

OPTIQUE ADAPTATIVE pour l'imagerie rétinienne

Serge MEIMON¹

Kate GRIEVE²

Cyril PETIT¹

¹ ONERA/DOTA, Paris

² Hôpital des 15-20, Paris
serge.meimon@onera.fr

L'une des possibilités les plus excitantes de l'imagerie médicale est l'observation du fonctionnement du cerveau. L'imagerie calcique, récompensée en 2014 par un prix Nobel, permet l'observation de l'activité de neurones spécifiques dans un cerveau de souris en activité. Cette technique est hélas très invasive et donc non transposable au cerveau humain, dont l'observation ne peut être faite qu'avec une résolution de l'ordre du millimètre, grâce à l'IRM fonctionnelle.

L'ensemble du cerveau humain semble donc résister à l'observation microscopique in-vivo. Tout le cerveau ? Non ! Il en existe une unique partie observable aux longueurs d'onde optiques (avec une résolution de l'ordre du micron, c'est-à-dire la taille d'une cellule) : la rétine. En effet, le réseau neuro vasculaire profond que constitue la rétine peut être vu comme une partie du cerveau, dont il partage certaines structures et certaines pathologies. Par exemple, les bêta-amyloïdes, qui s'accumulent dans le cerveau chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, se retrouvent aussi dans la rétine. Il est même possible de les identifier grâce à une épice courante, le curcuma. De même, lors d'une suspicion de traumatisme cérébral, comme pendant des compétitions de rugby, c'est la rétine que l'on observe pour y rechercher des lésions dont la présence indique que le cerveau est atteint.

200 ans d'observation de la rétine

De par sa particularité, la rétine fait l'objet d'une observation minutieuse depuis plus de 200 ans (cf. *figure 2*), grâce à des instruments spécifiques baptisés « ophtalmoscopes ».

L'ophtalmoscopie plein champ consiste à illuminer la rétine par une source large et à recueillir la lumière rétrodiffusée à l'aide d'une caméra.

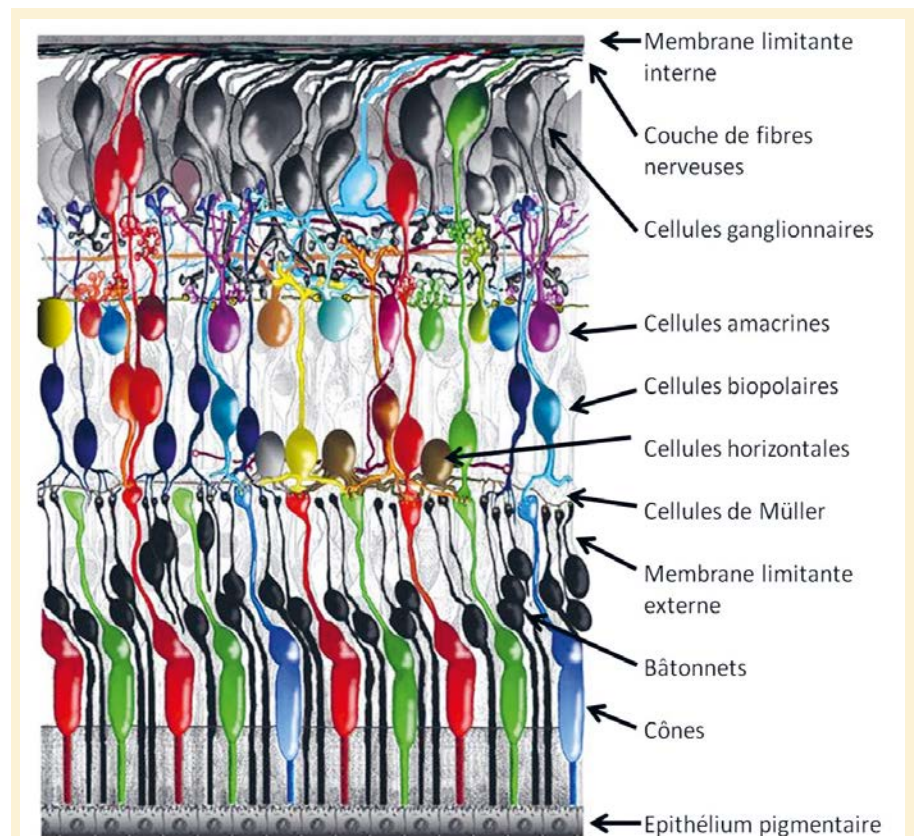


Figure 1. Notre rétine est un tissu d'à peine un demi millimètre d'épaisseur qui tapisse le fond de notre œil. Elle est constituée d'un réseau vasculaire complexe qui alimente une architecture de neurones divisée en trois étages : un premier étage de photorécepteurs, les fameux cônes et bâtonnets, des neurones chargés de transformer la lumière en signal nerveux ; les deux étages suivants servent à pré-traiter les informations, qui seront acheminées vers le nerf optique par les axones (fibres nerveuses) des cellules ganglionnaires. Ces deux étages supérieurs sont relativement transparents aux longueurs d'onde optiques, car la lumière incidente les traverse avant d'être perçue par les photorécepteurs. Tout au fond, au pied des photorécepteurs, la rétine est limitée par une monocouche cellulaire, l'épithélium pigmentaire rétinien, qui absorbe la lumière non captée par les photorécepteurs (et en rétro-diffuse une partie) (D'après [1], tous droits réservés).

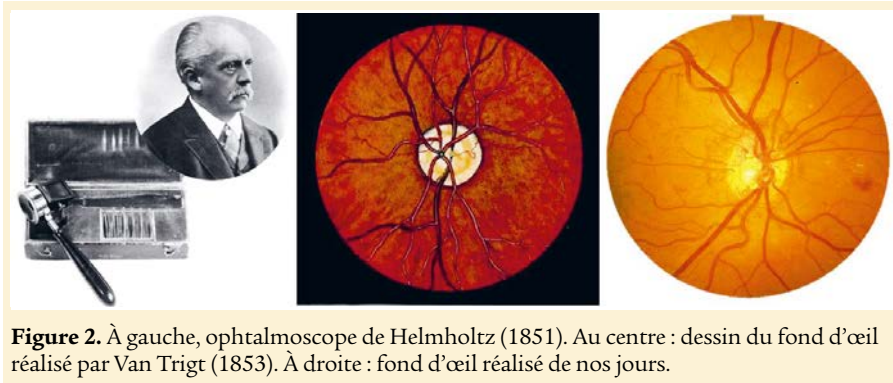


Figure 2. À gauche, ophtalmoscope de Helmholtz (1851). Au centre : dessin du fond d'œil réalisé par Van Trigt (1853). À droite : fond d'œil réalisé de nos jours.

au cerveau via le nerf optique, tels que les cellules ganglionnaires. L'une des limites essentielles à l'observation de ces couches supérieures de la rétine est le fait que celles-ci sont quasiment transparentes, car la lumière les traverse avant d'atteindre les photorécepteurs. De plus, il s'agit d'observer un volume de tissu, de telle sorte que lorsque l'on observe l'une des couches, toutes les autres contribuent à l'image sous la forme de structures défocalisées et d'un fond diffus qui réduit le contraste.

La révolution confocale

En microscopie, une solution révolutionnaire pour s'abstraire de la diffusion d'autres couches d'un volume de tissu avait été inventée par M. Minsky, le père de l'intelligence artificielle, en 1953 : le microscope confocal à balayage. Il consiste à illuminer le tissu par une source ponctuelle focalisée sur la couche d'intérêt, et à capter la lumière rétrodiffusée à travers un petit trou conjugué du même foyer (d'où l'adjectif « confocal »), de façon à filtrer par ce trou la lumière multi-diffusée ainsi que les faisceaux

Cette technique a été révolutionnée par l'adaptation de l'optique adaptative à l'ophtalmologie en 1997 [2]. Grâce à un ophtalmoscope plein-champ, l'équipe de David Williams à Rochester est ainsi parvenue à corriger les aberrations optiques rapidement évolutives de l'œil, et ainsi à résoudre les neurones photorécepteurs, cellules de quelques microns chargées de la conversion de la lumière en signal neuronal. Ces photorécepteurs sont de deux types, les bâtonnets, dédiés à la vision de nuit, et les cônes, dédiés à la vision de jour, à haute précision, et à la détection des couleurs. En 1997, seuls

les cônes étaient observables, mais ceci permit déjà de comprendre comment les classes de cônes sensibles aux différentes couleurs étaient organisées [3]. Dans le sillage de ces réalisations pionnières, le premier ophtalmoscope plein champ à optique adaptative commerciale a été développé par la société française Imagine Eyes.

Malgré tout, de nombreuses autres cellules essentielles à la vision se dérobaient encore à l'observation microscopique : les bâtonnets, bien sûr, mais aussi d'autres neurones chargés du pré-traitement des données acquises par les photorécepteurs avant transmission

Les premiers du genre



La turbine à vapeur moderne a été inventée en 1884 par Sir Charles Parsons, dont le premier modèle fut connecté à une dynamo ayant générée 7,5 kW (10hp) d'électricité

Question :
Quelle est la turbine à vapeur la plus puissante à ce jour?

Arabelle est une turbine pour centrale nucléaire délivrant jusqu'à 1,9GW de puissance

Conçue pour la mesure Utilisée pour sa précision

Que vous utilisiez des sources THz ou des lasers de l'UV à l'IR, la Pyrocam 4 mesure les caractéristiques de vos faisceaux en temps réel.



- Faisceaux jusqu'à 25X25mm sans réduction
- λ de 13nm à 3mm
- Détecteur 320X320 pixels - 80 μ m chacun
- Logiciel d'analyse BeamGage inclus

Appelez-nous au Tél. +33 1 60 91 68 23



The True Measure of Laser Performance™



www.ophiropt.com/photonic

défocalisés issus d'autres couches. Il suffit alors de balayer la source ponctuelle et le trou de réception sur l'échantillon pour reconstituer une image, à l'aide de miroirs de balayage galvanométriques. Dans ce cas, la fonction d'étalement de point est approximativement le carré de celle d'un microscope classique, elle est donc plus fine dans les trois dimensions : la résolution est accrue, ainsi que le sectionnement optique (sélectivité en profondeur).

C'est au début des années 2000 qu'un ophtalmoscope confocal à balayage corrigé par optique adaptative a vu le jour [4]. L'augmentation drastique de contraste et de résolution a permis d'imager non seulement les cônes, mais aussi les bâtonnets. Mais l'imagerie des cellules ganglionnaires, quasiment transparentes et peu contrastées, n'a été possible que grâce à une astuce elle aussi issue de la microscopie : en décalant légèrement le trou confocal de réception de la position de la source ponctuelle,

on bloque la réflexion diffuse directe (ou rétrodiffusion spéculaire) pour ne capter que la lumière multi-diffusée. Cette imagerie en « champ sombre » rehausse le contraste de cellules transparentes de façon spectaculaire, permettant une meilleure compréhension du réseau neuronal rétinien. Mais le réseau vasculaire n'est pas en reste ! La paroi des vaisseaux, ainsi que le trajet des globules rouges, deviennent beaucoup plus contrastés.

Cette méthode d'observation monopoint que l'on balaye devant l'échantillon se prête parfaitement à une mise en œuvre par optique fibrée. C'est la tête de fibre qui joue alors le rôle de source ponctuelle (à l'aller) et de trou confocal (au retour)¹. Résolution accrue, sectionnement optique, champ sombre, mise en œuvre par optique fibrée... cette modalité à balayage a largement supplanté la méthode plein champ des origines. Pour autant, cette dernière n'a pas totalement disparu !

Le renouveau de l'ophtalmoscopie plein-champ

En effet, l'ophtalmoscopie plein-champ présente des atouts importants vis-à-vis de la technique à balayage : la détection parallèle de tous les pixels est par nature plus rapide qu'une détection séquentielle (typiquement 50 fois plus rapide) ; de plus, l'ensemble des pixels de l'image sont acquis au même moment, alors que l'imagerie à balayage présente de nombreux artefacts lorsque la scène est mouvante. Les mouvements de rétine, qui sont présents en permanence chez l'humain, induisent une distorsion des images obtenues par balayage. De même, les mouvements des globules rouges se combinent avec le balayage (pour mieux se le représenter, si un globule rouge suivait la même trajectoire que le balayage, il pourrait être présent plusieurs fois dans l'image) créant un effet de brouillage. Hormis un éventuel flou de bouger, l'imagerie plein champ est exempte de ces effets. Elle est donc plus adaptée à des mesures précises de la topographie rétinienne, comme par exemple la mesure du calibre des capillaires, les plus petits vaisseaux rétinienens (de l'ordre de 10 μm) [8]. Cette mesure rend possible l'évaluation du couplage neuro-vasculaire, un mécanisme fondamental du cerveau et de la rétine impliqué notamment dans les maladies d'Alzheimer, de Parkinson et dans les AVC [9].

De l'aveu même de l'un des inventeurs de l'ophtalmoscope à balayage corrigé par optique adaptative (Austin Roorda), l'avenir est à la parallélisation et donc à l'imagerie plein champ... pourvu que cette dernière parvienne à améliorer sa résolution et son sectionnement optique et à proposer une imagerie en champ sombre ! C'est le défi que nous tentons de relever, en utilisant une technologie présente dans tous les vidéoprojecteurs, les *digital micromirror devices* (DMD), pour projeter au fond de la rétine des motifs d'illumination spécifiques.

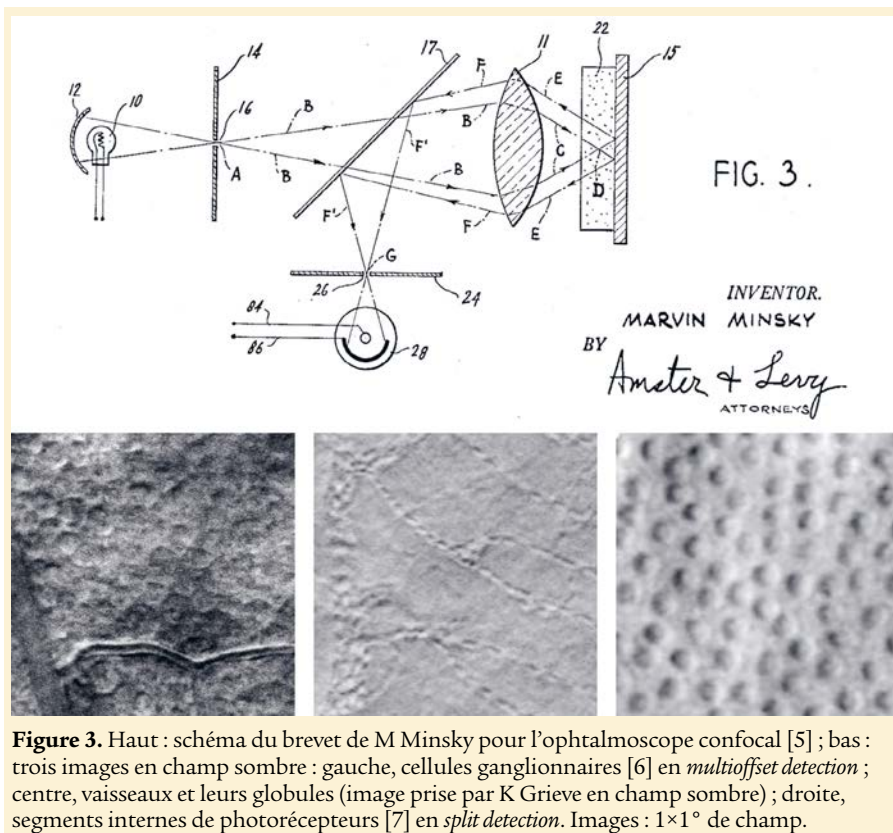


Figure 3. Haut : schéma du brevet de M Minsky pour l'ophtalmoscope confocal [5] ; bas : trois images en champ sombre : gauche, cellules ganglionnaires [6] en *multioffset detection* ; centre, vaisseaux et leurs globules (image prise par K Grieve en champ sombre) ; droite, segments internes de photorécepteurs [7] en *split detection*. Images : $1 \times 1^\circ$ de champ.

¹ La détection peut se faire de façon incohérente (ophtalmoscope confocal à balayage) ou de façon cohérente, en faisant battre le signal retour avec une partie du faisceau source. Cette détection cohérente, ou Optical Coherence Tomographie (OCT), rend possible une imagerie en profondeur de la rétine avec une résolution de l'ordre de quelques microns dans les trois dimensions. Couplée elle aussi avec l'optique adaptative, l'OCT est aujourd'hui l'imagerie rétinienne la plus utilisée, mais ses multiples modalités mériteraient un dossier complet à elles toutes seules...

Les deux faces d'un motif d'illumination numérique

Les motifs que nous projetons sont des motifs binaires, permettant d'éclairer à volonté certaines zones pour en laisser d'autres dans l'ombre. Prenons l'exemple de la *figure 4*, où un motif de bandes verticales est projeté.

Dans les zones sombres, il n'y a pas d'éclairage direct, donc pas de rétro-diffusion simple. Les structures sont indirectement éclairées par la lumière multi-diffusée issue des bandes claires, et apparaissent plus contrastées pour certaines d'entre elles, telles que la paroi des vaisseaux. C'est là exactement le principe de l'imagerie en champ sombre, dont nous démontrons ici la faisabilité dans la rétine avec une imagerie plein champ.

Considérons à présent les cases claires d'un motif en damier (cf. *figure 5*). Le contraste des photorécepteurs est bien meilleur que lorsque toute la scène est illuminée. Cela est dû au fait que l'on éclaire à travers un « trou » carré, qui délimite la case claire du damier, et

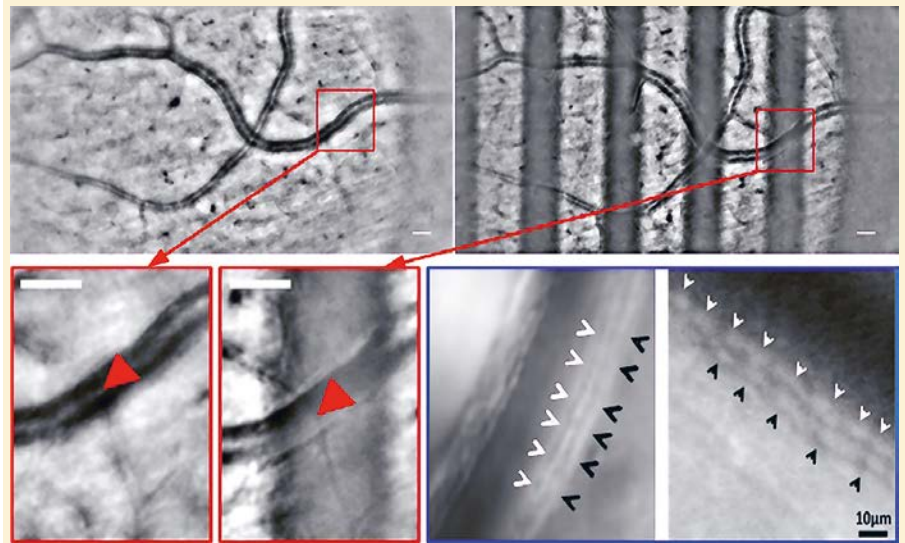


Figure 4. Effet de l'illumination structurée : images de vaisseaux rétiniens à 7° nasal (à 7° du centre de vision dans la direction du nez), en haut à gauche : optique adaptative plein champ [10] sous illumination classique et en haut à droite : sous projection de franges de 200 µm ; encadrés en rouge : zooms sur vaisseaux (flèches). Encadré en bleu : à gauche, triple paroi de vaisseaux vue en optique adaptative plein champ, et à droite en optique adaptative en champ sombre par balayage (d'après [11], tous droits réservés).

qu'au retour on ne regarde qu'une zone de pixels délimitant une zone carrée. Ce double filtrage spatial constitue une détection confocale. Avec des cases de

damier d'une taille proche de la tache d'Airy on obtiendrait le gain de résolution d'un facteur 2 que l'on obtient en microscopie confocale à balayage, mais

Mise au point parfaite et sans effort

Nouveau chez IDS : les caméras sur carte USB 3.1 Gen 1 avec commande à lentilles liquides

Les caméras caméras-carte uEye LE USB 3.1 Gen 1 avec monture S ou CS/C de la société IDS Imaging Development Systems GmbH permettent des prises de vue à la mise au point optimale à des distances d'objet variables. Les utilisateurs peuvent régler aisément et sans effort la mise au point à l'aide de l'interface utilisateur uEye Cockpit ou de l'interface de programmation.

Les abordables caméras-industrielles uEye LE avec connexion USB Type-C anti-torsion (twist-proof) et USB Power Delivery sont particulièrement intéressantes pour les systèmes logistiques (pour la réception et le tri des colis par exemple), pour la microscopie et la surveillance du trafic ainsi que pour l'intégration dans de petits appareils médicaux ou industriels. Par le biais d'USB Power Delivery, il est possible de proposer une alimentation électrique périphérique variable sur le port E/S.

Les variantes caméras-carte avec lentille liquide sont disponibles avec le capteur à obturateur roulant (Rolling Shutter) 6,4 MP IMX178 de Sony ou le capteur à obturateur roulant (Rolling Shutter) 18,1 MP AR1820HS de ON Semiconductor très sensible à la lumière.

IDS offre également en option sur ces caméras des objectifs à lentilles liquides adaptés. Ils se distinguent notamment par un ajustement précis et rapide. Sans oublier qu'ils sont parfaitement compatibles avec les caméras sur carte.



IDS : IDS Imaging Development Systems GmbH | Dimbacher Str. 6-8 | 74182 Obersulm, Allemagne
Tél.: +49 7134 96196 - 0 | E: info@ids-imaging.fr | Web: www.ids-imaging.fr

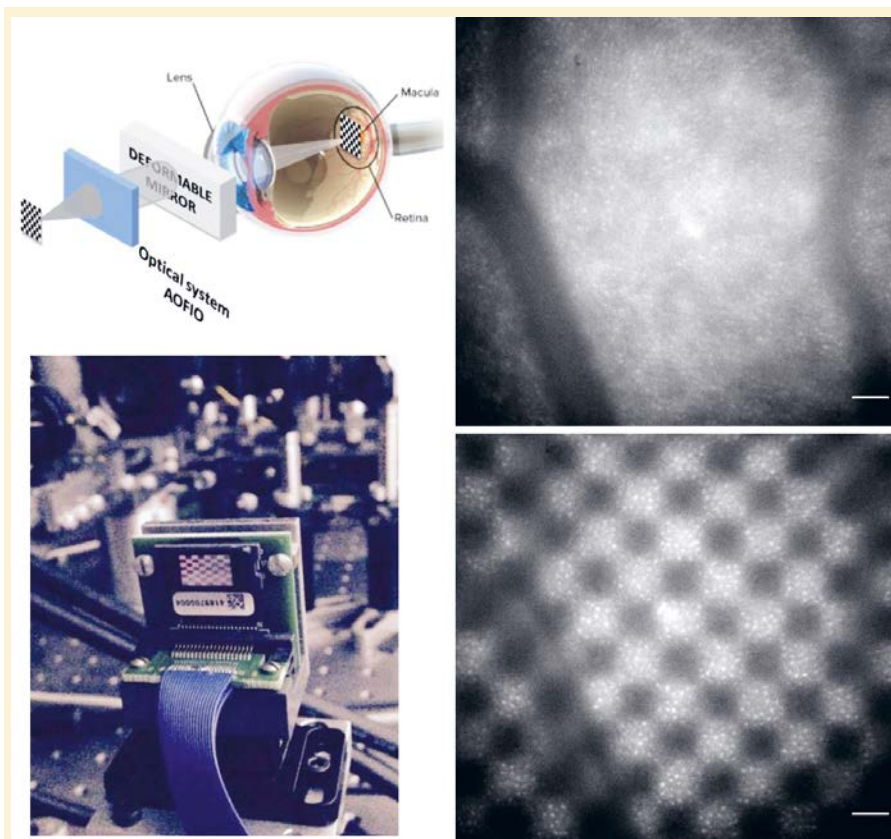


Figure 5. À gauche, schéma et photo de projection de damier par DMD (*digital micromirror device*). À droite : comparaison d'illumination classique en optique adaptative plein champ (haut) et illumination en damier (bas) ; notez l'augmentation de contraste sur les photorécepteurs grâce à l'effet confocal apporté par le damier.

l'amélioration de contraste et de sectionnement optique sont déjà visibles ici. En combinant cette image avec celle du damier opposé (en négatif), on peut reconstituer une image confocale, acquise avec une caméra, et donc exempte de toute distorsion.

Ces premiers résultats montrent qu'il est possible, grâce à une optique adaptative de haute performance et une illumination numérique, de combiner les avantages d'une détection confocale ou en champ sombre avec ceux d'une acquisition parallélisée (caméra) rapide et sans distorsion.

Vers le tout numérique

Et si, en plus de l'illumination, la correction des aberrations devenait elle aussi numérique ? C'est aujourd'hui possible en imagerie plein champ cohérente dite holographique. Ce mode d'imagerie permet l'acquisition de l'amplitude et de la phase du champ, et non seulement l'intensité comme en imagerie classique.

Il est alors possible de propager à volonté ce champ dans différents plans, et d'y appliquer des corrections de phase de façon similaire à ce que fait le miroir déformable [12]. Cette technique, que nous développons déjà à l'hôpital des 15-20 (Paris), pourrait s'imposer comme le nouveau standard en imagerie de la rétine, pourvu que les algorithmes de correction numérique des aberrations deviennent suffisamment rapides pour permettre une correction en temps réel. Les nouvelles techniques d'apprentissage profond (ou *deep learning*) par noyaux convolutifs sont une piste privilégiée pour atteindre cet objectif.

Motifs d'illumination binaires, correction de phase numérique, algorithmie innovante par réseaux de neurones ou noyaux convolutifs... la technologie ne freine plus les performances, le facteur limitant est aujourd'hui notre propre capacité à innover et à exploiter au mieux les possibilités qui s'offrent à nous. Et ces possibilités sont nombreuses, tant dans les modalités d'imagerie que dans les phénomènes à observer dans ce cerveau miniature sur lequel s'ouvrent nos pupilles !

POUR EN SAVOIR PLUS

- [1] Helga Kolb, How the retina works. *American Scientist* **91**, 28 (2008)
- [2] Liang, J., Williams, D.R. & Miller, D.T. Supernormal vision and high-resolution retinal imaging through adaptive optics. *J. Opt. Soc. Am. A* **14**, 2884–2892 (1997)
- [3] Roorda, A., & Williams, D.R. The arrangement of the three cone classes in the living human eye. *Nature* **397**, 520 (1999)
- [4] Roorda, A., Romero-Borja, F., Donnelly III, W.J., Queener, H., Hebert, T.J., & Campbell, M.C.W. Adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Opt. Express* **10**, 405 (2002)
- [5] Minsky, M. Microscopy apparatus confocal (1961)
- [6] Rossi, E.A., Granger, C.E., Sharma, R., Yang, Q., Saito, K., Schwarz, C., Walters, S., Nozato, K., Zhang, J., Kawakami, T., Fischer, W., Latchney, L.R., Hunter, J.J., Chung, M.M., & Williams, D.R. Imaging individual neurons in the retinal ganglion cell layer of the living eye. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **114**, 586 (2017)
- [7] Scoles, D., Sulai, Y.N., Langlo, C.S., Fishman, G.A., Curcio, C.A., Carroll, J., & Dubra, A. In vivo imaging of human cone photoreceptor inner segments. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **55**, 4244 (2014)
- [8] Bedgood, P., & Metha, A. Direct visualization and characterization of erythrocyte flow in human retinal capillaries. *Biomedical Optics Express* **3**, 3264 (2012)
- [9] Girouard, H., & Iadecola, C. Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and Alzheimer disease. *Journal of Applied Physiology* **100**, 328 (2006)
- [10] Gofas Salas *et al.* High loop rate adaptive optics flood illumination ophthalmoscope with structured illumination capability. *Applied Optics* 2018.
- [11] Chui, T.Y.P., Gast, T.J., & Burns, S.A. Imaging of vascular wall fine structures in the human retina using adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. **54**, 7115 (2013)
- [12] Hillmann, D., Spahr, H., Hain, C., Sudkamp, H., Franke, G., Pfäffle, C., & Hüttmann, G. Aberration-free volumetric high-speed imaging of in vivo retina. *Nature Scientific Reports* **6** (2016)