantillons du signal sont sauvegardés dans le vecteur B et additionné au vecteur A. Le résultat est sauvegardé à nouveau dans le vecteur A, qui contient par conséquent la somme de toutes les acquisitions effectuées au point θ , alors que le vecteur B contient la dernière acquisition effectuée. Le vecteur C, qui peut contenir un maximum de huit vecteurs de données, est utilisé afin de sauvegarder les données qui sont par la suite disponibles aux autres modules. Ainsi, les données contenues dans le vecteur A sont rangées dans le vecteur C lorsque le nombre de sommations atteint 1, 16, 32, 64, 128, 256, 512 et 1024. Il faut donc que le nombre d'acquisitions effectuées à une position soit supérieure ou égal à l'un de ces nombres, qui représentent les différents niveaux de moyennage disponibles. La figure 52 et le tableau VIII présente les signaux d'entrées et de sortie de ce module. Les figures 53 et 54 représentent la séquence d'acquisition.

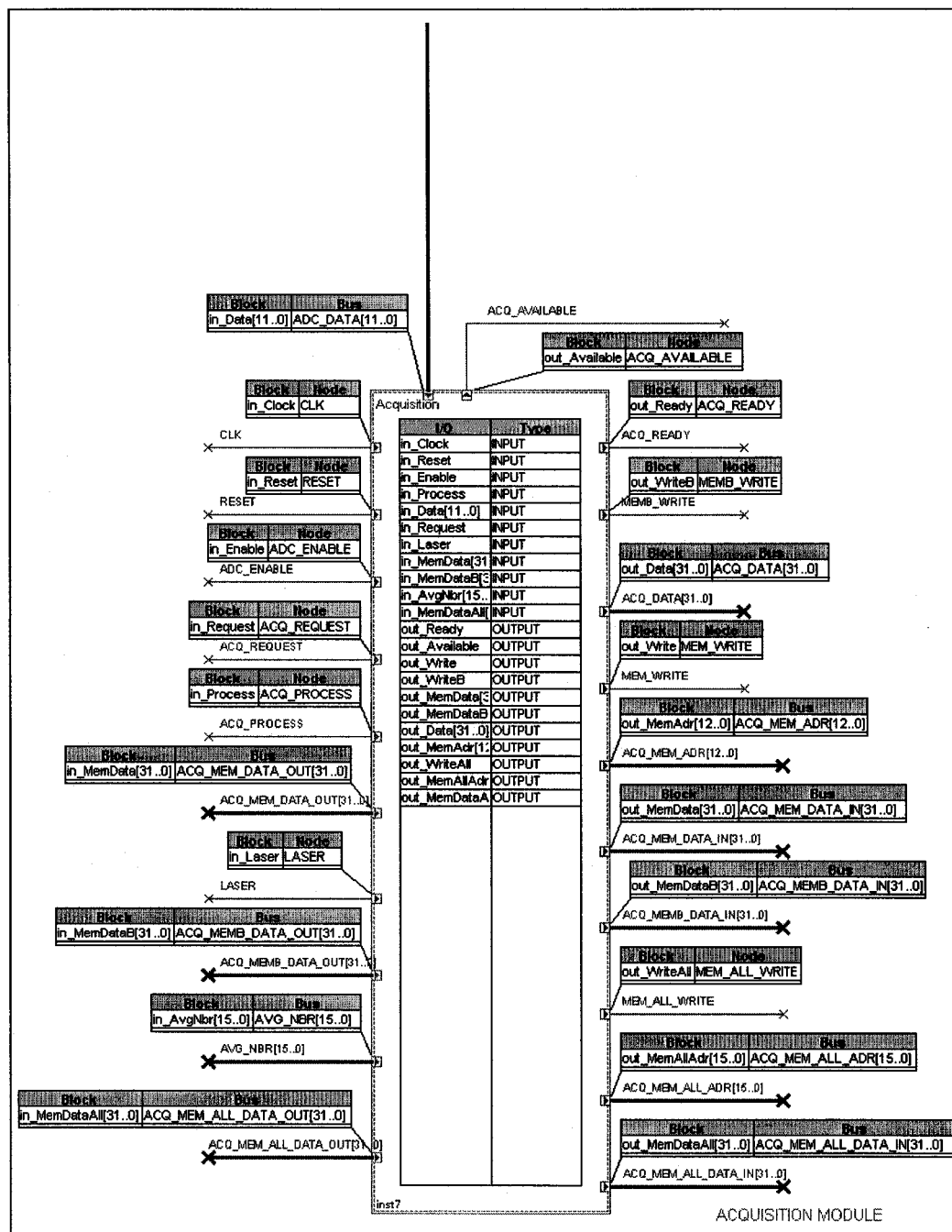


Figure 52 Module d'acquisition (sauvegarde et transfert des échantillons).

Tableau VIII

Signaux d'entrées/sorties du module d'acquisition (sauvegarde et transfert des échantillons).

Signal	Type	Description
CLK	Entrée	Horloge de synchronisation.
RESET	Entrée	Signal de réinitialisation.
ADC_ENABLE	Entrée	Activation du module d'acquisition.
ACQ_PROCESS	Entrée	Activation de la séquence d'acquisition.
ACQ_DATA	Entrée (12 bits)	Dernier échantillon numérisé signé du signal acoustique.
ACQ_REQUEST	Entrée	Requête d'une nouvelle donnée.
LASER	Entrée	Signal de synchronisation d'une impulsion laser.
ACQ_MEM_DATA_OUT	Entrée (32 bits)	Données de la mémoire A.
ACQ_MEMB_DATA_OUT	Entrée (32 bits)	Données de la mémoire B.
AVG_NBR	Entrée (8 bits)	Nombre de sommations à effectuer.
ACQ_MEM_ALL_DATA_OUT	Entrée (32 bits)	Données de la mémoire C.
ACQ_READY	Sortie	État du module d'acquisition.
ACQ_AVAILABLE	Sortie	Signalement de données disponibles en mémoire.
MEM_WRITE	Sortie	Active l'écriture dans la mémoire A.
MEMB_WRITE	Sortie	Active l'écriture dans la mémoire B.
MEM_ALL_WRITE	Sortie	Active l'écriture dans la mémoire C.
ACQ_MEM_DATA_IN	Sortie (32 bits)	Données à écrire dans la mémoire A.
ACQ_MEMB_DATA_IN	Sortie (32 bits)	Données à écrire dans la mémoire B.
ACQ_MEM_ALL_DATA_IN	Sortie (32 bits)	Données à écrire dans la mémoire C.
ACQ_DATA	Sortie (16 bits)	Données disponibles pour les autres modules.
ACQ_MEM_ADR	Sortie (16 bits)	Adresse de la mémoire A.
ACQ_MEMB_ADR	Sortie (16 bits)	Adresse de la mémoire B.
ACQ_MEM_ALL_ADR	Sortie (16 bits)	Adresse de la mémoire C.

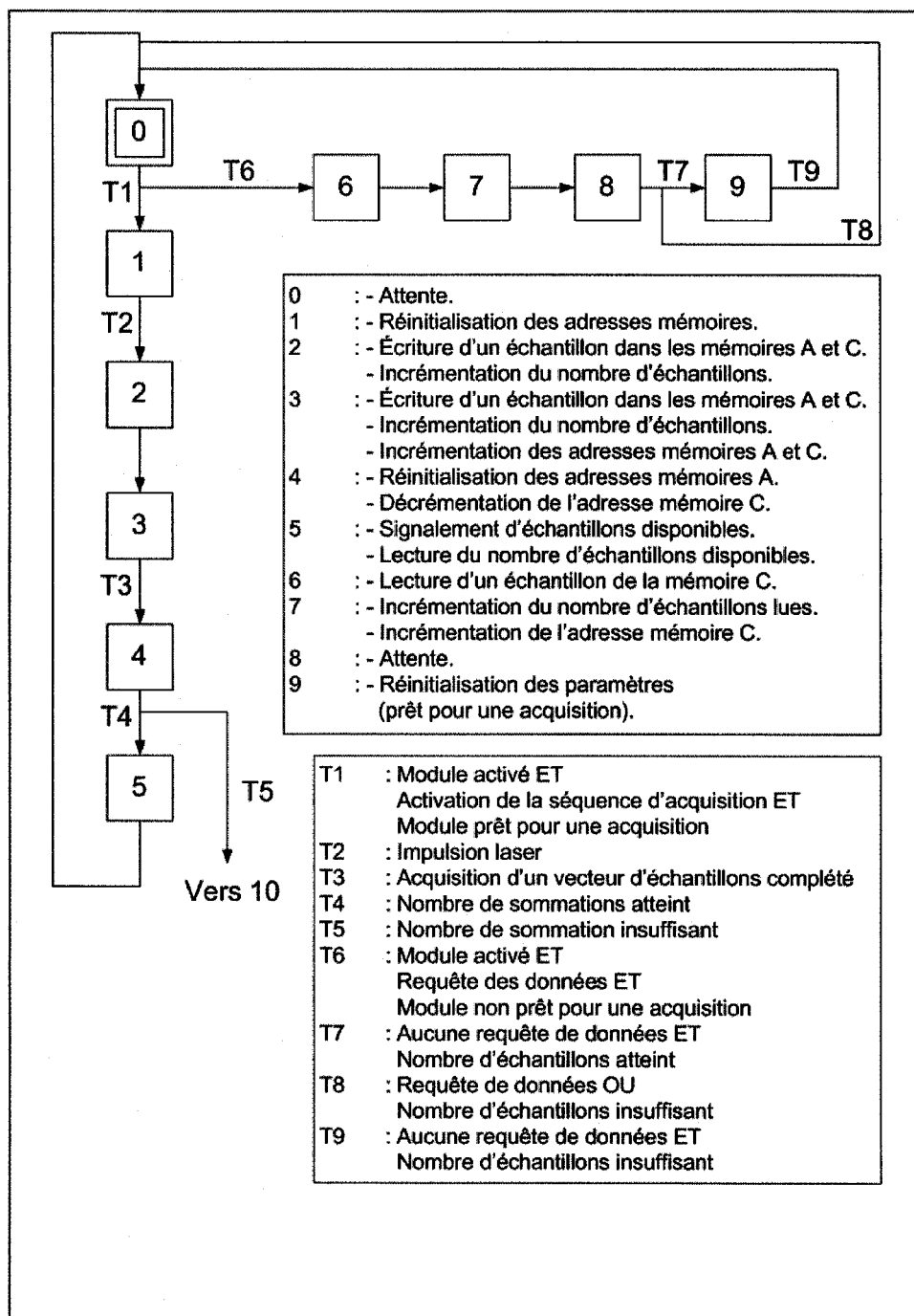


Figure 53 Séquence d'acquisition (première partie).

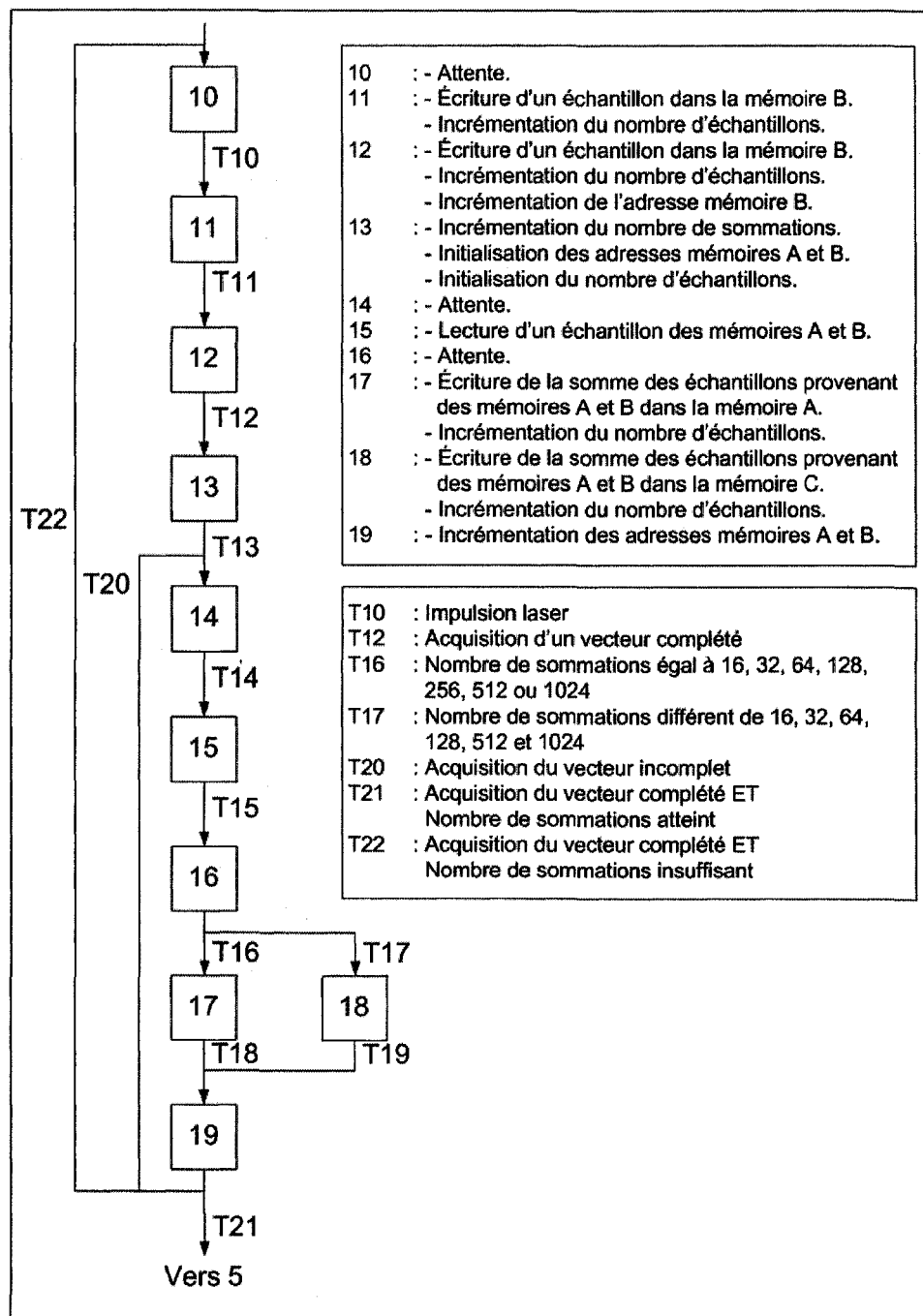


Figure 54 Séquence d'acquisition (deuxième partie).

4.3 Module de gestion des données

Le module de gestion des données est le module central du système de contrôle. Il permet de synchroniser tous les autres modules de façon à contrôler la séquence d'acquisition des données photo-acoustiques.

Ce module gère deux processus. D'une part, un processus permet de gérer la séquence d'acquisition en positionnant le transducteur pour recueillir les données correspondantes à cette position par l'entremise du module d'acquisition. D'autre part, un autre processus est utilisé afin de décoder les commandes reçues du module de communication. Ce processus assigne par la suite les divers paramètres aux autres modules et démarre la séquence d'acquisition. Les données recueillies sont ensuite transmises vers le module de communication afin qu'elles soient envoyées vers l'ordinateur de commandes. Ce module comprend donc un module de transmission et un module de réception pour gérer la communication avec un ordinateur externe. La figure 55 et la tableau IX représentent l'interface du module de gestion des données. La figure 56 représente la séquence du processus de gestion de l'acquisition, alors que les figures 57 et 58 représentent la séquence du processus de gestion des communications.

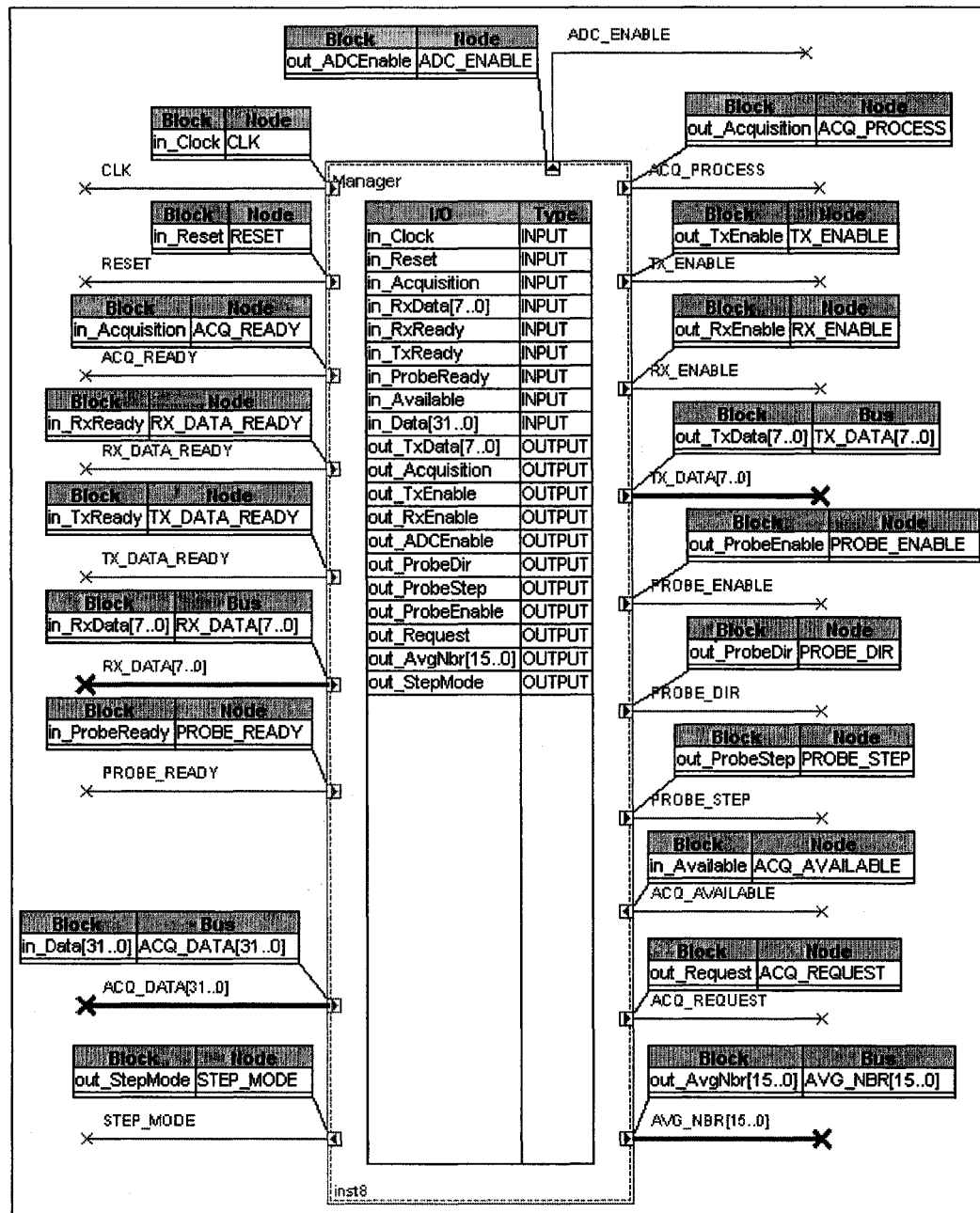


Figure 55 Module de gestion des données.

Tableau IX

Signaux d'entrées/sorties du module de gestion des données.

Signal	Type	Description
CLK	Entrée	Horloge de synchronisation.
RESET	Entrée	Signal de réinitialisation.
ACQ_READY	Entrée	État du module d'acquisition.
RX_DATA	Entrée (8 bits)	Données provenant du module de communication.
RX_DATA_READY	Entrée	État du module de réception des données.
TX_DATA_READY	Entrée	État du module de transmission des données.
PROBE_READY	Entrée	État du module de motorisation.
ACQ_AVAILABLE	Entrée	Disponibilité de données du module d'acquisition.
ACQ_DATA	Entrée (32 bits)	Données provenant du module d'acquisition.
TX_DATA	Sortie (8 bits)	Données à transmettre par le module de communication.
TX_ENABLE	Sortie	Activation du module de transmission.
RX_ENABLE	Sortie	Activation du module de réception.
ADC_ENABLE	Sortie	Activation du module d'acquisition.
PROBE_DIR	Sortie	Direction de la rotation du moteur.
PROBE_STEP	Sortie	Activation de la rotation du moteur.
PROBE_ENABLE	Sortie	Activation du module de motorisation.
ACQ_REQUEST	Sortie	Requête de données au module d'acquisition.
AVG_NUMBER	Sortie (16 bits)	Nombre de sommations à effectuer par le module d'acquisition.
STEP_MODE	Sortie	Pas de rotation du moteur.

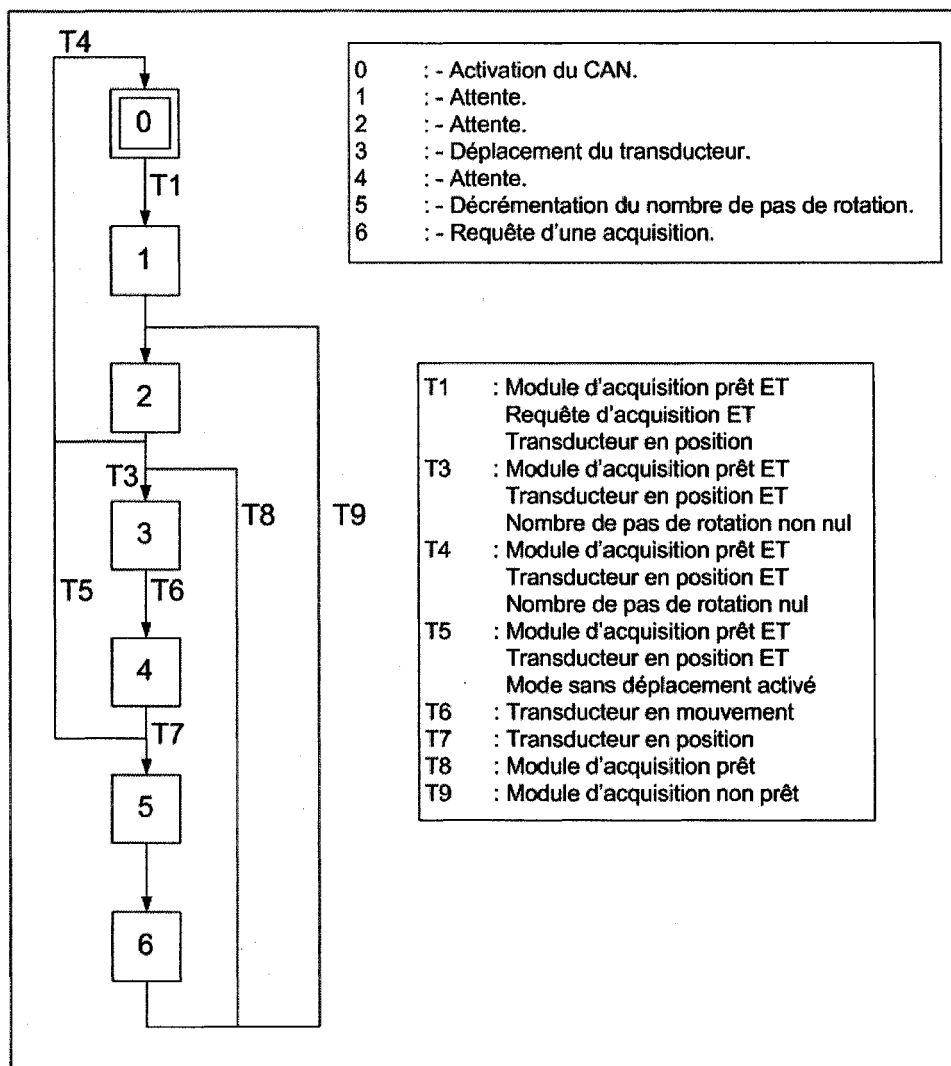


Figure 56 Séquence du processus de gestion de l'acquisition.

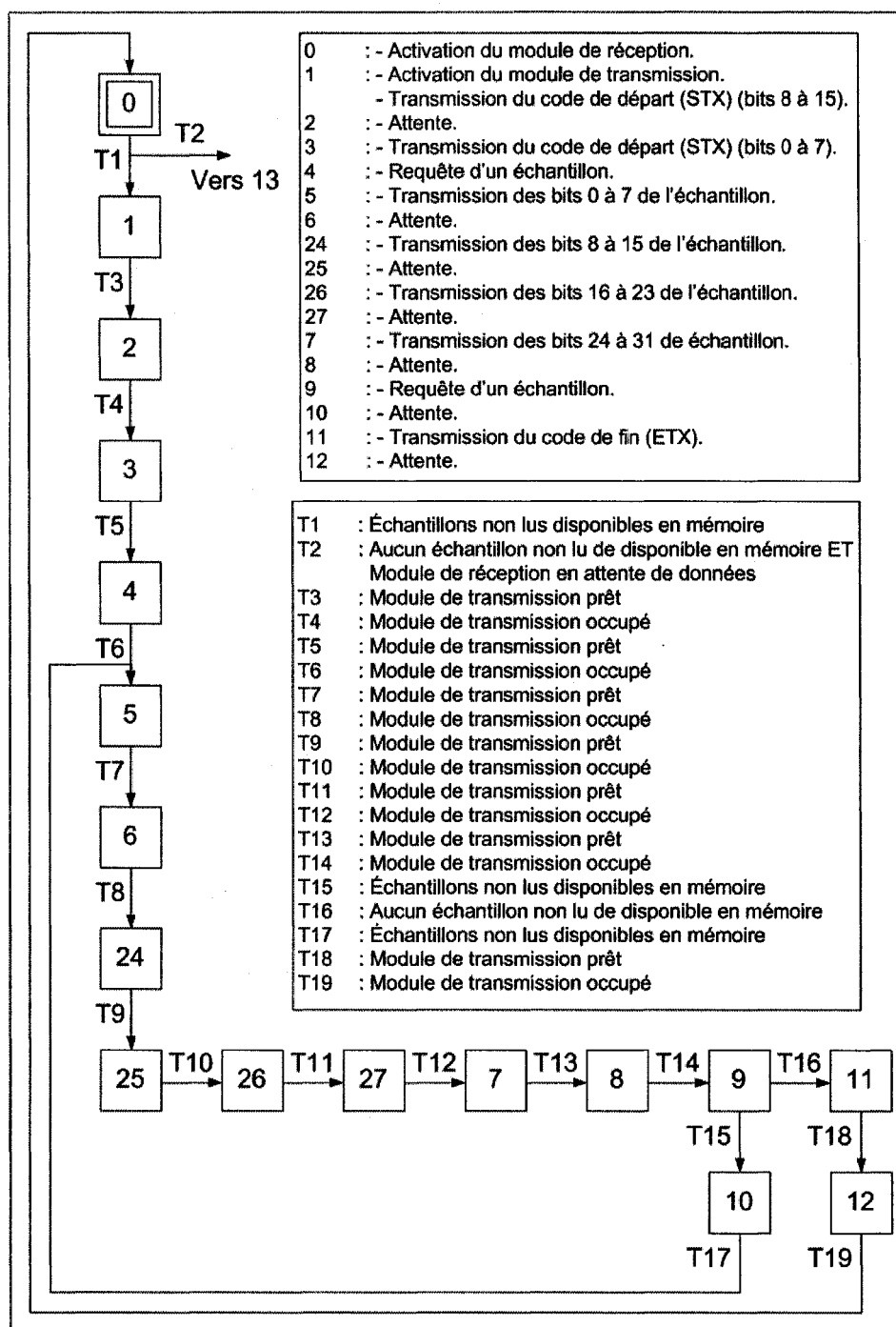


Figure 57 Séquence du processus de gestion des communications (mode de transmission).

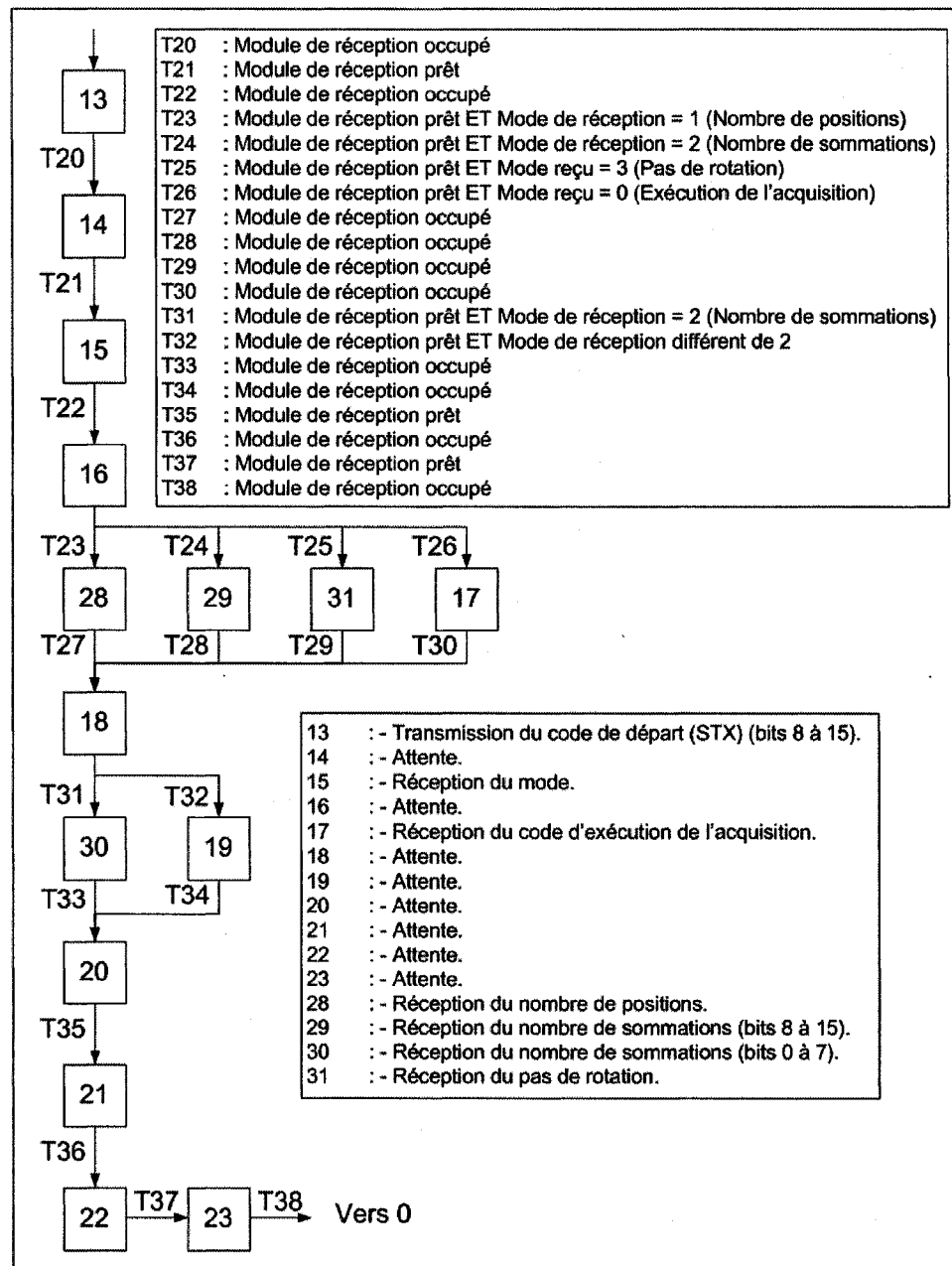


Figure 58 Séquence du processus de gestion des communications (mode de réception).

Afin de gérer efficacement la communication entre le système de contrôle et l'interface de commandes, des trames de données sont définies en transmission et en réception. Ainsi, le système de contrôle peut recevoir des commandes sous la forme d'une série d'octets tel que représenté au tableau X.

Tableau X

Protocole de réception du système de contrôle.

Champ	STX	Mode	Paramètre (MSB)	Paramètre (LSB)	Réservé	ETX
Plage de valeurs	242	0 à 3	0 à 255	0 à 255	0 à 255	243

Lorsque la valeur du mode reçu est 3, les champs réservés aux paramètres déterminent le pas de rotation du moteur. Une valeur de 0 indique un déplacement nul entre chaque mesure, alors qu'une valeur de 1 et 2 indiquent respectivement des pas de rotation de 3.6 et 1.44 degrés.

Lorsque la valeur du mode reçu est 2, les champs réservés aux paramètres déterminent le nombre de sommations à effectuer avant de rendre les échantillons disponibles au module de gestion des données.

Lorsque la valeur du mode reçu est 1, les champs réservés aux paramètres déterminent le nombre de positions auxquelles des mesures doivent être prises. Les données pour une position donnée sont toutefois transmises vers le module de transmission entre chaque position d'acquisition.

Enfin, lorsque la valeur du mode reçu est nulle, les champs réservés aux paramètres ne sont pas lus et la séquence d'acquisition est activée selon les paramètres définis précédemment.

4.4 Module de contrôle du moteur

Le module de contrôle du moteur a comme fonction d'interfacer le système de contrôle avec le pilote du moteur de positionnement du transducteur. Il permet donc d'actionner le moteur afin de placer le transducteur à une position θ donnée. Le moteur peut être actionné par un train d'impulsions carrées dont la période est supérieure à 5 microsecondes. Des signaux supplémentaires sont aussi utilisés afin de déterminer la direction de rotation et le pas de rotation. La figure 59 ainsi que le tableau XI définissent les signaux d'entrées et de sorties de ce module.

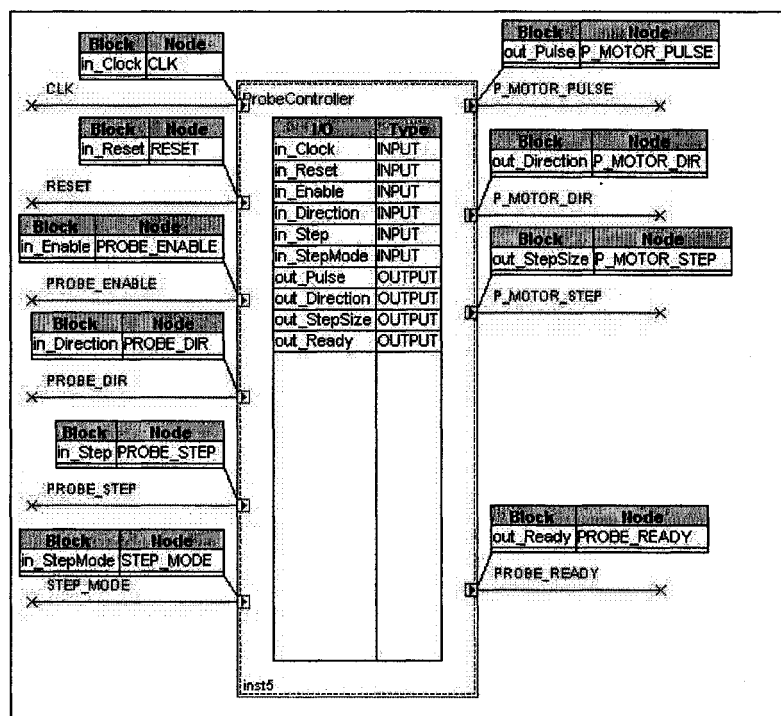


Figure 59 Module de contrôle du moteur.

La figure 60 présente la séquence utilisée afin de déplacer le moteur. Un compteur est utilisé afin de générer le signal d'impulsions permettant de déplacer le moteur. Ce compteur incrémente à chaque coup d'horloge, soit à toutes les 12.5 nanosecondes. Le bit le plus

significatif est utilisé comme impulsion, permettant d'obtenir une période d'environ 820 microsecondes.

Tableau XI

Signaux d'entrées/sorties du module de contrôle du moteur.

Signal	Type	Description
CLK	Entrée	Horloge de synchronisation.
RESET	Entrée	Signal de réinitialisation.
PROBE_DIR	Entrée	Direction de la rotation.
PROBE_STEP	Entrée	Activation de la rotation du moteur.
STEP_MODE	Entrée	Définit le pas de rotation. 1 => 1.44 degrés 0 => 3.6 degrés
P_MOTOR_PULSE	Sortie	Impulsions permettant la rotation du moteur.
P_MOTOR_DIR	Sortie	Direction de la rotation.
P_MOTOR_STEP	Sortie	Définit le pas de rotation.
PROBE_READY	Sortie	Indique un déplacement complété.

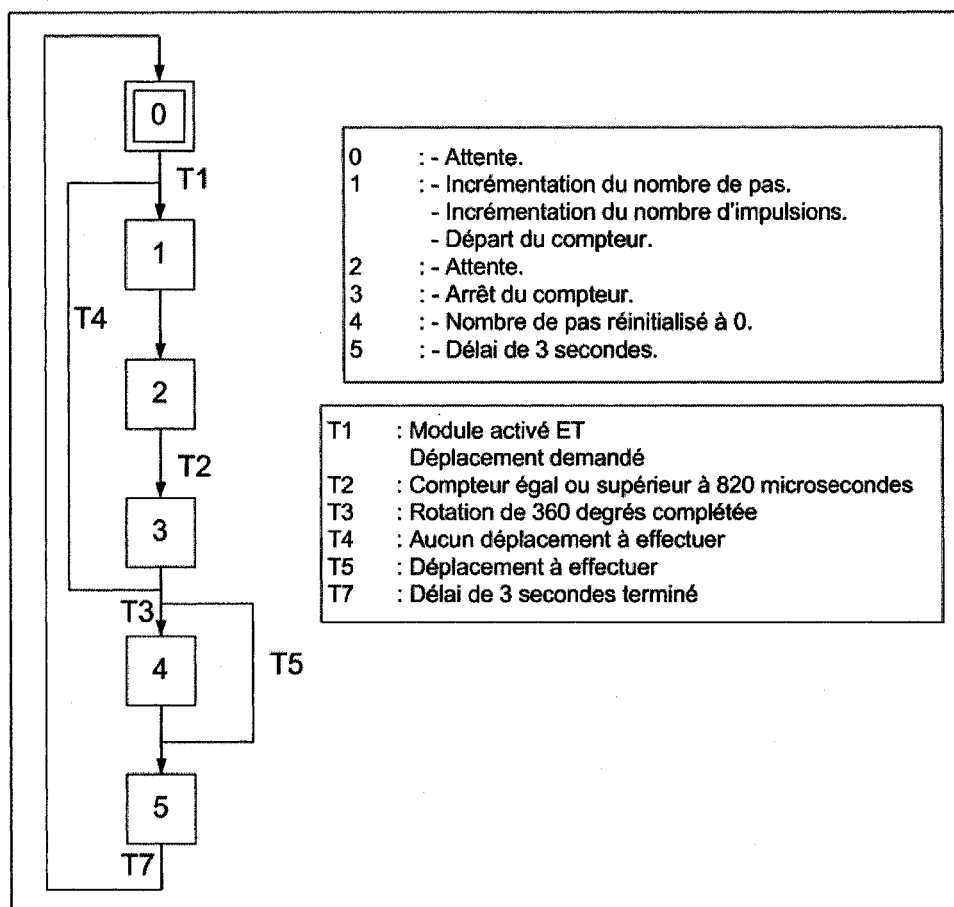


Figure 60 Séquence de contrôle du moteur.

4.5 Module de communication

Le module de communication permet de transmettre et de recevoir les données par l'entremise du port de communication série du circuit de développement en utilisant le protocole RS-232. Le tableau XII présente les paramètres de communication utilisés.

Tableau XII

Paramètres du protocole de communication.

Paramètre	Valeur
Nombre de bits de départ	1
Nombre de bits de données	8
Nombre de bits d'arrêt	1
Parité	Aucunè
Vitesse de transmission	115200 bauds

Deux sous-modules permettent respectivement de transmettre ou de recevoir des données. Lors de l'activation de l'un de ces modules, un signal est envoyé à un module d'horloge afin d'activer l'horloge de communication. Cette horloge de communication permet de synchroniser la transmission ou la réception des données à 115200 bits par seconde. Il est à noter que les modules de transmission et de réception ne doivent pas être utilisés simultanément afin d'éviter de possibles conflits. Le module de réception permet de recevoir des données par l'entremise du port série. Ce module convertit les bits de données reçus de façon sérielle en données parallèles de 8 bits. À l'inverse, le module de transmission réalise le transfert des données de 8 bits sur le port de communication série en les sérialisant.

La figure 61 ainsi que les tableaux XIII et XIV représentent les signaux d'entrées et de sorties des modules de réception et de transmission.

Tableau XIII

Signaux d'entrées/sorties du module de réception.

Signal	Type	Description
CLK	Entrée	Horloge de synchronisation.
RESET	Entrée	Signal de réinitialisation.
BAUDRATE	Entrée	Horloge de synchronisation de la communication série.
RX_ENABLE	Entrée	Activation du module de réception.
RX	Entrée	Ligne de réception de la communication série.
RX_RATE_ENABLE	Sortie	Activation de l'horloge de synchronisation pour la communication série.
RX_DATA_READY	Sortie	Signalement de nouvelles données disponibles.
RX_DATA	Sortie (8 bits)	Données reçues en format parallèle de 8 bits.

Tableau XIV

Signaux d'entrées/sorties du module de transmission.

Signal	Type	Description
CLK	Entrée	Horloge de synchronisation.
RESET	Entrée	Signal de réinitialisation.
BAUDRATE	Entrée	Horloge de synchronisation de la communication série.
RX_ENABLE	Entrée	Activation du module de transmission.
TX_DATA	Entrée (8 bits)	Données à transmettre.
RX_RATE_ENABLE	Sortie	Activation de l'horloge de synchronisation de la communication série.
RX_DATA_READY	Sortie	Signalement de nouvelles données disponibles.
TX	Sortie	Données en format sérialisé.

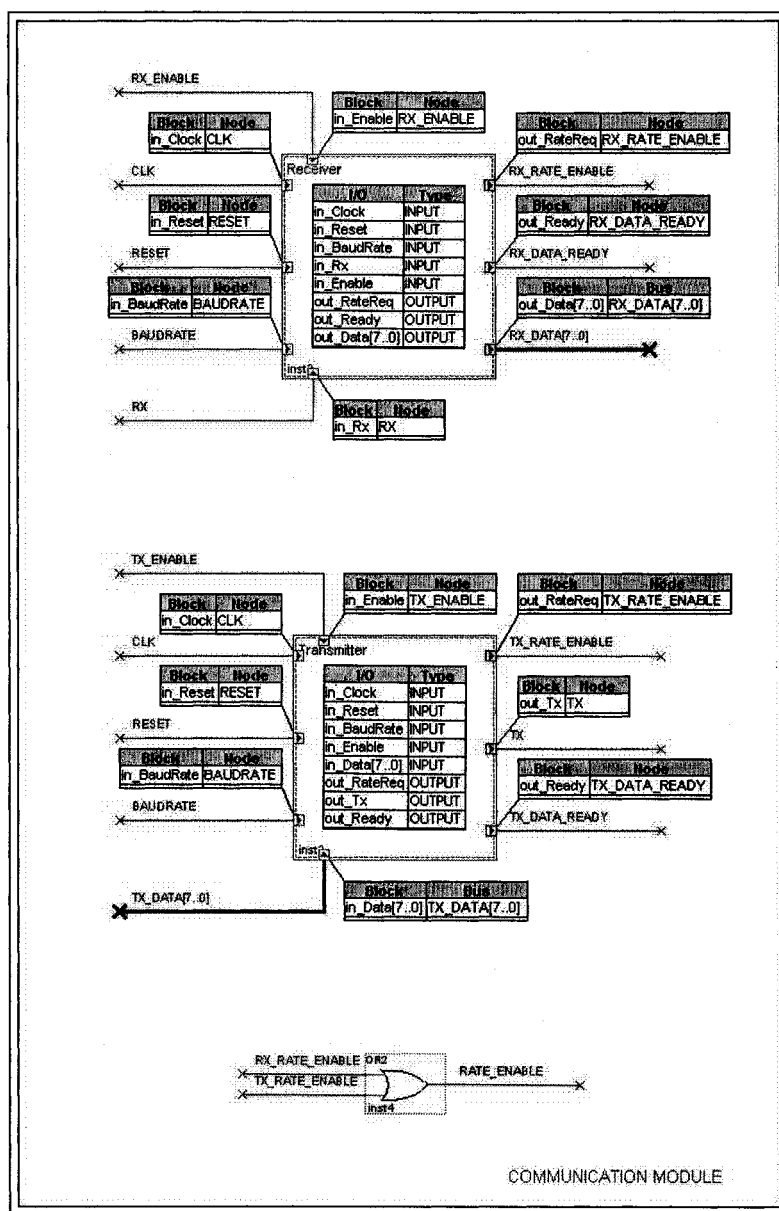


Figure 61 Module de communication.

Les figures 62 et 63 représentent les séquences permettant de recevoir et de transmettre des données.

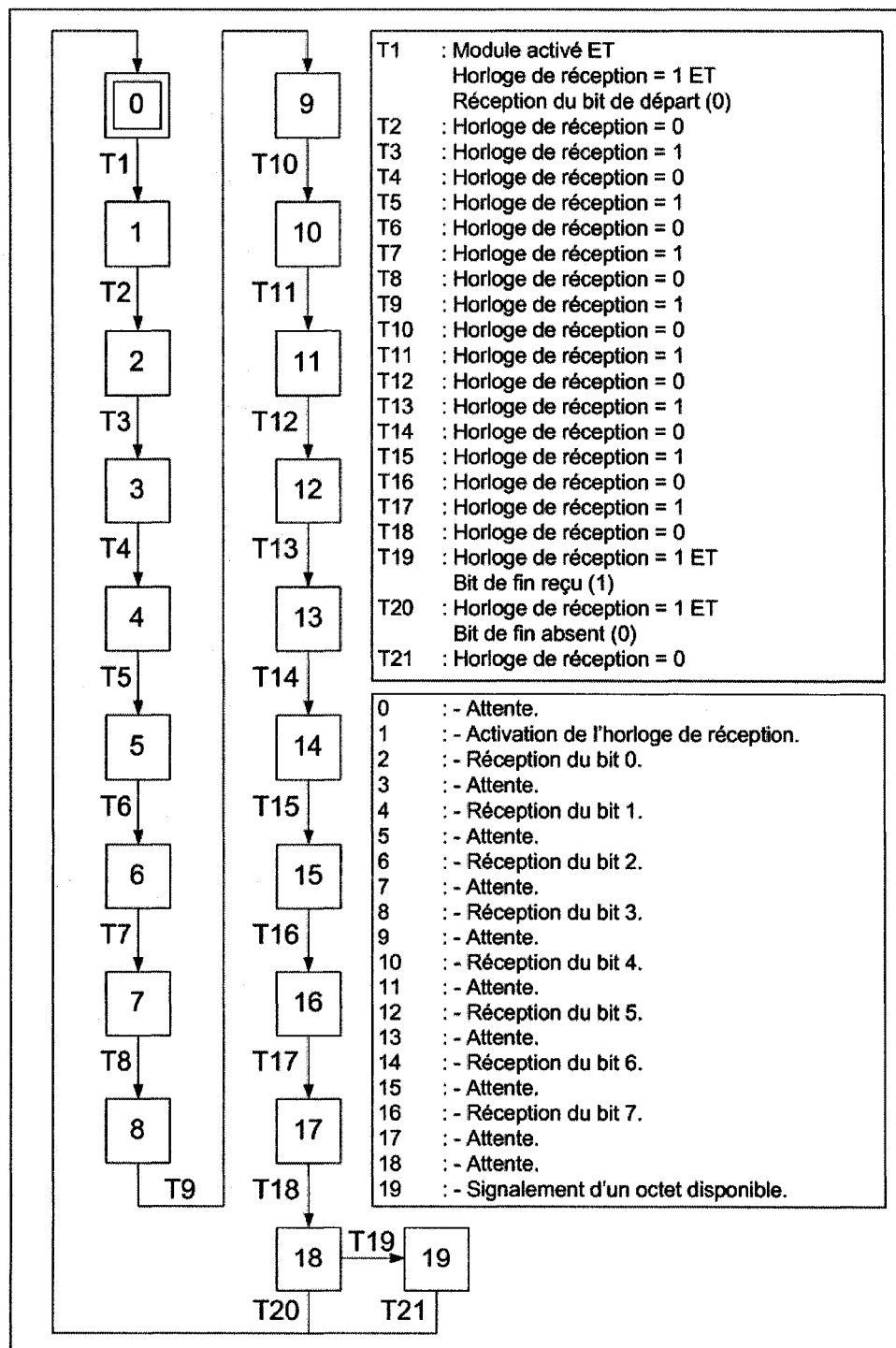


Figure 62 Séquence de réception du module de communication.

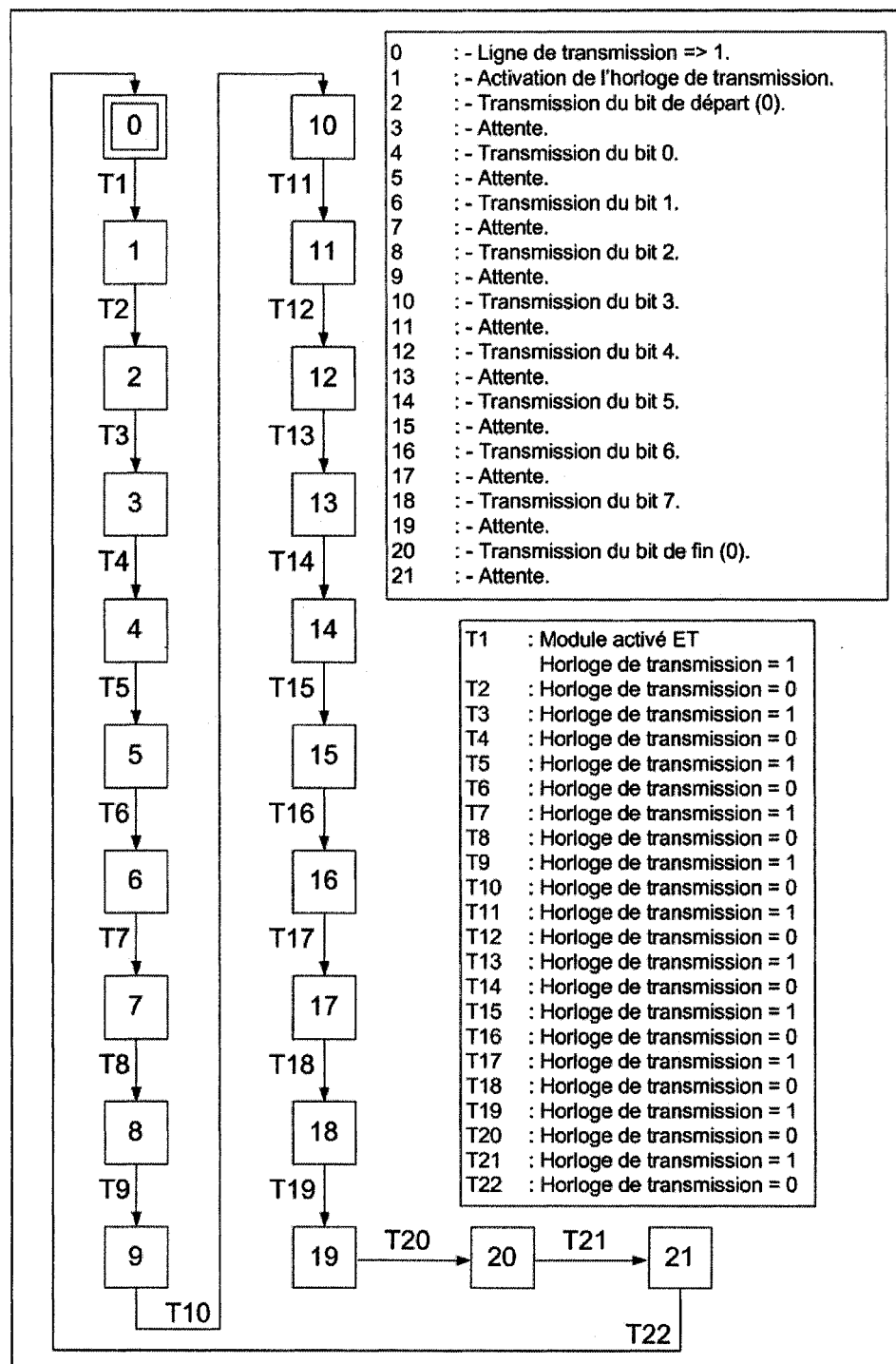


Figure 63 Séquence de transmission du module de communication.

Le module de communication doit être synchronisé sur une horloge afin de recevoir ou de transmettre des bits de données. La vitesse de réception et de transmission est définie à 115200 bits par seconde, vitesse maximale pouvant être atteinte avec la plupart des ordinateurs personnels. Un module est donc utilisé afin de générer un signal d'horloge cadencé à 115.2 kHz. Ce module utilise l'horloge principale du FPGA afin de générer un second signal d'horloge de moindre fréquence. Ainsi, un signal à 115.2 kHz est généré à partir d'un signal dont la fréquence est de 80 MHz. Pour ce faire, un compteur est incrémenté à chaque 12.5 nanosecondes, soit la période de l'horloge principale, et le niveau logique de l'horloge de communication est ajusté selon la valeur du compteur. Le tableau XV représente la séquence utilisée afin de générer cette horloge.

L'horloge de communication est donc générée en plusieurs étapes qui se répètent. Cette séquence est nécessaire puisque cette fréquence d'horloge ne peut pas être générée en divisant l'horloge principale. Une fréquence de base de 12.8 kHz est donc générée en divisant l'horloge principale par un facteur de 6250. Chaque cycle est subdivisé en une séquence de 1 et de 0 permettant de générer un signal d'horloge de plus grande fréquence en plusieurs étapes.

Tableau XV

Séquence permettant de générer l'horloge de 115.2 kHz.

Étape	Compteur	Signal	Temps (us)
1	347	0	4.338
2	694	1	8.675
3	1042	0	13.03
4	1389	1	17.36
5	1736	0	21.7
6	2083	1	26.04
7	2431	0	30.39
8	2778	1	34.73
9	3125	0	39.06
10	3472	1	43.4
11	3819	0	47.74
12	4167	1	52.09
13	4514	0	56.43
14	4861	1	60.76
15	5208	0	65.1
16	5556	1	69.45
17	5903	0	73.79
18	6250	1	78.13

4.6 Interface de commandes

Le système de contrôle est conçu de façon à effectuer une séquence d'acquisition suite à la réception d'une série de commandes. Les données recueillies sont ensuite retransmises vers un ordinateur pour fins d'analyse. Afin de transmettre les commandes et de recevoir les données, un logiciel est développé afin de servir d'interface à l'utilisateur du système.

L'utilisateur a la possibilité de sélectionner les paramètres d'acquisition tels que spécifiés à la section 4.3. Dans un premier temps, le nombre de sommations à être effectuées peut être sélectionné à l'aide d'un menu. Les différentes valeurs possibles sont 1, 16, 32, 64, 128, 256, 512 et 1024. Dans un deuxième temps, le type d'acquisition peut être sélectionné parmi trois sélections. La première sélection permet d'effectuer une acquisition pour la présente position seulement, sans rotation du moteur. Les données reçues sont par la suite affichées en fonction du temps. La seconde sélection permet d'effectuer l'acquisition de 100 positions différentes espacées de 3.6 degrés chacune. Les données reçues sont par la suite affichées sous la forme d'un sinogramme où les 100 positions représentent 360 degrés. La troisième et dernière sélection permet d'effectuer l'acquisition de 250 positions différentes espacées de 1.44 degrés chacune, permettant aussi d'obtenir un sinogramme sur 360 degrés.

Un bouton permet de lancer la séquence d'acquisition selon les paramètres sélectionnées. Les commandes correspondantes sont à ce moment transmises selon le protocole défini à la section 4.3. Le logiciel attend par la suite la réception des données pour les afficher. Il est par la suite possible de sauvegarder les données afin qu'elles puissent être utilisées par l'algorithme de reconstruction et ainsi reconstruire les images de la distribution des coefficients d'absorption à partir des données recueillies.

La figure 64 représente l'interface graphique du logiciel de commandes.

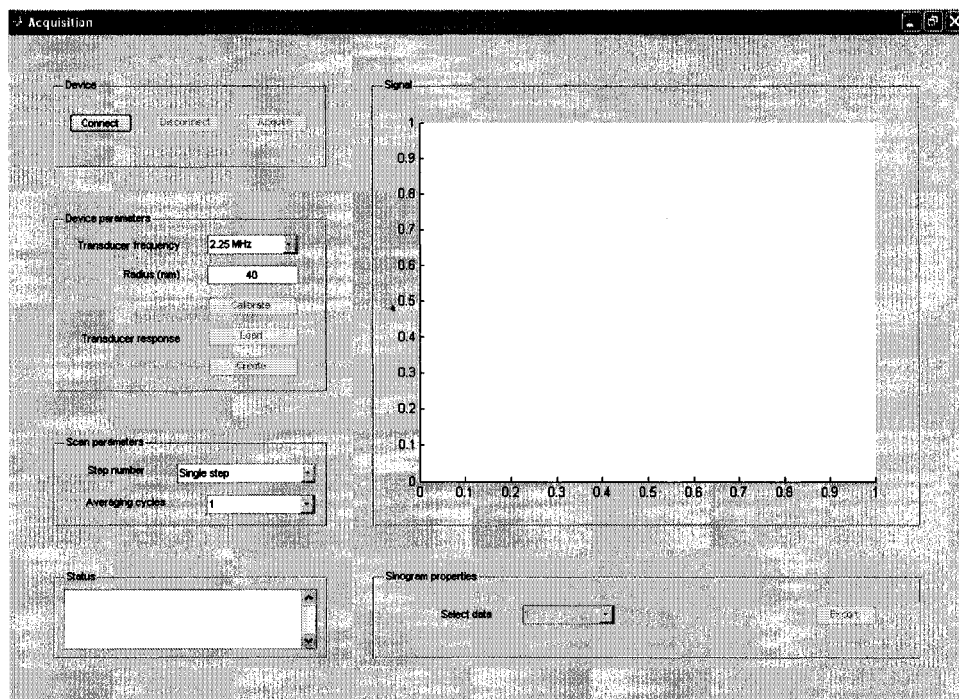


Figure 64 Interface du logiciel de commandes.

CHAPITRE 5

EXPÉRIMENTATIONS

Le système d'acquisition, combiné au système de contrôle, permet d'effectuer l'acquisition de signaux photo-acoustiques sur les fantômes de gélatine utilisés pour modéliser les tissus biologiques. Ces mesures permettront de valider le prototype. Constitués de 2.5 millilitres de gélatine en poudre pour 50 millilitres d'eau, ces fantômes sont fabriqués dans un contenant cylindrique de 30 millimètres de diamètre. En faisant l'hypothèse que l'influence de la gélatine sur l'impédance acoustique des fantômes est négligeable, on obtient une impédance acoustique approximativement égale à l'eau qui s'apparente grandement à celle des tissus mous.

Deux types de fantômes sont considérés. Dans un premier temps, de l'encre noire est insérée dans les fantômes afin de générer un signal photo-acoustique. L'encre absorbe considérablement la lumière sur une grande plage de longueurs d'ondes et permet de générer un signal photo-acoustique important. Dans un deuxième temps, un lysat de cellules mortes exprimant le GFP est utilisé. Le GFP a un spectre d'absorption comportant deux maximums, l'un à 395 nanomètres et l'autre à 475 nanomètres. Des mesures sont effectuées à 475 nanomètres puisque la source laser utilisée ne permet pas d'émettre à la longueur d'onde de 395 nanomètres. De plus, la source laser permet d'obtenir plus de puissance à cette longueur d'onde, maximisant ainsi l'absorption du GFP et par le fait même, l'intensité du signal photo-acoustique.

Une première étude est réalisée afin de valider le concept de la photo-acoustique et la détection du signal. Une seconde étude est par la suite réalisée afin de reconstruire des images de la distribution des coefficients d'absorption et ainsi estimer la résolution spatiale du système. Enfin, une dernière étude est réalisée afin de valider la possibilité d'utiliser l'appareil pour imager des protéines fluorescentes.

5.1 Validation de la photo-acoustique

Avant d'effectuer des mesures sur 360 degrés, une première étude est effectuée afin de vérifier la nature des signaux pouvant être mesurés par l'appareil. Une seringue d'un millimètre de diamètre est utilisée afin d'injecter un filet d'encre noir dans un fantôme de gélatine.

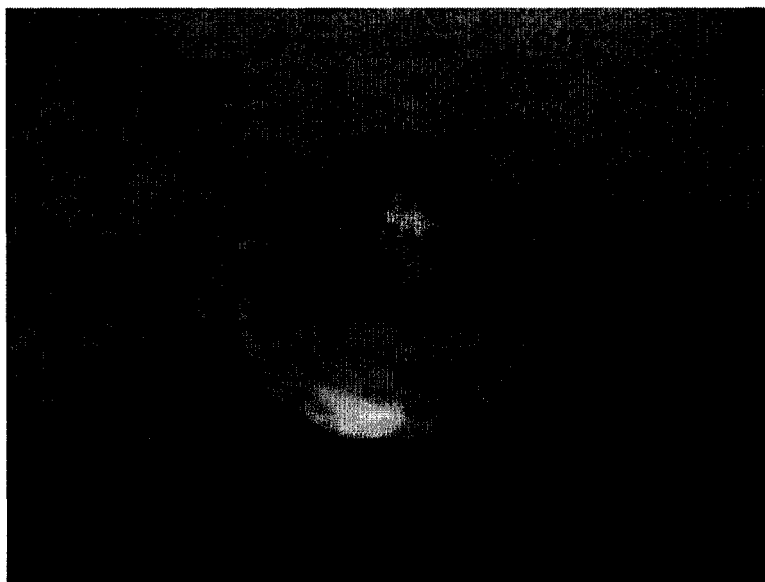


Figure 65 Fantôme utilisé pour la calibration du système.

Une source laser dont la longueur d'onde est de 500 nanomètres est utilisée afin d'illuminer ce fantôme. Les modèles V306, V384 et V309 de transducteurs décrits au chapitre 3 sont utilisés afin de détecter le signal photo-acoustique. Ces transducteurs sont disposés à environ 37.5 millimètres du centre du fantôme. Les figures suivantes représentent les signaux obtenus pour chacun des transducteurs en moyennant 1, 16 et 64 fois le signal reçu suite à une impulsion laser.

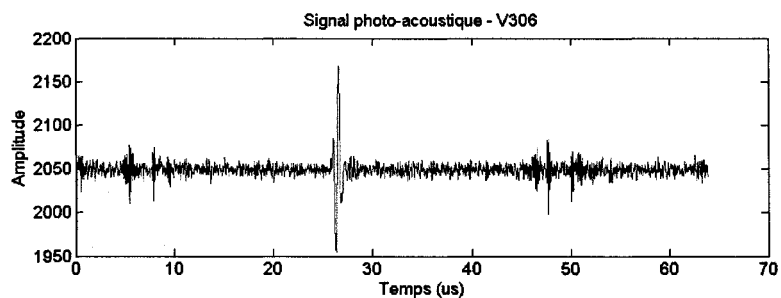


Figure 66 Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V306 sans moyennage).

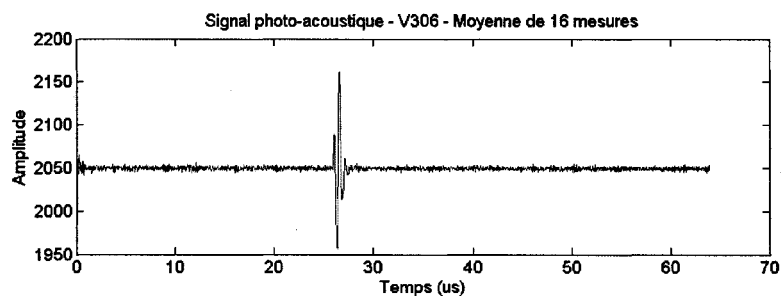


Figure 67 Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V306 moyenné sur 16 mesures).

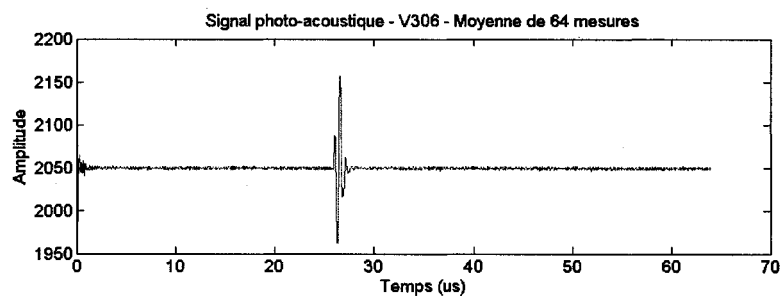


Figure 68 Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V306 moyenné sur 64 mesures).

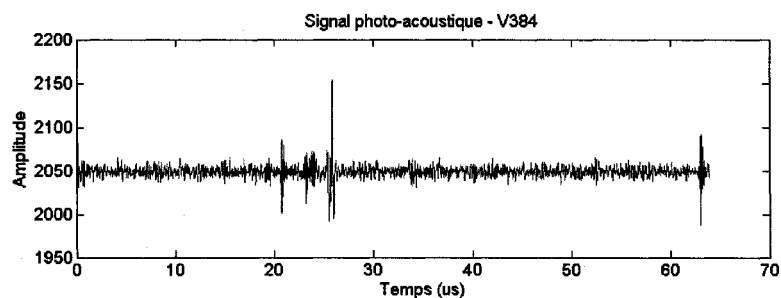


Figure 69 Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V384 sans moyennage).

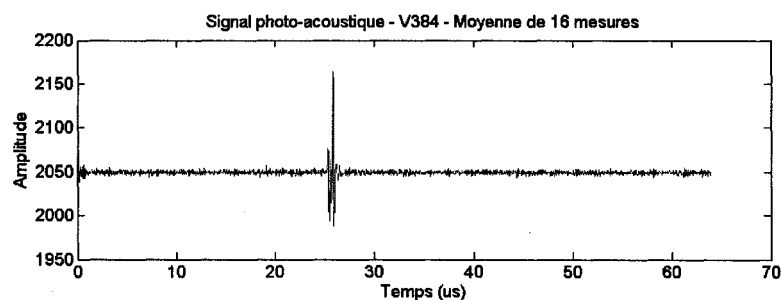


Figure 70 Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V384 moyenné sur 16 mesures).

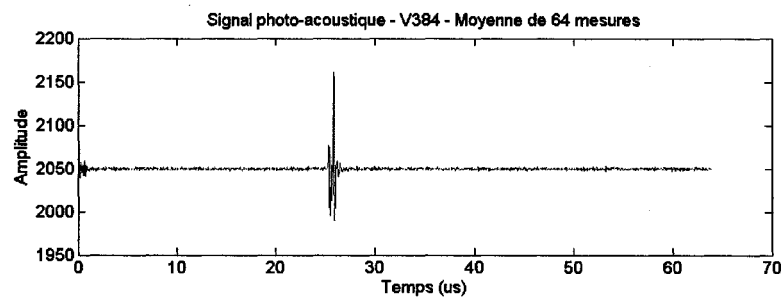


Figure 71 Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V384 moyenné sur 64 mesures).

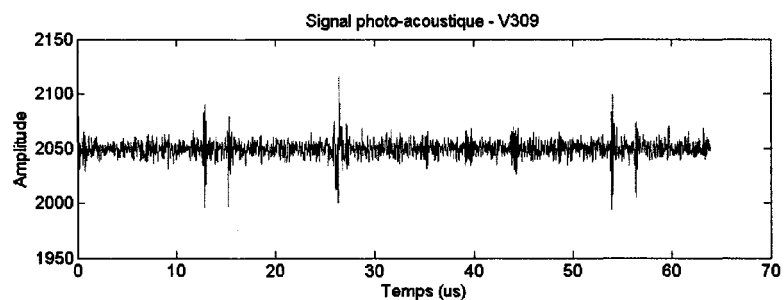


Figure 72 Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V309 sans moyennage).

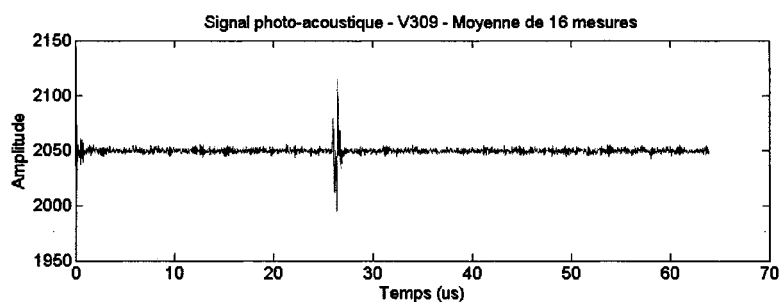


Figure 73 Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V309 moyenné sur 16 mesures).

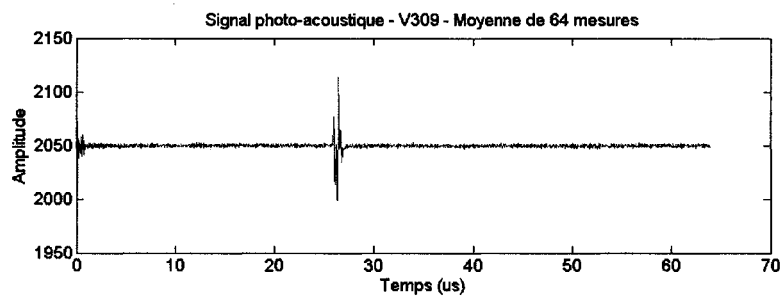


Figure 74 Mesure du signal photo-acoustique (transducteur V309 moyenné sur 64 mesures).

En supposant que la vitesse du son est de 1.5 millimètres par microseconde et est constante spatialement dans le fantôme et dans l'eau, il est possible de valider la distance D entre la source et le transducteur selon la relation suivante :

$$D = c \times t \quad (5.1)$$

où c représente la vitesse du son, alors que t représente le temps entre une impulsion laser et le maximum du signal acoustique.

En déterminant le temps qui sépare l'impulsion laser du signal photo-acoustique, il est possible de déterminer à quelle distance se trouve la source. Ainsi, en prenant par exemple la mesure obtenue par le modèle V384, on obtient un temps d'environ 25 microsecondes, ce qui donne une distance d'environ 37.5 millimètres. Cette distance correspond approximativement à la distance séparant le transducteur de la source photo-acoustique.

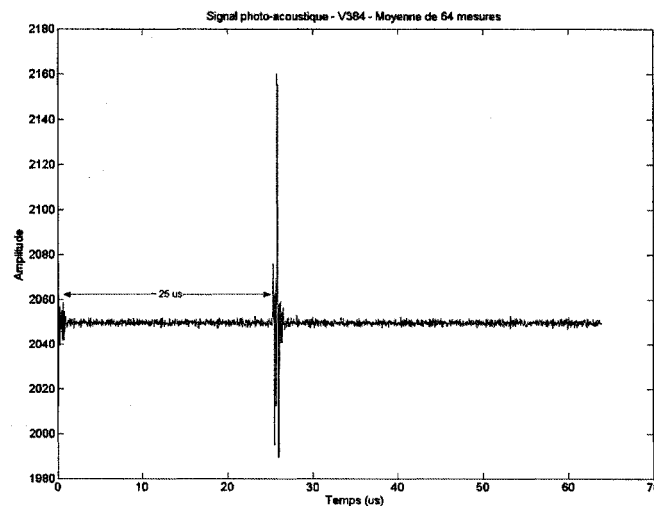


Figure 75 Distance de la source photo-acoustique.

On remarque que le fait d'effectuer plusieurs acquisitions à un même angle et d'en faire la moyenne permet d'augmenter le rapport signal sur bruit du signal. Toutefois, la source

laser utilisée ne permettant pas d'obtenir plus de 20 impulsions par seconde, une durée de 26 secondes est nécessaire pour obtenir un signal moyenné sur 512 mesures (un peu moins d'une seconde pour un signal moyenné 16 fois). Il est par conséquent intéressant d'effectuer le moins de moyennage possible lorsque le temps d'acquisition est un enjeu. L'acquisition de données sur 360 degrés permet de reconstruire des images et, par le fait même, de valider l'effet du nombre de moyennages nécessaires afin d'obtenir une bonne reconstruction. On cherche en effet à obtenir l'image la plus précise possible en utilisant le moins de sommations possibles. On remarque la présence considérable de bruit lorsqu'aucun moyennage n'est effectué. Une grande partie de ce bruit est dû au moteur du système. On remarque en effet une contribution importante lorsque le moteur est sous tension (voir figure 76). Le moyennage permet donc, entre autre chose, la réduction du niveau de cette nuisance sur l'analyse des signaux photo-acoustiques.

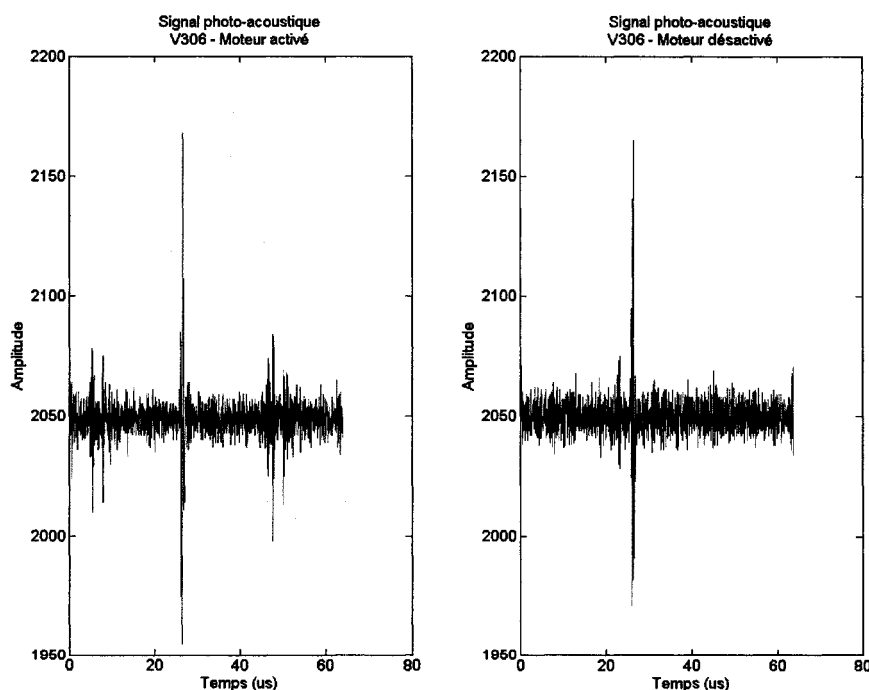


Figure 76 Effet du moteur sur le signal photo-acoustique.

5.2 Calibration du système

La reconstruction des images à partir des données recueillies au cours d'une acquisition dépend de plusieurs paramètres. Certains de ces paramètres sont directement liés à la configuration de l'appareil et ne sont connus qu'approximativement. Il importe donc de déterminer avec précision ces paramètres afin d'optimiser la reconstruction des images. Parmi ces paramètres, on trouve le rayon entre l'origine du plan de détection et le transducteur. Cette distance permet de définir la position de chacun des points d'acquisition dans le sinogramme.

Soit R_0 ce rayon, le temps de propagation t d'une source acoustique localisée au point (x, y) vers un transducteur positionné à un angle θ est défini selon la relation suivante :

$$t = \frac{\sqrt{(x - R_0 \cos \theta)^2 + (y - R_0 \sin \theta)^2}}{c} \quad (5.2)$$

où c est la vitesse de propagation de l'onde acoustique.

Afin de déterminer le rayon R_0 , on utilise un fantôme dans lequel un filet d'encre est injecté (voir figure 65). La réponse photo-acoustique de l'encre engendre une impulsion acoustique à cette position. Il est alors possible d'obtenir un sinogramme bien défini en effectuant une acquisition sur plusieurs points.

Le temps correspondant au point d'amplitude maximum de chaque signal est considéré comme le temps de propagation t de l'onde acoustique. Il est à noter que les premières 10% des données sont ignorées afin de ne pas confondre le bruit électromagnétique qui s'installe dans les premières microsecondes avec le signal produit par la source acoustique.

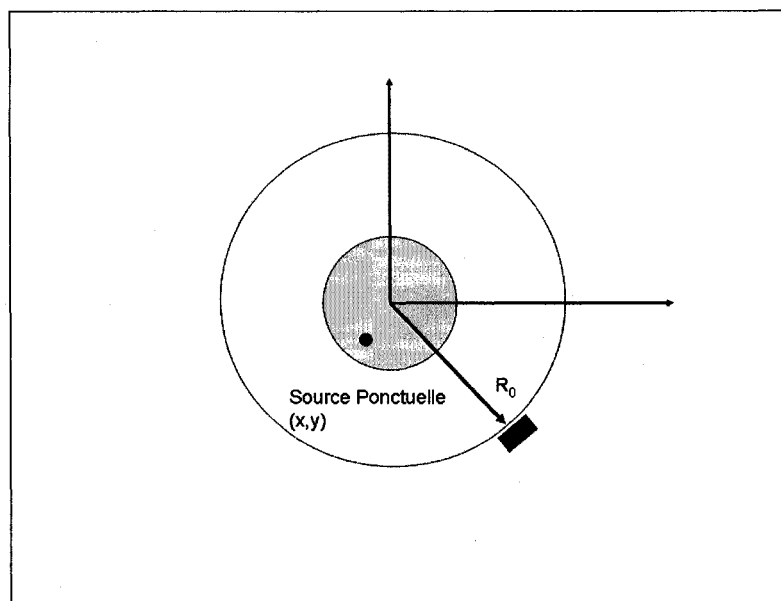


Figure 77 Configuration pour la calibration de l'appareil.

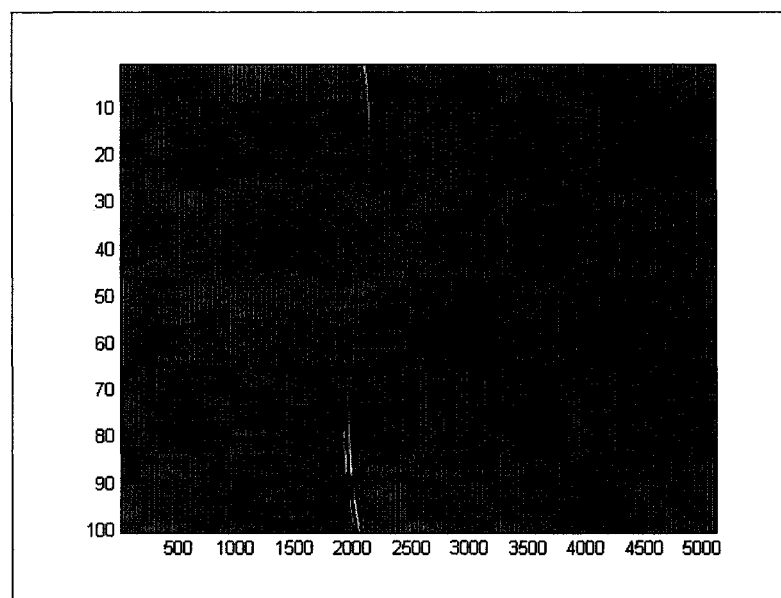


Figure 78 Exemple d'un sinogramme de calibration contenant 100 mesures.

En effectuant suffisamment de mesures, il est possible d'estimer la position (x, y) de la source, ainsi que le rayon R_0 en minimisant la fonction suivante :

$$F(x, y, R_0) = \sum_{i=1}^N \left[t - \frac{\sqrt{(x - R_0 \cos \theta_i)^2 + (y - R_0 \sin \theta_i)^2}}{c} \right]^2 \quad (5.3)$$

où N correspond au nombre de mesures utilisées pour effectuer la calibration du système.

Il est ainsi possible d'obtenir une estimation de la valeur du rayon R_0 . Le tableau XVI présente les rayons obtenus pour chacun des transducteurs utilisés.

Tableau XVI

Rayon du plan de détection des transducteurs.

Transducteur	Rayon (mm)
V306	37.9193
V384	36.5929
V309	37.6188

Il est à noter que les signaux mesurés par les transducteurs V306 et V309 sont obtenus en champ proche. Afin de s'assurer que les signaux utilisés pour la reconstruction des images sont mesurés en champ lointain, seul le transducteur V384 est utilisé pour effectuer les mesures servant à la génération d'images.

5.3 Étude de la résolution spatiale

Afin d'estimer la résolution spatiale de l'appareil, des tubes de 250 micromètres remplis d'encre noire sont insérés dans des gélatines translucides. Un premier fantôme de 30 millimètres de diamètre (voir figure 79) est réalisé en y insérant deux tubes micrométriques, un rempli d'encre et l'autre vide. Il est ainsi possible de s'assurer que le tube vide n'est pas une source de signal photo-acoustique.

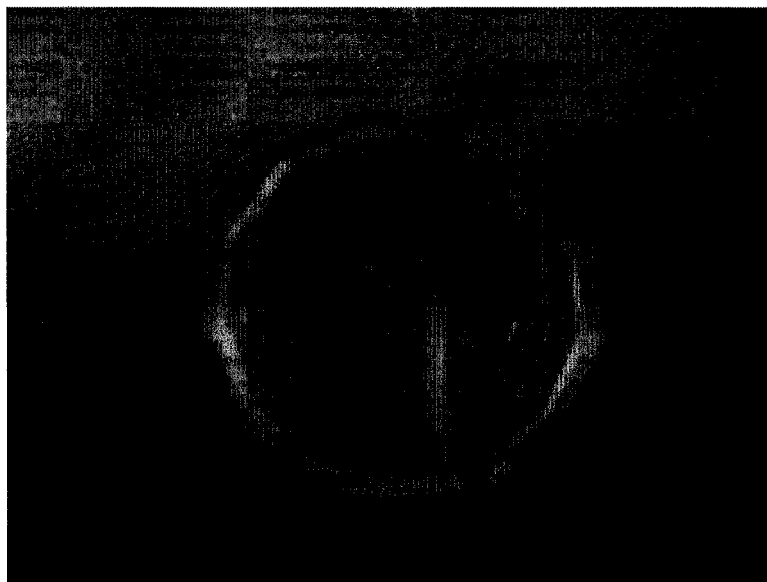


Figure 79 Premier fantôme utilisé afin d'estimer la résolution du système.

Ce fantôme est utilisé afin d'effectuer une acquisition photo-acoustique moyennée 128 fois sur 250 positions en utilisant une source laser de 500 nanomètres et un transducteur de type V384 focalisé dans le plan horizontal où se trouvent les tubes. La figure 80 représente le sinogramme obtenu.

En appliquant l'algorithme de reconstruction à ce sinogramme, on obtient la distribution des coefficients d'absorption représentée à la figure 81. On remarque en effet que malgré

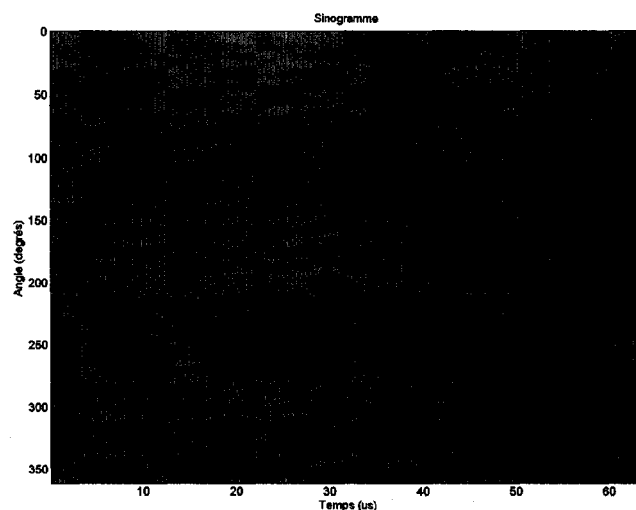


Figure 80 Sinogramme mesuré d'un fantôme comportant un tube d'encre (250 positions moyennées 128 fois).

la présence de deux tubes dans le fantôme, seul celui qui est rempli d'encre apparaît sur l'image.

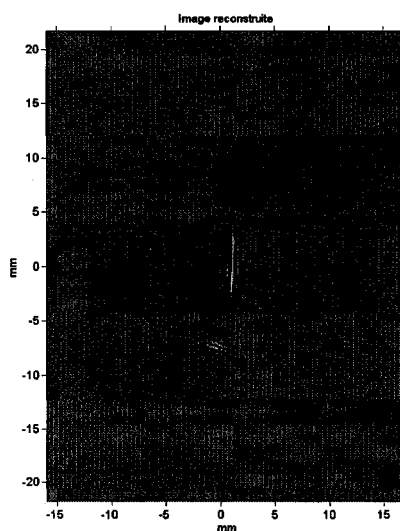


Figure 81 Reconstruction du fantôme comportant un tube d'encre.

Un second fantôme est par la suite réalisé en insérant deux tubes remplis d'encre tel que présenté à la figure 82.

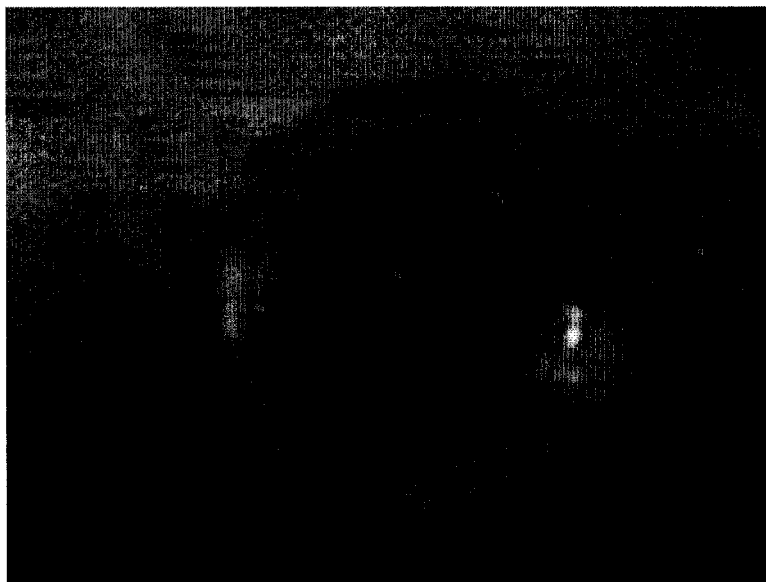


Figure 82 Second fantôme utilisé afin d'estimer la résolution du système.

Les figures 83 et 84 représentent le sinogramme ainsi que l'image reconstruite du second fantôme.

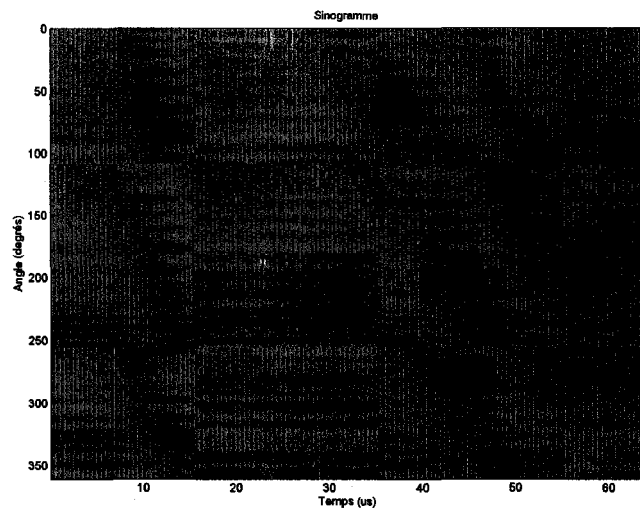


Figure 83 Sinogramme mesuré d'un fantôme comportant deux tubes d'encre (250 positions moyennées 128 fois).

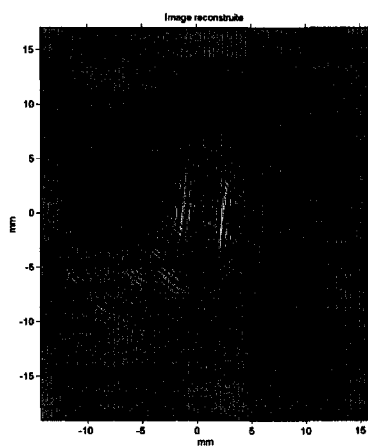


Figure 84 Reconstruction du fantôme comportant deux tubes d'encre.

On remarque à la figure 85 que le tube de 250 micromètres est reconstruit avec une largeur d'environ 500 micromètres. On peut donc estimer que la résolution spatiale du système est d'environ 0.5 millimètres en utilisant le transducteur V384. Il serait toutefois intéressant de valider la résolution en utilisant d'autres types de transducteurs opérant à des fréquences différentes, tout en mesurant les données en champ lointain. Une autre solution serait de prendre en compte les caractéristiques du champ proche du transducteur utilisé dans la reconstruction de mesures en champ proche.

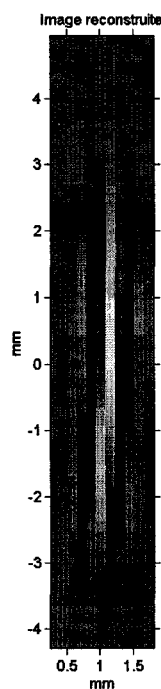


Figure 85 Résolution du système.

5.4 Application aux protéines fluorescentes

Avant de modifier l'appareil afin d'être en mesure d'imager le cerveau des souris transgéniques, un test est effectué afin de déterminer s'il est possible de détecter et de localiser la présence des protéines fluorescentes. Pour ce faire, un lysat de cellules mortes exprimant le GFP est injecté dans un fantôme de gélatine translucide. Une injection de 5 millimètres de diamètres est effectuée verticalement afin de maximiser le nombre de cellules et possiblement augmenter l'amplitude du signal.

La figure suivante représente le signal moyenné 1024 fois obtenu en utilisant une source laser de 475 nanomètres et un transducteur de modèle V384. On peut en effet remarquer que le lysat de GFP produit un signal photo-acoustique. Cependant, le lysat contient des cellules mortes et n'expriment donc le GFP que pendant quelques minutes, rendant difficile l'acquisition d'un sinogramme. Il serait intéressant d'effectuer une étude plus approfondie en utilisant des cellules exprimant le GFP de façon constante dans le temps.

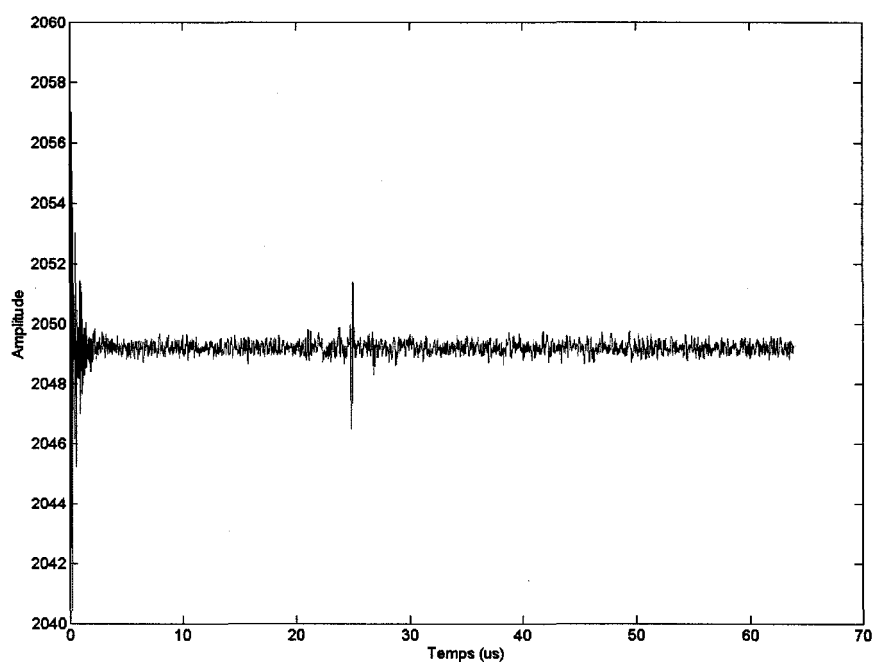


Figure 86 Signal photo-acoustique provenant de cellules exprimant le GFP.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Le développement d'un appareil d'imagerie photo-acoustique pouvant être utilisé comme outil de recherche sur les maladies neuro-dégénératives dépend principalement de deux facteurs. Dans un premier temps, une solution au problème inverse doit être implémentée afin de reconstruire des images précises de la distribution des coefficients d'absorption. Dans un deuxième temps, le système doit être en mesure de recueillir des données permettant d'être utilisées avec succès par l'algorithme de reconstruction des images.

Les simulations présentées au chapitre 2 permettent de constater que l'implémentation du problème inverse permet de reconstruire des images dépendant des paramètres d'acquisition. Certaines constantes ayant été négligées lors de cette étude, les valeurs obtenues ne représentent pas avec précision la valeur réelle des coefficients d'absorption. De plus, des artefacts créés par la discrétisation des fantômes lors de l'implémentation du problème direct provoquent un effet indésirable sur les images obtenues. Toutefois, la géométrie des images reconstruites est fidèle à celle des fantômes générés, permettant de conclure sur le bon fonctionnement de l'algorithme.

Cependant, certaines restrictions du montage viennent limiter les paramètres d'acquisition possibles, et par le fait même limiter les résultats pouvant être obtenus en réalité. Par exemple, la conception du bassin d'eau ne permet que l'utilisation d'un transduction opérant à 3.5 MHz afin d'effectuer des mesures pouvant être traitées efficacement par l'algorithme de reconstruction. En effet, cet algorithme suppose que les mesures ont été effectuées en champ lointain. Les mesures effectuées avec les autres modèles de transducteurs montrent toutefois un signal similaire à celui obtenu en champ lointain. Il serait alors intéressant d'effectuer une étude plus approfondie afin d'évaluer l'impact du champ proche sur la reconstruction, et possiblement évaluer la possibilité d'adapter le problème inverse au champ proche.

Les images reconstruites à partir des mesures obtenues sur des fantômes contenant des tubes micrométriques permettent quant à elles d'estimer la résolution du système à environ 500 micromètres. Il serait toutefois intéressant de valider cette résolution sur des fantômes plus complexes.

Enfin, l'acquisition d'un signal significatif en présence de GFP permet de confirmer qu'il est possible de mesurer un signal photo-acoustique provenant de ces protéines. L'instabilité des échantillons utilisés ne permet cependant pas d'effectuer des mesures permettant de reconstruire des images de la distribution du GFP. Une meilleure maîtrise des fantômes est donc nécessaire afin de valider la reconstruction d'images du GFP selon son spectre d'absorption, et ainsi effectuer des tests sur un modèle animal.

CONCLUSION

Plusieurs techniques d'imagerie moléculaire existent à l'heure actuelle, mais elles sont en général limitées dans la résolution spatiale des images reproduites. L'imagerie photo-acoustique offre une nouvelle perspective aux applications nécessitant une résolution spatiale sous-millimétrique. Le travail présenté ici constitue la première réalisation d'un prototype mettant en oeuvre cette nouvelle avenue.

L'appareil (matériel et logiciel) développé dans le cadre de ce mémoire permet de démontrer le potentiel de l'imagerie photo-acoustique comme technique d'imagerie moléculaire in-vivo. Toutefois, plusieurs améliorations doivent être envisagées pour des applications biomédicales. Tout d'abord, la source laser doit être centrée et alignée directement au dessus du plan de détection afin de concentrer l'énergie sur la surface à imager, et surtout, afin d'éviter tout "angle mort" et ainsi obtenir des mesures sur 360 degrés. De plus, le rayon du plan de détection n'est pas connu avec précision. Bien que la technique de calibration utilisée donne une bonne approximation du rayon, l'erreur sur la valeur réelle de ce rayon influence directement la résolution lors de la reconstruction des images.

Bien que la résolution spatiale soit un aspect important, plusieurs applications demandent aussi une bonne résolution temporelle, principalement en imagerie fonctionnelle. Le temps d'acquisition du prototype varie entre 20 minutes et plusieurs heures en fonction du nombre de positions et du nombre de moyennages effectués. Ce temps peut devenir déterminant dépendamment des processus physiologiques étudiés, ou encore du nombre de mesures à effectuer en une journée. Une solution envisagée serait de combiner plusieurs transducteurs sur le système afin d'effectuer l'acquisition de plusieurs points de mesure simultanément. Un nouveau système de contrôle, plus performant, serait toutefois nécessaire afin de gérer plusieurs canaux d'acquisition.

Le moyennage des mesures est un facteur considérable dans le temps d'acquisition, mais sa fonction est nécessaire afin d'augmenter le rapport signal sur bruit. D'autres techniques de débruitage tels que les *Curvelets* [3] sont présentement l'objet de recherches afin de réduire le bruit dans les sinogrammes, et ainsi nécessiter moins de moyennages [14]. Un tel débruitage permettrait de réduire considérablement le temps d'acquisition. D'autres géométries d'acquisition sont aussi à l'étude afin d'augmenter la résolution spatiale à quelques dizaines de micromètres. Une de ces géométrie permet entre autre de concevoir un microscope photo-acoustique [11].

Enfin, bien que ce mémoire présente des résultats obtenus sur des protéines fluorescentes, il serait intéressant de corréler le spectre d'absorption de ces protéines avec des mesures obtenues selon différentes longueurs d'onde afin de générer des images de leur distribution. Un succès d'une telle étude permettrait de modifier l'appareil afin d'envisager entre autre des études sur les modèles de souris utilisés pour la recherche sur la maladie d'Alzheimer.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] RCSB Protein Data Bank. *Green fluorescent protein*, [En ligne]. <http://www.rcsb.org> (Consulté le 31 octobre 2006).
- [2] Bell, A.G. (1880). On the production and reproduction of sound by light. *American Journal of Sciences*, 20(118), 305-324.
- [3] Candes, E., Demanet, L., Donoho, D., et Ying, L. (2005). *Fast discret curvelet transforms*, [En ligne]. <http://www.acm.caltech.edu/emmanuel/papers/FDCT.pdf> (Consulté le 3 novembre 2006).
- [4] Esenaliev, R., Karabutov, A., et Oraevsky, A. (1999). Sensitivity of laser optoacoustic imaging in detection of small deeply embedded tumors. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, 5(4), 981-988.
- [5] Feng, D., Xu, Y., Ku, G., et Wang, L.V. (2001). Microwave-induced thermoacoustic tomography : Reconstruction by synthetic aperture. *Physics in medecine*, 28(12), 2427-2431.
- [6] Haisch, C. et Niessner, R. (2002). Light and sound - photoacoustic spectroscopy. *Spectroscopy Europe*, 14(5), 10-15.
- [7] Invitrogen™. *Invitrogen detection techniques - molecular probes*, [En ligne]. <http://probes.invitrogen.com/handbook/figures/0665.html> (Consulté le 16 octobre 2006).
- [8] Ku, G. et Wang, L.V. (2005). Deeply penetrating photoacoustic tomography in biological tissues enhanced with an optical contrast agent. *Optics letters*, 30(5), 507-509.
- [9] Ku, G., Wang, X., Stoica, G., et Wang, L.V. (2004). Multiple-bandwidth photoacoustic tomography. *Physics in medecine and biology*, 49, 1329-1338.
- [10] Ku, G., Wang, X., Xie, X., Stoica, G., et Wang, L.V. (2005). Imaging of tumor angiogenesis in rat brains in vivo by photoacoustic tomography. *Applied optics*, 44(5), 770-775.

- [11] Li, M.-L., Zang, H.F., Maslov, K., Stoica, G., et Wang, L.V. (2006). Improved in vivo photoacoustic microscopy based on a virtual-detector concept. *Optics letters*, 31(4), 474-476.
- [12] Nielsen, S., Lapierre, A., Andersen, J., Pedersen, U., Tomita, S., et Andersen, L. (2002). Absorption spectrum of the green fluorescent protein chromophore anion in vacuo. *Physical review letters*, 87(22), 1-4.
- [13] Panametrics, I. *Technical notes*, [En ligne]. <http://www.panametrics.com> (Consulté le 20 septembre 2006).
- [14] Provost, J., Lesage, F., Coursolle, M. et Lina, J.-M. (2007). Curvelet deconvolution and denoising in photo-acoustic image reconstruction. *Soumi pour 2007 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging*.
- [15] Rosencwaig, A. et Gersho, A. (1976). Theory of the photoacoustic effect with solids. *Journal of Applied Physics*, 47(1), 64-69.
- [16] Tam, A.C. (1986). Application of photoacoustic sensing techniques. *Review of modern physics*, 58(2), 381-431.
- [17] Wang, L.V., Zhao, X., Sun, H., et Ku, G. (1999). Microwave-induced acoustic imaging of biological tissues. *Review of scientific instruments*, 70(9), 3744-3748.
- [18] Wang, X., Ku, G., Wegiel, M. A., Bornhop, D.J., Stoica, G., et Wang, L.V. (2004). Noninvasive photoacoustic angiography of animal brains in vivo with near-infrared light and an optical contrast agent. *Optics letters*, 29(7), 730-732.
- [19] Wang, X., Pang, Y., Ku, G., Xie, X., Stoica, G., et Wang, L.V. (2003). Noninvasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional in vivo imaging of the brain. *Nature biotechnology*, 21(7), 803-806.
- [20] Wang, X., Xu, Y., Xu, M., Yokoo, S., Fry, E. S., et Wang, L.V. (2002). Photoacoustic tomography of biological tissues with high cross-section resolution : Reconstruction and experiment. *Physics in medecine*, 29(12), 2799-2805.
- [21] Wikipédia, l'encyclopédie libre.
Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle, [En ligne]
http://fr.wikipedia.org/wiki/Imagerie_par_r%C3%A9sonance_magn%C3%A9ti%que#_fonctionnelle (Consulté le 3 novembre 2006).
- [22] Wikipedia, the free encyclopedia. *Aequorea victoria*, [En ligne]
http://en.wikipedia.org/wiki/Aequorea_victoria (Consulté le 3 novembre 2006).

- [23] Wikipedia, the free encyclopedia. *Electroencephalography*, [En ligne]
<http://en.wikipedia.org/wiki/Electroencephalography> (Consulté le 3 novembre 2006).
- [24] Wikipedia, the free encyclopedia. *Functional magnetic resonance imaging*, [En ligne]
http://en.wikipedia.org/wiki/Functional_MRI (Consulté le 3 novembre 2006).
- [25] Wikipedia, the free encyclopedia. *Green fluorescent protein*, [En ligne]
http://en.wikipedia.org/wiki/Green_fluorescent_protein (Consulté le 3 novembre 2006).
- [26] Wikipedia, the free encyclopedia. *Optical imaging*, [En ligne]
http://en.wikipedia.org/wiki/Optical_imaging (Consulté le 3 novembre 2006).
- [27] Wikipedia, the free encyclopedia. *Positron emission tomography*, [En ligne]
http://en.wikipedia.org/wiki/Positron_emission_tomography (Consulté le 3 novembre 2006).
- [28] Wikipedia, the free encyclopedia. *Yellow fluorescent protein*, [En ligne]
http://en.wikipedia.org/wiki/Yellow_fluorescent_protein (Consulté le 3 novembre 2006).
- [29] Xu, M. et Wang, L.V. (2002). Time-domain reconstruction for thermoacoustic tomography in a spherical geometry. *IEEE transactions on medical imaging*, 21(7), 814-822.
- [30] Xu, Y., Wang, L.V., Ambartsoumian, G., et Kuchment, P. (2004). Reconstructions in limited-view thermoacoustic tomography. *Med. Phys.*, 31.
- [31] Zhao, Z. (2002). Pulsed photoacoustic techniques and glucose determination in human blood and tissue.