

Signaux et Systèmes

Chapitre 8

Introduction à l'imagerie

Septembre 2019

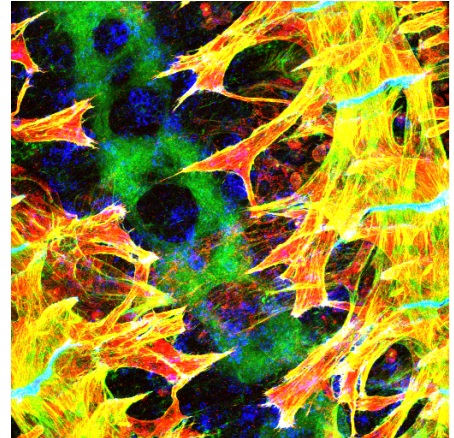


TABLE DES MATIERES

- **IM.1 Microscopie à fluorescence**
 - Fluorescence en microscopie
 - Rudiments d'optique physique
 - Réponse impulsionnelle du microscope
- **IM.2 Résonance magnétique nucléaire**
 - Résonance magnétique: principe
 - Spectroscopie RMN
 - Imagerie RMN: encodage de fréquence

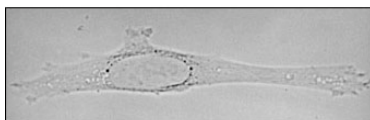
IM.1 MICROSCOPIE A FLUORESCENCE

- Fluorescence en microscopie
- Rudiments d'optique physique
- Figure de diffraction 1D: source ponctuelle
- Réponse impulsionnelle du microscope
- Réponse fréquentielle; résolution
- Au delà de la microscopie 1D!

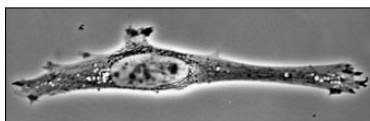
8-3

Microscopie cellulaire: une affaire de contraste

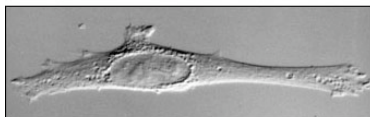
Les bons vieux jours (jusqu'à la fin du 20ème siècle)



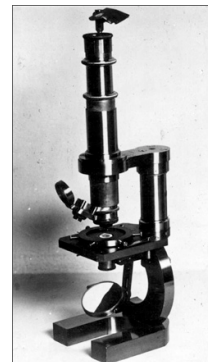
microscopie classique
("brightfield")



contraste de phase
[Zernike, circa 1940]

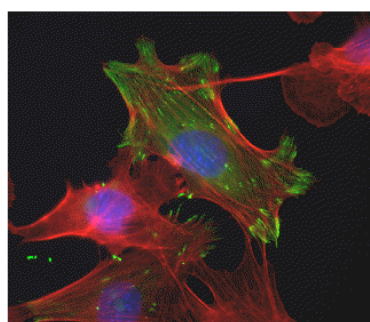


contraste différentiel d'interférence
("DIC") [Normarski, 1955]



microscope de Zeiss/Abbe 1880

Etat de l'art ("colored revolution")



microscope confocal: station de travail

8-4

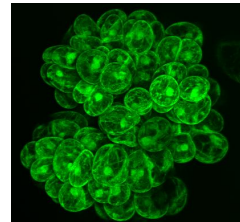
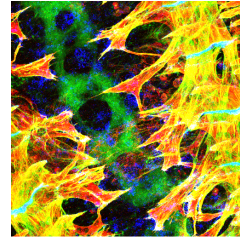
Fluorescence en microscopie

■ Marquage fluorescent (specimen fixé)

- Colorants fluorescents (faible spécificité)
(e.g., DAPI ou Hoechst pour l'ADN)
- Immunofluorescence
Fluorophore — e.g., fluorescéine (jaune-vert), ou rhodamine (rouge) —
lié chimiquement à un anti-corps ⇒ sonde moléculaire très spécifique

■ Fluorescence endogène (imagerie “life”)

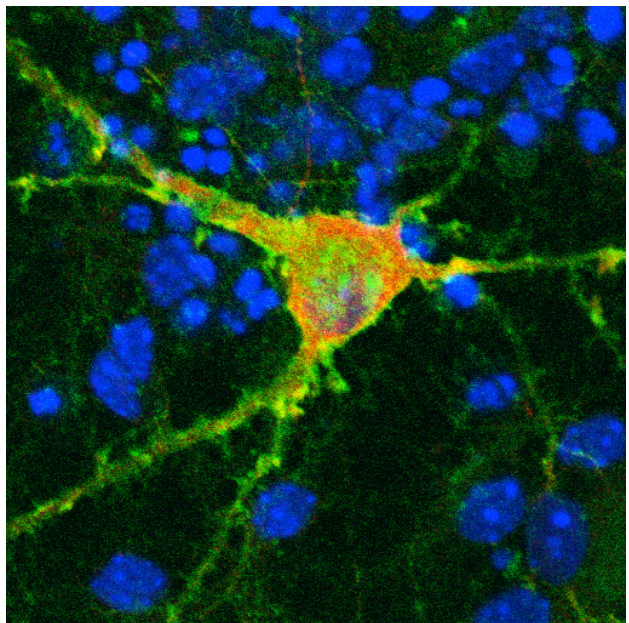
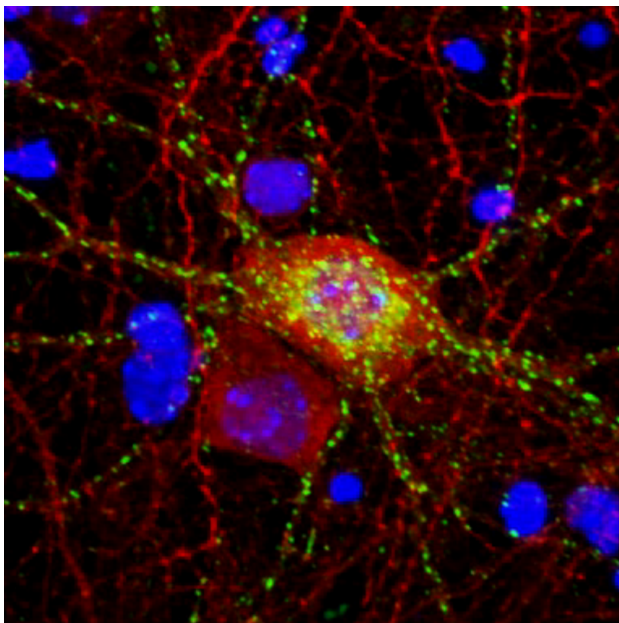
- Fluorescence naturelle (faible spécificité):
certaines bactéries, les pigments photosynthétiques
(chlorophylle)
- Méthodes génétiques (forte spécificité):
Green Fluorescent Protein (“the Green revolution”) et variantes



8-5

Exemples: Images de neurones

(images courtesy of Scherrer et al., IGBMC, Illkirch, France)



Marquage génétique (GFP): récepteur spécifique (delta opioïd)

Immunomarquage (rouge): neuro-transmetteur (GABA)

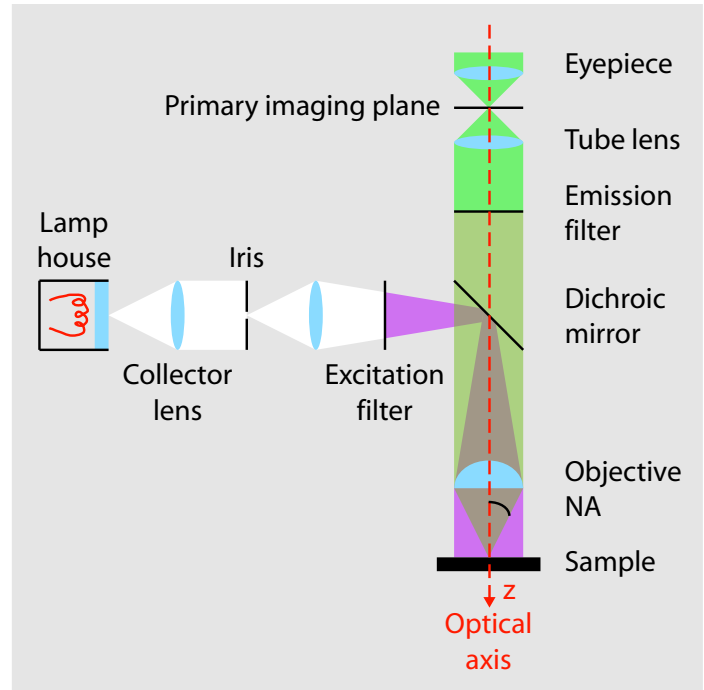
Colorant (DAPI bleu): noyau cellulaire (ADN)

8-6

Microscope à fluorescence (champ large)

■ Optique classique

- Illumination uniforme (Köhler)
- Lentilles, objectif
 - Paramètres clés:
 - f : longueur(s) focale(s)
 - M : agrandissement
 - NA: ouverture numérique
 - λ : longueur d'onde



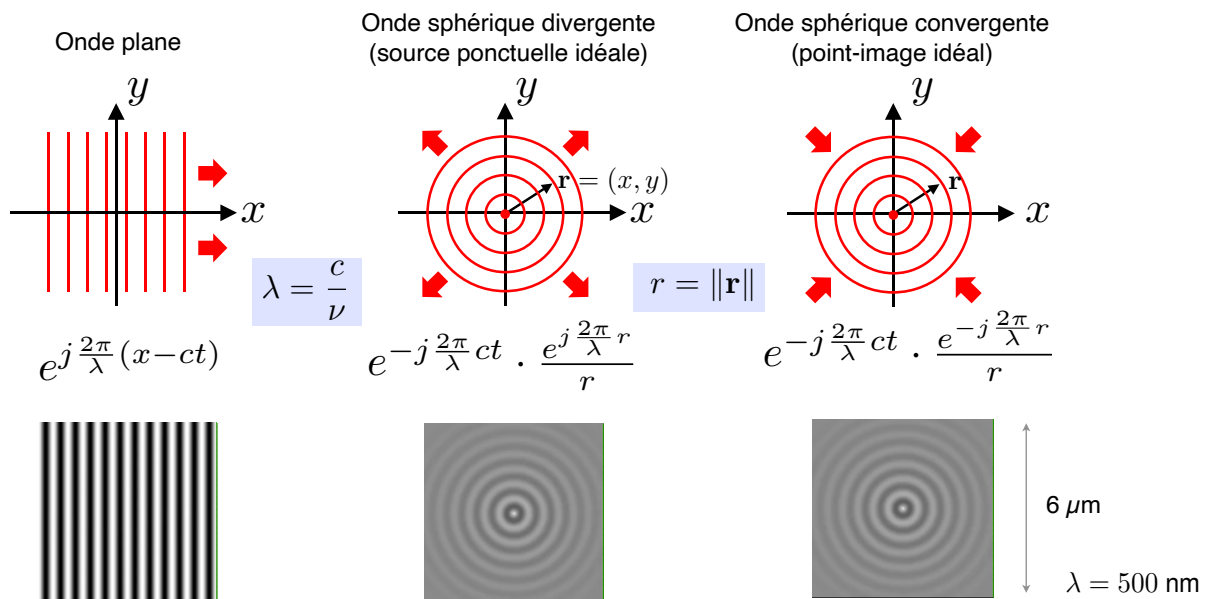
■ Composants pour la fluorescence

- Filtre d'excitation
- Filtre d'émission
- Miroir dichroïque

8-7

Rudiments d'optique physique

- Lumière: propagation d'une onde électromagnétique
- Variations d'amplitude représentées par des sinusoïdes complexes
 - Exemples concrets:



(animations ralenties par un facteur $1.8 \cdot 10^{12}$)

8-8

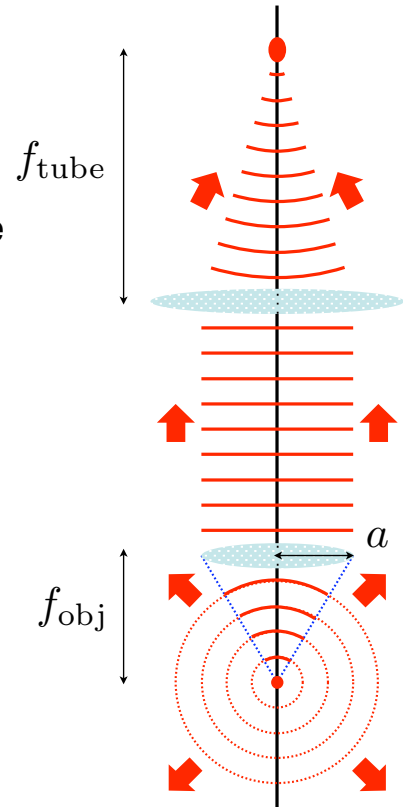
Ouverture numérique

- Une lentille “convertit” une onde sphérique divergente en une onde plane, ou une onde plane en une onde sphérique convergente
- Cette conversion est imparfaite due à l’ouverture limitée: l’image d’un point source est étalée spatialement
- Paramètres critiques:

$$NA = \frac{a}{f_{\text{obj}}}$$

“Numeral Aperture”

Agrandissement: $M = \frac{f_{\text{tube}}}{f_{\text{obj}}}$



8-9

Figure de diffraction 1D: source ponctuelle

- Onde plane à la sortie du tube: $e^{j\frac{2\pi}{\lambda}(z_0-ct)}$ (par design)
- Retard de phase introduit par la lentille (mince)
 $e^{j\phi_{\text{lens}}(u)}$ avec $\phi_{\text{lens}}(u) = -\frac{2\pi}{\lambda} \frac{u^2}{2f_{\text{tube}}}$

- Diffraction induite par la lentille à la position x

$$e^{j\frac{2\pi}{\lambda}(z_0-ct)} \int_{-a}^a e^{j\phi_{\text{lens}}(u)} \frac{e^{j\frac{2\pi}{\lambda}r}}{r} du \quad (\text{Huygens})$$

- Longueur du chemin optique: $r = r(u, x)$

$$r = \sqrt{f_{\text{tube}}^2 + (x-u)^2} \quad (\text{Pythagore})$$

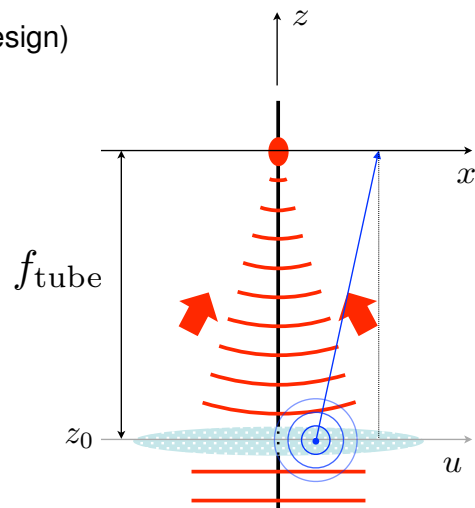
- Approximation de Fresnel (hypothèse: $u, x \ll f_{\text{tube}}$)

$$r = f_{\text{tube}} \cdot \sqrt{1 + \frac{(x-u)^2}{f_{\text{tube}}^2}}$$

$$\approx f_{\text{tube}} \cdot \left[1 + \frac{(x-u)^2}{2f_{\text{tube}}^2} \right] = f_{\text{tube}} + \frac{x^2 + u^2 - 2xu}{2f_{\text{tube}}}$$

Série de Taylor:

$$\sqrt{1+t} = 1 + \frac{t}{2} + O(t^2)$$



8-10

Figure de diffraction (suite)

- Composante de phase pour le chemin optique $u \rightarrow x$

$$\begin{aligned}
 e^{j\phi_{\text{lens}}(u)} \cdot e^{j\frac{2\pi}{\lambda}r} &= \exp \left[j\frac{2\pi}{\lambda} \left(\overbrace{\frac{-u^2}{2f_{\text{tube}}}}^{\text{lentille}} + f_{\text{tube}} + \frac{x^2}{2f_{\text{tube}}} + \cancel{\frac{u^2}{2f_{\text{tube}}}} - \frac{xu}{f_{\text{tube}}} \right) \right] \\
 &= \exp \left(j\phi(x) - j\frac{2\pi}{\lambda} \frac{xu}{f_{\text{tube}}} \right)
 \end{aligned}$$

- Amplitude complexe dans le plan focal en x

$$e^{j\frac{2\pi}{\lambda}(z_0 - ct)} \cdot e^{j\phi(x)} \cdot \underbrace{\frac{1}{f_{\text{tube}}} \int_{-a}^a \exp \left(-j\frac{2\pi}{\lambda} \frac{xu}{f_{\text{tube}}} \right) du}_{p_{\lambda}(x)}$$

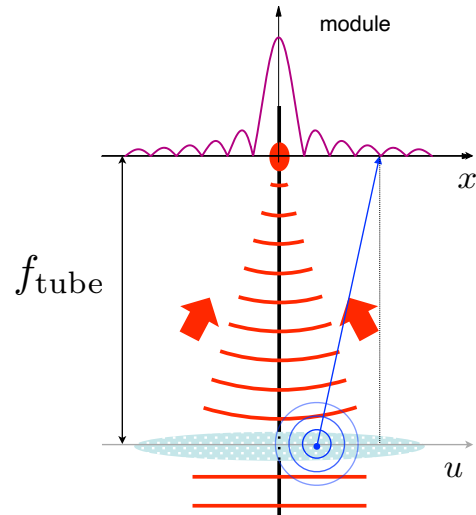
$r \approx f_{\text{tube}}$

- Calcul de la réponse d'amplitude $p_{\lambda}(x)$

Substitution de variables: $\omega = \frac{-2\pi u}{\lambda f_{\text{tube}}}$, $L_x = \frac{\lambda f_{\text{tube}}}{2a}$

$$p_{\lambda}(x) = \frac{2a}{f_{\text{tube}}} \cdot \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} L_x \text{rect} \left(L_x \frac{\omega}{2\pi} \right) e^{j\omega x} d\omega$$

$$\Rightarrow p_{\lambda}(x) = \frac{2a}{f_{\text{tube}}} \cdot \text{sinc} \left(\frac{x}{L_x} \right) \quad (\text{par transformation de Fourier inverse})$$



8-11

Réponse impulsionnelle du microscope

- Intensité au niveau du détecteur (module au carré)

Réponse impulsionnelle 1D (incohérente): $h(x) = |p_{\lambda}(x)|^2 \propto |\text{sinc}(x/L_x)|^2$

Anglais: PSF (point spread function)

- Système linéaire, invariant par translation (LIT)

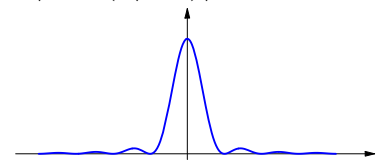
- Linéarité: nature stochastique du phénomène de fluorescence
 $\Rightarrow$ Sommation des intensités des sources individuelles (ondes incohérentes)
- Invariance par translation (approximation paraxiale, système optique parfait)

- Formation d'image par convolution

- Hypothèses: imagerie 1D (e.g., au travers d'une fente); spécimen plan
- Intensité du signal 1D dans le plan focal:

$$g(x) = (h * f)(x) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(u)h(x-u)du$$

$f(x)$: fonction caractéristique 1D du spécimen (concentration de fluorophore)



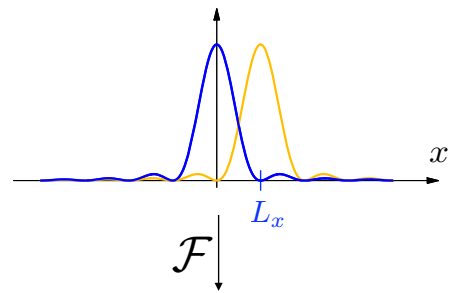
8-12

Réponse fréquentielle; résolution

■ Réponse impulsionnelle normalisée

$$h(x) = |\text{sinc}(x/L_x)|^2$$

$$\text{avec } L_x = \frac{\lambda f_{\text{tube}}}{2a} = \frac{\lambda M}{2 \text{NA}}$$



■ Réponse fréquentielle

$$H(\omega) = \frac{1}{2\pi} L_x \text{rect}\left(\frac{\omega L_x}{2\pi}\right) * L_x \text{rect}\left(\frac{\omega L_x}{2\pi}\right) = L_x \cdot \text{tri}\left(\frac{\omega L_x}{2\pi}\right)$$

The diagram shows the convolution of two rectangular pulses, labeled $P_\lambda(\omega)$, to form a triangular pulse. The width of the triangular pulse is labeled $\omega_{\text{max}} = \frac{2\pi}{L_x}$.

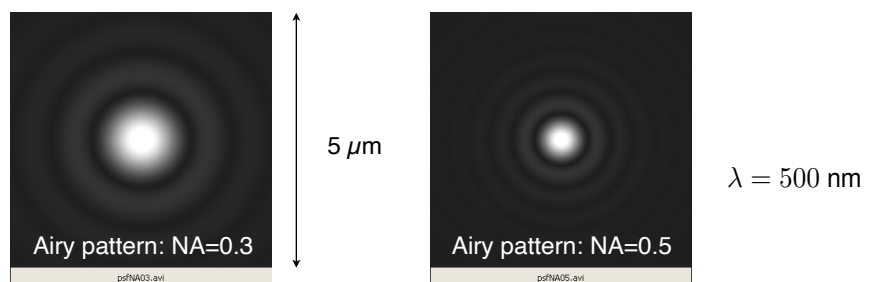
■ Résolution spatiale

- Critère de Rayleigh: 2 sources ponctuelles peuvent être résolues si le maximum du 2ème pic est au delà du 1er minimum de la PSF
- Critère fréquentiel: $\Delta_{x,\text{min}} = \frac{2\pi}{\omega_{\text{max}}}$ où ω_{max} est la fréquence de coupure
- Résolution (rapportée au plan objet): $L_{\text{Rayleigh}} = \frac{\lambda}{2 \text{NA}}$ ($= \frac{L_x}{M} = \frac{2\pi}{\omega_{\text{max}} M}$)

8-13

Au-delà de la microscopie 1D !

- Un microscope réel fournit une image planaire (2D) en fonction des variables spatiales x, y
- Le raisonnement optique est le même à la différence que l'intégrale de diffraction (= transformation de Fourier) est en 2D
- Le model convolutif reste valable, mais l'intégrale de convolution est en 2D (specimen plan) — voire 3D, pour un objet volumique
- La PSF dans le plan focal est la version "isotropique" de $\text{sinc}^2(x)$:
c'est la **fonction d'Airy**



- La réponse fréquentielle est l'analogue radial de la fonction tri (autocorrélation de la fonction pupillaire circulaire). La formule de Rayleigh pour la résolution reste valable.

8-14



October 09, 2014 • Article

Nobel Prize in Chemistry for Achievements in Super-Resolution Microscopy

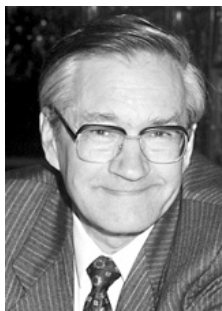
Eric Betzig, Stefan W. Hell and William E. Moerner awarded for the development of super-resolved fluorescence microscopy

On October 8th 2014, The Royal Swedish Academy of Sciences has decided to award the Nobel Prize in Chemistry for 2014 to Eric Betzig, **Stefan W. Hell** and William E. Moerner "for the development of super-resolved fluorescence microscopy".

For a long time optical microscopy was held back by a presumed limitation: that it would never obtain a better resolution than half the wavelength of light. Helped by fluorescent molecules the Nobel Laureates in Chemistry 2014 ingeniously circumvented this limitation. Their ground-breaking work has brought optical microscopy into the nanodimension.

IM.2 RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE

- Résonance magnétique: principe
- Spectroscopie RMN
- Imagerie RMN: encodage de fréquence



Richard R. Ernst (ETHZ)

Prix Nobel de Chimie en 1991



Paul C. Lauterbur



Peter Mansfield

Prix Nobel de Médecine en 2003

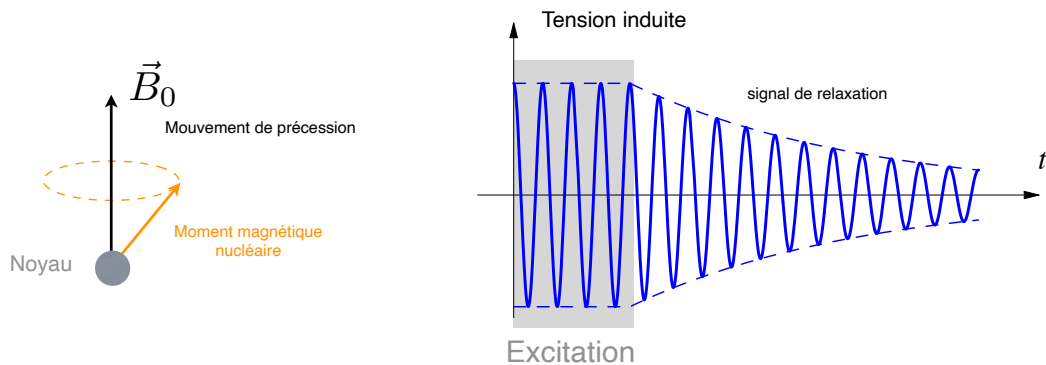
Résonance magnétique: principe

■ Les spins comme signature de la structure atomique

- Les noyaux atomiques sont caractérisés par un spin et un moment magnétique: ils sont équivalents à de petits aimants.
- En présence d'un champ magnétique statique externe $\vec{B}_0$, les spins nucléaires s'orientent et ont tendance à résonner (*précession*) à la *fréquence de Larmor*

$$\omega_0 = \gamma B_0$$

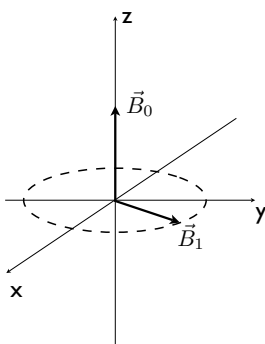
γ : constante gyromagnétique associée au type de noyau (e.g. ^1H ou ^{13}C)



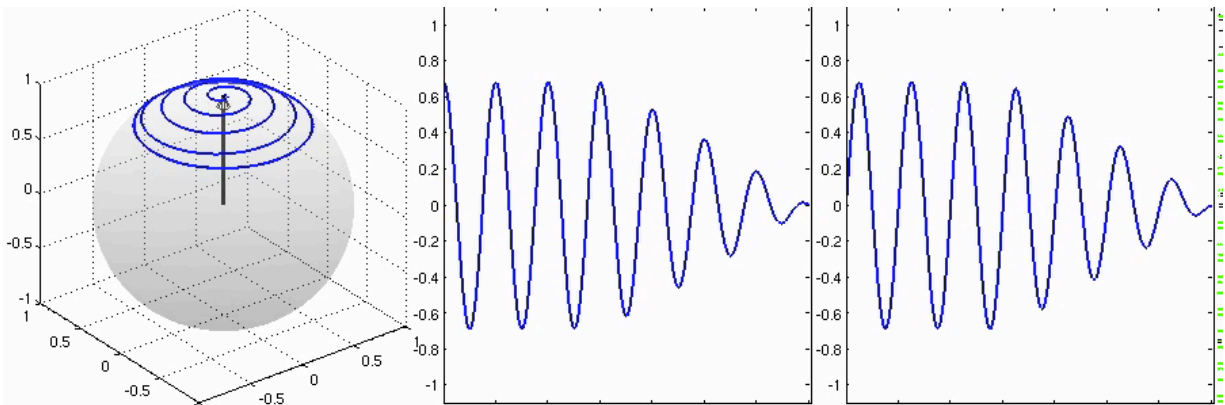
Exemple: $B_0 = 1.5$ Tesla correspond à $f_0 = \frac{\omega_0}{2\pi} \approx 64$ MHz (Noyaux d'hydrogène)

8-17

Excitation et mesures



- Un transfert d'énergie s'effectue par excitation RF appropriée (champ oscillant à la fréquence ω_0 dans un plan perpendiculaire à $\vec{B}_0$)
- L'aimantation résultante génère un signal dans une antenne réceptrice
- Le signal de relaxation ("free induction decay") porte la signature de la structure atomique sous-jacente: nombre de spins oscillant à une certaine fréquence caractéristique
- L'information est dépouillée grâce à la transformation de Fourier



8-18

Spectroscopie RMN

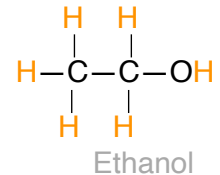
- Déplacement chimique ("chemical shift") en RMN: l'environnement atomique d'un noyau constitue un écran pour le champ appliqué B_0 . Ceci diminue légèrement la fréquence de résonance selon le type de molécule.

Ordre de grandeur: $\Delta f = 0 - 200$ Hz par rapport à $f_0 = 100 - 200$ MHz

- Après démodulation autour de la fréquence ω_d , pour 1 mol/l d'un type donné de molécule, on a le signal résultant (signature moléculaire)

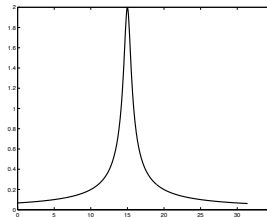
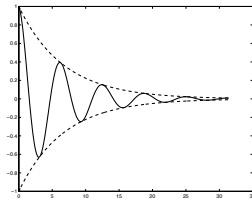
$$\phi(t) = \sum_{k=1}^K c_k u(t) e^{\alpha_k t}; \quad \alpha_k = \tau_k + j\omega_k; \quad k = 1, \dots, K$$

NOTE. Le nombre de résonances distinctes K , ainsi que la vitesse de décroissance τ_k de chaque exponentielle, dépend de la structure de la molécule



- Signaux spectroscopiques élémentaires:

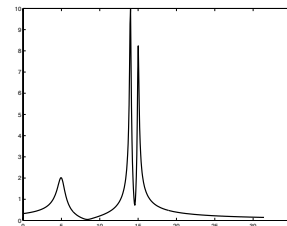
$$u(t)e^{\alpha_k t} \xleftrightarrow{\mathcal{F}} \frac{1}{j\omega - \alpha_k}$$



8-19

Analyse du spectre RMN

- Spectre chimique: séparation des composantes dans le domaine de Fourier
- Détermination de la concentration chimique



- Modèle de mesure (après transformation de Fourier):

$$S_{\text{mes}}(\omega) = \sum_{m=1}^M p_m \Phi_m(\omega) + N(\omega)$$

M : nombre de molécules distinguables

$\Phi_m(\omega) = \mathcal{F}\{\phi_m\}$: spectre caractéristique du m -ème type de molécule (K_m pics)

p_m : concentration du m -ème type de molécule

$N(\omega)$: transformation de Fourier du bruit de mesure

- Détermination des p_m par estimation aux moindres carrés

- Cas particulier $M = 1$ (cf. Chapitre 2): $p_1 = \frac{\langle S_{\text{mes}}, \Phi_1 \rangle}{\langle \Phi_1, \Phi_1 \rangle}$

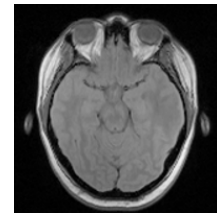
- Remarque: l'estimation peut aussi se faire dans le domaine temporel en vertu de l'égalité de Parseval

8-20

Imagerie par résonance magnétique (IRM)



Scanner “whole body” à 1.5 Tesla



Densité de proton

■ Contexte simplifié

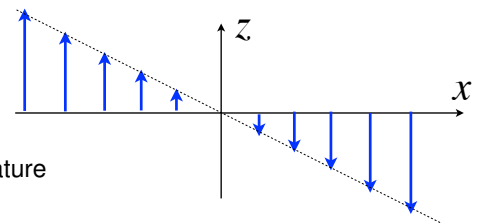
- Le signal est dû aux spins des noyaux d'hydrogène (^1H =proton)
- L'effet “chemical shift” est négligeable
- Les constantes de relaxation τ_k sont supérieures au temps de mesure: les signaux RMN élémentaires sont quasi-sinusoïdaux
- On ne considère que la densité de spins $p(x)$ selon l'axe x (imagerie 1D)

8-21

Encodage en fréquence

$$\omega = \omega_0(x)$$

- Excitation par impulsion RF (à bande limitée)
- Un gradient en x est appliqué durant la prise de mesure:
$$B_z = B_z(x) = B_0 - \frac{G_x}{\gamma}x$$
- La mesure s'effectue à partir de deux bobines réceptrices en quadrature
- La fréquence centrale après démodulation est: $\omega'_0 = \gamma B_0 - \omega_d = 0$



■ Principe de l'encodage en fréquence

- Signal dû à une source ponctuelle de densité p_0 à la position x_0 :

$$s(t) = p_0 e^{j(\omega'_0 - G_x x_0)t} \quad (\text{sinusoïde pure})$$

La position x_0 est encodée par la fréquence $\omega(x_0) = \omega'_0 - G_x x_0$.

- Signal dû à un ensemble de sources avec une distribution de densité $p(x)$

$$s(t) = \int_{-\infty}^{\infty} p(x) e^{j(\omega'_0 - G_x x)t} dx = \underbrace{e^{j\omega'_0 t}}_{=1} \int_{-\infty}^{\infty} p(x) e^{-jx(G_x t)} dx$$

- La reconstruction s'effectue par transformation de Fourier inverse:

$$p(x) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} s(t)|_{t=\omega/G_x} e^{j\omega x} d\omega$$

8-22

Au-delà de l'IRM unidimensionnelle

■ Localisation tri-dimensionnelle

- Localisation en z : "sélection de coupe". Un gradient de champ magnétique linéaire en z est appliqué *pendant* l'excitation. De ce fait, la pulsation RF (à bande limitée) n'excite qu'une coupe perpendiculaire à l'axe z : $\omega_0(z) \in [\omega_{\min}, \omega_{\max}]$.
- Localisation en x : encodage en fréquence. Mesure de la transformation de Fourier 2D de la coupe selon l'axe ω_x avec $\omega_y = \text{Const.}$
- Localisation en y : encodage en phase. Un gradient de champ linéaire en y est appliqué durant un temps donné *après* l'excitation, mais *avant* l'acquisition. Il introduit un déphasage qui varie linéairement en fonction de y . Le processus est itéré de façon à échantillonner la transformation de Fourier 2D selon l'axe ω_y .

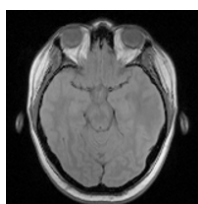
■ Techniques d'acquisition

- Gradient Echo, Spin Echo: méthodes séquentielles, donc lentes, mais fournissant des images de qualité
- Echo Planar Imaging (EPI): acquisition rapide avec gradients pulsés (excitation unique)
- IRM parallèle (SENSE): au-delà de la transformation de Fourier
- ...

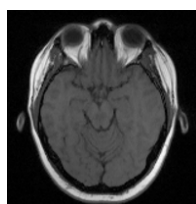
8-23

IRM moderne: un horizon de possibilités

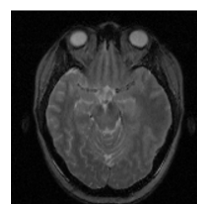
Mesure des constantes de relaxation



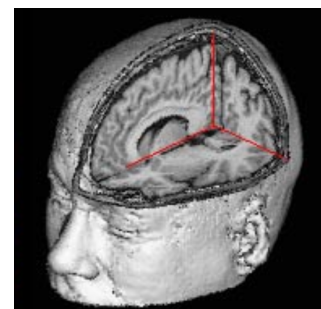
Densité de protons



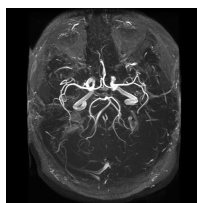
T1-weighted



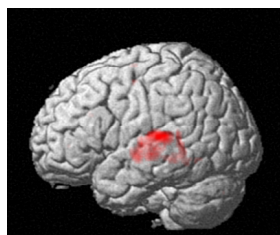
T2-weighted



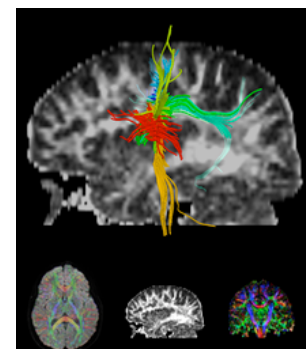
Visualisation 3D



Angiographie



IRM fonctionnelle (T2*)

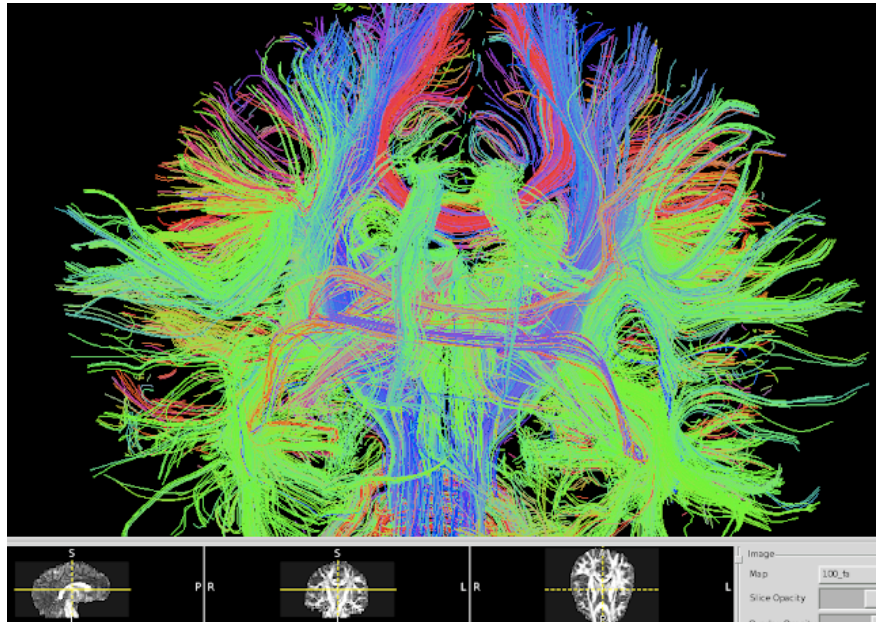


Tenseur de diffusion

8-24



Peter Basser, NIH



Biophysical Journal Volume 66 January 1994 259-267

259

MR Diffusion *Tensor* Spectroscopy and Imaging

Peter J. Basser,* James Mattiello,* and Denis LeBihan†

*Biomedical Engineering and Instrumentation Program, National Center for Research Resources, and †Diagnostic Radiology Department, The Warren G. Magnuson Clinical Center, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20892 USA

ABSTRACT This paper describes a new NMR imaging modality—MR diffusion *tensor* imaging. It consists of estimating an effective diffusion tensor, $\mathbf{D}_{eff}$, within a voxel, and then displaying useful quantities derived from it. We show how the phenomenon of anisotropic diffusion of water (or metabolites) in anisotropic tissues, measured noninvasively by these NMR methods, is exploited to determine fiber tract orientation and mean particle displacements. Once $\mathbf{D}_{eff}$ is estimated from a series of NMR pulsed-gradient, spin-echo experiments, a tissue's three orthotropic axes can be determined. They coincide with the eigenvectors of $\mathbf{D}_{eff}$, while the effective diffusivities along these orthotropic directions are the eigenvalues of $\mathbf{D}_{eff}$. Diffusion ellipsoids, constructed in each voxel from $\mathbf{D}_{eff}$, depict both these orthotropic axes and the mean diffusion distances in these directions. Moreover, the three scalar invariants of $\mathbf{D}_{eff}$, which are independent of the tissue's orientation in the laboratory frame of reference, reveal useful information about molecular mobility reflective of local microstructure and anatomy. Inherently, tensors (like $\mathbf{D}_{eff}$) describing transport processes in anisotropic media contain new information *within a macroscopic voxel* that scalars (such as the apparent diffusivity, proton density, T_1 , and T_2) do not.

>5000 citations

Magnetic resonance: the bottom line

$$\omega = \gamma \times B$$

spectroscopy

spin resonance

imaging