UNIVERSITE DE STRASBOURG

ECOLE DOCTORALE MATHEMATIQUES SCIENCES DE L'INFORMATION ET DE L'INGENIEUR

RESUME DE LA THESE DE DOCTORAT

Discipline : Automatique, signal, productique, robotique

Spécialité (facultative) :

Présentée par : VARIN Briséis
(Nom Prénom du candidat)

Titre : Biopsie optique des lésions cutanées par imagerie spectro-polarimétrique. Instrumentation et analyse de mesures in-vivo.

Unité de Recherche : Laboratoire des sciences de l'ingénieur, de l'information et de l'imagerie (UMR 7375)
(N° et Nom de l'Unité)

Directeur de Thèse : ZALLAT Jihad – Professeur des Universités
(Nom Prénom – Grade)

Co-Directeur de Thèse (s'il y a lieu) :
(Nom Prénom – Grade)

Localisation : 300 Bd Sébastien Brant, 67400 Illkirch-Graffenstaden

Thèse confidentielle : X NON ☐ OUI

1. Introduction

Le cancer de la peau est l'un des cancers les plus répandu. 90 000 nouveaux cas sont diagnostiqués chaque année en France. 1% de ces cancers sont des mélanomes et peuvent être très agressifs. Leur détection précoce est de prime importance puisqu'elle permet d'en guérir à plus de 99 % des cas [1]. En effet, un retard dans le diagnostic aboutit à des métastases et à une baisse de l'espérance de vie. De plus, Il est donc important de faciliter ce diagnostic et diminuer le nombre de biopsies à réaliser.

L'imagerie polarimétrique est une méthode intéressante pour différentes raisons :

1) Elle est non invasive et peut être utilisée in vivo.
2) La réponse polarimétrique des tissus dépend de leur nature : différents types de tissus auront une réponse en polarisation différente [2].
3) Les dispositifs d'aide au diagnostic ne sont pas chers et peuvent être déployés facilement.

Dans ce contexte, le laboratoire iCube et plus particulièrement l'équipe TRIO, a conçu un spectro-polarimètre de Mueller nommé POLARIS, pouvant imager les tissus ex-vivo. Les capacités de détection de cellules cancéreuses de l'instrument et son architecture ont été validées au cours d'une thèse précédente [3].

Le travail de cette thèse s'inscrit dans un projet d'aide au diagnostic du cancer de la peau, basé sur l'imagerie polarimétrique. Cette méthode, sensible à la nature des tissus et leur structure, fournit des informations supplémentaires par rapport à l'imagerie d'intensité classique. De plus, la possibilité de choisir les longueurs d'onde d'étude, et donc l'information spectrale de l'imagerie, nous donnent accès aux contrastes polarimétriques à différentes profondeurs de pénétration de la peau.

L'objectif de cette thèse est de construire un spectro-polarimètre de Mueller pouvant imager la peau in-vivo, puis d'en tester les capacités de diagnostic sur le petit animal et sur l'homme. Ici, nous utiliserons le formalisme de Stokes-Mueller, par lequel la polarisation d'un rayon lumineux est représentée par le vecteur de 4 éléments dit vecteur de Stokes $S = [S_1; S_2; S_3; S_4]^t$. La réponse polarimétrique d'un échantillon est quant à elle exprimée à l'aide d'une matrice 4x4 nommée matrice de Mueller M. Cette matrice correspond à la matrice de transformation entre un état polarimétrique incident S_{in} et un état polarimétrique sortant S_{out}.

2. Module optique : construction et fonctionnement

L'instrument optique construit au cours de ce travail est un spectro-polarimètre de Mueller, destiné à mesurer la matrice de Mueller d'un échantillon. Afin de pouvoir déterminer les 16 éléments de la matrice de Mueller, le polarimètre de Mueller génère 4 états de polarisation de sondage différents par le biais de son Polarization State Generator (PSG). Ces 4 états de polarisation sont connus et vont permettre de sonder l'échantillon. La lumière issue du PSG éclaire l'échantillon, interagit avec lui et est rediffusée versl'extérieur; cette lumière diffusée est ensuite analysée par le Polarization State Analyzer (PSA) qui lui aussi génère 4 états d'analyse de polarisation différents et connus. On obtient alors une image de luminance polarisée pour chacun de ces états de polarisation, soit 16 (4x4) en tout. Ces 16 images vont nous permettre de déterminer la matrice de Mueller de l'échantillon, via une équation matricielle linéaire.

Le prototype construit ici est basé sur l'utilisation de modulateurs à cristaux liquides LCVR (Liquid Crystal Variable Retarder). Ces composants ont la fâcheuse caractéristique d'être très sensibles aux variations de température. C'est pourquoi le prototype présente une architecture particulière pour son PSG et son PSA, qui permet de compenser la dérive en température liée aux LCVRs. Dans cette architecture, chaque LCVR est remplacé par un modulateur différentiel, composé de deux modulateurs à cristaux liquides dont les axes rapides sont positionnés à 90° l'un de l'autre. La matrice de Mueller d'un modulateur différentiel s'écrit comme :

$$L(\theta,\phi) = L(\theta,\phi_1).L\left(\theta+\frac{\pi}{2},\phi_2\right) = L(\theta,\phi_1-\phi_2)$$

Où $L(\theta,\phi)$ est la matrice de Mueller d'un retardeur linéaire d'angle θ et de retard ϕ. Ainsi, la réponse du modulateur différentiel est équivalente à celle d'un retardeur linéaire d'angle θ et dont le retard correspond à la différence des retards des deux cristaux liquides.

Le montage de deux prototypes (DERMAPOL-Vis et DERMAPOL-IR) de cet instrument construits lors de ce travail de thèse a nécessité plusieurs étapes. Il a tout d'abord fallu déterminer la réponse précise en tension de chaque LCVR, en déterminant leur courbe caractéristique $\phi = f(V,\lambda)$ [4-5]. Ensuite, chaque modulateur a été mis en place, puis inséré dans l'instrument. Enfin, une fois le prototype entièrement monté, le système optique dans son ensemble a été étalonné, à l'aide de la méthode Eigen-values Calibration Method (ECM) [6].

Lorsque l'instrument est prêt, les mesures sont effectuées via un programme Labview, qui permet la capture des 16 images nécessaires. Les données sont ensuite traitées sur Matlab, afin de déterminer la matrice de Mueller, en se basant sur les résultats issus de la calibration ECM. Une décomposition polaire, appelée la décomposition de Lu et Chipman [7], est appliquée à la matrice de Mueller et permet d'accéder

à plusieurs paramètres polarimétriques, tels que la dépolarisation, la retardance ou le dichroisme. Différentes routines de contrôle ont été mises en place lors des séances de mesures, pour contrôler la qualité de l'ECM réalisée, ainsi que celles des mesures.

3. Mesures sur le petit animal

L'instrument a fait l'objet d'études sur le petit animal visant à suivre le développement tumoral chez la souris. Ces études ont été réalisées en collaboration avec l'équipe de Dominique Bagnard de l'unité INSERM-U1119.

Une première étude a été réalisée sur 4 souris, une souris de type Black6 à poil noir et 3 souris de type Nude (sans poil et au système immunitaire déficient). Chaque souris a reçu une injection sous-cutanée de cellules de mélanome murin. Ces injections ont entrainé le développement de tumeurs pigmentées à la surface de la peau. Les sites d'injection ont fait l'objet d'une mesure au spectro-polarimètre de Mueller chaque jour jusqu'au sacrifice des souris. Au cours de cette première étude, il a été constaté que le développement du mélanome murin est accompagné d'une signature polarimétrique particulière : une baisse notable en dépolarisation. En revanche, ce type de tumeur est très pigmenté et très visible à l'œil nu et se développe rapidement ; nous n'avons donc pas pu établir si le signal polarimétrique est apparu avant que la tumeur ne soit visible à l'œil nu. Ces résultats ont conduit à la mise en place d'une seconde étude sur le petit animal. Cette seconde étude, de taille plus importante, a comporté 40 souris Nude, ayant toutes reçu une injection sous-cutanée de cellules de cancer de sein humain. Ces injections ont entrainé le développement de tumeurs non pigmentées à la surface de la peau, plus difficiles à repérer à l'œil nu pour les biologistes. Un protocole de traitement a été mis en place lors de cette étude : un groupe de 10 souris ont été traitées au Docetaxel dès qu'un signal polarimétrique pour la tumeur a été observé, un autre groupe de 10 souris a commencé le traitement au Docetaxel selon le protocole standard lorsque leurs tumeurs ont atteint 20mm3, le reste des souris a servi de témoin.

Au cours de cette étude, trois grands stades du développement tumoral ont été observés, chacun associé à un phénomène biologique différent et créant un signal polarimétrique spécifique. Ainsi, l'apparition de la tumeur et le début de son développement sont visualisés à l'aide d'une baisse de la dépolarisation. Puis, lorsque la tumeur grossit, elle devient visible grâce à la différence spectrale en dépolarisation. Enfin, lorsque la tumeur devient nécrotique, l'orientation du retard permet de l'observer. Par ailleurs, dans le premier stade, la baisse de dépolarisation à l'emplacement de la tumeur est accompagnée d'un halo de peau pour laquelle la dépolarisation est plus élevée. Ce phénomène permet un détourage plus facile de la tumeur. La grande étude a également permis d'étudier un autre avantage de l'appareil Dermapol : la détection précoce de la tumeur. Chez les souris ayant commencé leur traitement dès qu'un signal en dépolarisation a été observé, le développement tumoral a été stoppé dans son premier stade. La tumeur n'a pas beaucoup grossi, et une fois le traitement interrompu, le développement tumoral n'a pas repris. Au contraire, chez les souris traitées de la manière standard (lorsque la tumeur atteint un volume seuil mesuré au caliper), le développement a été ralenti, mais est bien passé par les trois stades : la tumeur est d'abord visible avec une baisse de la dépolarisation, puis elle impacte la différence spectrale en dépolarisation, enfin elle est visible avec l'orientation du retardeur. Lorsque le traitement a été interrompu chez ces souris, le volume tumoral a augmenté drastiquement, et de manière similaire aux souris non traitées.

4. Mesures sur l'homme

Le spectro-polarimètre de Mueller a fait l'objet d'un essai clinique réalisé en collaboration avec l'équipe de Dermatologie du Pr. Bernard Cribier, à l'Hôpital Civil de Strasbourg. Trente patients ont été inclus dans l'essai clinique. Tous présentaient différents types de lésions de la peau (notamment des carcinomes, kératoses, naevi et mélanomes), qui nécessitaient une biopsie. Dans le cadre de l'essai clinique, chaque lésion a été mesurée avec le spectro-polarimètre de Mueller, avant la biopsie dont les résultats nous ont été fournis ultérieurement.

L'analyse qualitative des réponses polarimétriques des trente lésions a tout d'abord montré que la peau saine autour des lésions présente la même réponse en polarisation pour tous les patients. En comparant les réponses des lésions cancéreuses (carcinomes et mélanomes) à celles des lésions non cancéreuses, une distinction des réponses est possible, sous la forme d'un arbre de possibilités. Cet arbre permet de distinguer si une lésion est cancéreuse ou non en fonction de sa réponse polarimétrique. Cette distinction de réponse est basée sur l'évolution du dichroïsme, de la retardance, de la dépolarisation, de l'orientation du retardeur et de l'orientation du dichroïque.

Par ailleurs, les deux mélanomes imagés dans le cadre de l'essai clinique présentent une signature polarimétrique particulière, qui ne se retrouve pas chez les autres lésions. En effet, ces deux lésions ne sont pas du tout visibles avec l'orientation du retardeur et l'orientation du dichroïque. Ainsi, une différenciation des mélanomes par rapport aux autres lésions est possible grâce à la polarisation.

Ces résultats encourageants appellent à la poursuite de l'essai clinique.

5. Conclusion

Lors de ce travail, un spectro-polarimètre de Mueller a été conçu pour l'aide au diagnostic du cancer de la peau. Son architecture permet des mesures sans calibration et sans dérive en température. L'appareil a permis des mesures sur le petit animal, pour suivre le développement tumoral, ainsi que sur l'homme au cours d'un essai clinique. Chez la souris, trois stades de développement tumoral ont été repérés avec la polarimétrie. Chez l'homme, une différenciation entre lésions cancéreuses et non cancéreuses est possible avec la réponse en polarimétrie. Une réponse polarimétrique spécifique au mélanome est également repérée dans cet essai clinique. Le travail réalisé au cours de cette thèse amène à plusieurs perspectives. Tout d'abord, au niveau de la prise de mesures : d'autres études sur le petit animal peuvent être envisagées ; et l'ajout de nouveaux patients et la prise de nouvelles mesures dans l'essai clinique semblent intéressant. Les autres perspectives concernent l'instrument, qui peut être amélioré, tant au niveau de la vitesse de mesure qu'au niveau de sa taille.

6. Bibliographie

[1] Institut national du cancer, *Panorama des cancers en France* (2021)
[2] N. Ghosh and A. I. Vitkin, "Tissue polarimetry: concepts, challenges, applications, and outlook," 16, 110801–110830 (2011).
[3] M. Karnoukian, *Imagerie spectro-polarimétrique : système, algorithmes et biopsie optique* [Université de Strasbourg] (2017)
[4] J. Zallat, M. Torzynski, A. Lallement, "Double-pass self-spectral-calibration of a polarization state analyzer", Optics Letters, 37(3) :401, 2012.
[5] J. M. López-Téllez, N. C. Bruce, "Stokes polarimetry using analysis of the nonlinear voltage-retardance relationship for liquid-crystal variable retarders", Review of Scientific Instruments, 85(3) :0-11, 2014.
[6] E. Compain, S. Poirier, and B. Drevillon, "General and self-consistent method for the calibration of polarization modulators, polarimeters, and Mueller-matrix ellipsometers," Appl. Opt. 38, 3490 (1999).
[7] S.-Y. Lu and R. A. Chipman, "Interpretation of Mueller matrices based on polar decomposition," J. Opt. Soc. Am. A 13, 1106 (1996).

7. Publications et communications

Communications:

- B. Varin, J. Rehbinder, J. Dellinger, C. Heinrich, J. Zallat, "Dermapol, an innovative spectro-polarimeter optical biopsy tool for real-time skin cancer diagnosis", in International Workshop on Biophotonics and Optical Angular Momentum (2018)
- J. Zallat, B. Varin, J. Rehbinder, J. Dellinger, C. Heinrich, D. Bagnard, and J. Schmidt, "The genesis of cancer: Monitoring of tumor progression by spectro-polarimetric imaging", in International Workshop on Biophotonics and Optical Angular Momentum (2018)
- B. Varin, J. Rehbinder, J. Dellinger, C. Heinrich, J. Schmidt, C. Spenlé, D. Bagnard, and J. Zallat, "Tumor growth monitoring using polarized light," in Novel Biophotonics Techniques and Applications V, A. Amelink and S. K. Nadkarni, eds. (SPIE, 2019), p. 27
- B. Varin, J. Dellinger, J. Rehbinder, C. Draman, M. P. Torzynski, C. Heinrich, and J. Zallat, "Ultra-stable spectropolarimeter for dermatology," in Advanced Biomedical and Clinical Diagnostic and Surgical Guidance Systems XVIII, A. Mahadevan-Jansen, ed. (SPIE, 2020), Vol. 11229, p. 26
- B. Varin, J. Rehbinder, J. Dellinger, C. Heinrich, J. Schmidt, C. Spenlé, D. Bagnard, J. Zallat, "Polarimetric monitoring of docetaxel treated tumors in murine models," Proc. SPIE 11363, Tissue Optics and Photonics, 1136305 (2 April 2020)

Publications:

- B. Varin, J. Rehbinder, J. Dellinger, C. Heinrich, M. Torzynski, C. Spenlé, D. Bagnard, J. Zallat, "Monitoring of subcutaneous tumors using Mueller polarimetry: study on mice" – En cours
- B. Varin, J. Rehbinder, J. Dellinger, C. Heinrich, J. Zallat, "Skin lesions diagnostic using Mueller polarimetry: a qualitative analysis" – En cours