

Université de Montréal

**Les dérivées de l'hémoglobine dans la structure
rétinienne par la technique de réflectométrie
multi-spectrale**

par

Valentina Vucea

Institut de génie biomédical, Université de Montréal

Faculté de Médecine

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures et postdoctorales

en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.)

en génie biomédical

janvier, 2013

© Valentina Vucea, 2013

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Cette thèse intitulée :
Les dérivées de l'hémoglobine dans la structure rétinienne par la technique
de réflectométrie multi-spectrale

Présentée par :
Valentina Vucea

A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Frédéric Lesage, président-rapporteur
Vasile Diaconu, directeur de recherche
Santiago Costantino, membre du jury
François Delori, examinateur externe
John Vincent Lovasik, représentant du doyen de la Faculté de médecine

Résumé

L'examen de la rétine par des moyens non invasifs et in vivo a été un objectif de recherche pendant plusieurs années. Pour l'œil comme pour tous les organes du corps humain, un apport soutenu en oxygène est nécessaire pour le maintien de l'homéostasie. La concentration en oxygène du sang des vaisseaux rétiniens peut être déterminée principalement à partir des mesures du spectre de réflexion du fond de l'œil. En envoyant une lumière, à différentes longueurs d'onde, sur la rétine et en analysant la nature de la lumière réfléchiée par la rétine, il est possible d'obtenir des informations quantitatives sur le niveau d'oxygène dans les vaisseaux sanguins de la rétine ou sur le flux sanguin. Cependant, la modélisation est compliquée due aux différentes interactions et aux chemins que la lumière prend à travers les tissus oculaires avant de quitter l'œil. L'objectif de cette thèse a été de développer et de valider un modèle mathématique afin de calculer les dérivées d'hémoglobine à partir de mesures spectrales de réflectométrie sur les vaisseaux sanguins de la rétine.

L'instrument utilisé pour mesurer la fonction spectrale de réflectométrie a été un spectroréflectomètre multi-canal, une technologie capable de mesurer in vivo et en continu 800 spectres simultanément. L'équation mathématique qui décrit la fonction spectrale de réflectométrie dans la zone spectrale de 480 nm à 650 nm a été exprimée comme la combinaison linéaire de plusieurs termes représentant les signatures spectrales de l'hémoglobine S_{Hb} , de l'oxyhémoglobine S_{OHB} , l'absorption et la diffusion des milieux

oculaires et une famille de fonctions multigaussiennes utilisées pour compenser l'incompatibilité du modèle et les données expérimentales dans la zone rouge du spectre.

Les résultats du modèle révèlent que le signal spectral obtenu à partir de mesures de réflectométrie dans l'œil est complexe, contenant la lumière absorbée, réfléchi et diffusée, mais chacun avec une certaine prédominance spécifique en fonction de la zone spectrale. La fonction spectrale d'absorption du sang est dominante dans la zone spectrale 520 à 580 nm, tandis que dans la zone spectrale de longueurs d'ondes plus grandes que 590 nm, la diffusion sur les cellules rouges du sang est dominante.

Le modèle a été utilisé afin de mesurer la concentration d'oxygène dans les capillaires de la tête du nerf optique suite à un effort physique dynamique. L'effort physique a entraîné une réduction de la concentration d'oxygène dans les capillaires, ainsi qu'une réduction de la pression intraoculaire, tandis que la saturation sanguine en oxygène, mesurée au niveau du doigt, restait constante.

Le modèle mathématique développé dans ce projet a ainsi permis, avec la technique novatrice de spectroréflectométrie multicanal, de déterminer *in vivo* et d'une manière non invasive l'oxygénation sanguine des vaisseaux rétiens.

Mots-clés : spectrophotométrie, oxymétrie, modélisation, concentration d'oxygène, vaisseaux sanguins rétiens, hémoglobine, oxyhémoglobine

Abstract

In vivo retinal exams done through non-invasive methods have been an objective for researchers these past years. The eye, just like any other organ in the human body, has a constant need of oxygen in order to maintain homeostasis. The concentration of oxygen present in the retinal blood vessels can be determined mainly by measurements of spectral reflections of the fundus.

By sending rays of light at different wavelengths on the retina and analyzing the nature of the reflected light, it is possible to obtain quantitative information on the level of oxygen found in the blood vessels of the retina. However, the establishment of a model is complicated due to the different interactions and pathways taken by the light when passing through the different ocular tissues before leaving the eye. The objective of this thesis has been to develop and validate a mathematical model that calculates the derivatives of haemoglobins by using spectral measurements of reflectometry on the retinal blood vessels.

The instrument used to measure the spectral function of reflectometry was a multichannel spectroreflectometer, a technology capable of measuring continuously and simultaneously 800 spectral in vivo. The mathematical equation describing the spectral function of reflectometry in the spectral zone ranging from 480 nm to 650 nm, has been formulated to include the linear combination of multiple terms representing the spectral signatures of haemoglobin S_{Hb} , the oxyhaemoglobin S_{OHB} , the absorption and diffusion of

ocular media, and a family of multigaussian functions used to compensate the incompatibility of the model and the experimental results in the red zone of the spectral.

The results of the model reveal that the spectral signal obtained by the measurements of reflectometry in the eye are complex, such as light absorption, reflection and diffusion, but that each has a specific predominance depending on the spectral zone. The spectral function describing blood absorption is dominant in the 520 to 580 nm spectral zone, whereas diffusion on red blood cells is dominant in the spectral zone containing higher wavelengths starting at 590 nm.

The model was used to measure the concentration of oxygen in the microcapillaries found in the optic nerve head following a dynamic physical effort. The physical effort caused a reduction in the concentration of oxygen in the microcapillaries and a reduction of the intraocular eye pressure, whereas the blood saturation of oxygen measured in the finger remained constant.

The mathematical model developed in this project, combined with the innovative technique of multichannel spectrometry, allowed to determine in a non-invasive in-vivo method, the oxygenation of the retinal blood vessels.

Keywords: spectrophotometry, oximeter, model, oxygen concentration, retinal blood vessels, haemoglobin, oxyhaemoglobin

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	v
Table des matières	vii
Table des figures	xii
Table des tableaux.....	xix
Introduction	1
Chapitre 1. Contexte et revue de littérature	3
1.1. Œil	3
1.2. Anatomie de l'œil	4
1.3. Sang	8
1.4. Vascularisation oculaire	9
1.4.1. Vascularisation rétinienne	11
1.4.2. Vascularisation choroïdienne	14
1.5. Flux sanguin rétinien et choroïdien	16
1.5.1. Régulation du flux sanguin rétinien et choroïdien.....	17

Chapitre 2. Contexte et revue de littérature	26
2.1. Réflectométrie du fond d'œil	26
2.2. Modèles optiques des couches de fond de l'œil	28
2.2.1. Modèle simple	29
2.2.2. Modèle Van Norren et Tiemeijer.....	30
2.2.3. Modèle Delori et Pflibsen.....	32
2.2.4. Modèle van de Kraats.....	34
2.2.5. Modèle Hammer et Schweitzer.....	36
2.3. Application de la réflectométrie de fond de l'œil	38
2.3.1. Oxymétrie de la rétine	38
2.3.2. Oxygénation sanguine.....	39
2.4. Méthodes de mesure d'oxygénation sanguine in vivo	41
2.4.1. Technique de Hickam.....	42
2.4.2. Technique Pittman et Duling	44
2.4.3. Technique de Delori	45
2.4.4. Technique de Schweitzer	46
2.4.5. Technique de Smith.....	49

2.4.6. Technique de Yoneya.....	51
2.4.7. Technique de Beach.....	51
2.4.8. Technique de Stefansson.....	54
2.4.9. Technique de Johnson	54
2.4.10. Technique de Ramella-Roman	55
2.4.11. Technique de Diaconu.....	56
2.5. Sélection des longueurs d'onde.....	58
Chapitre 3. Problématique et but de l'étude	63
3.1. Problématique.....	63
3.2. Objectifs de l'étude	64
3.3. Hypothèses de recherche	65
Chapitre 4. Spectrorélectromètre multicanal et modèle mathématique	67
4.1. Spectrorélectromètre multicanal	67
4.2. Modèle mathématique initial	74
Chapitre 5. Méthodologie	79
5.1. Expérience et résultats préliminaires	79
5.1.1. Modèle mathématique initial	79

5.1.2. Application du modèle initial pour expliquer la fonction de réflectométrie des artères et des veines.....	81
5.2. Application du modèle mathématique sur un signal théorique.....	87
5.2.1. Construction du signal théorique	87
5.3. Influence d'un bruit sur le calcul de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.....	90
5.3.1. Bruit de l'appareil.....	91
5.3.2. Bruit aléatoire	97
5.3.3. Influence d'un signal supplémentaire ajouté au signal de réflectométrie sur le calcul de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine	102
5.3.4. Détection et la récupération du signal supplémentaire	111
5.4. Influence de l'absorption du milieu oculaire sur le calcul de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.	115
5.5. Données expérimentales et modèles mathématiques	124
5.6. Fiabilité du modèle en conditions expérimentales	135
5.6.1. Oxygénation des vaisseaux sanguins de la rétine en condition de normoxie et d'hypoxie.....	135

Chapitre 6. Article I : Blood oxygenation measurements by multichannel reflectometry on the venous and arterial structures of the retina.	160
6.1. Contribution	186
Chapitre 7. Article II: Optic Nerve Head Capillaries Blood Oxygenation Following Dynamic Exercise in Human	187
7.1. Contribution	213
Chapitre 8. Conclusion et perspectives.....	215
Bibliographie	221

Table des figures

Figure 1. Anatomie de l'œil.	6
Figure 2. Vascularisation artérielle de l'œil.	10
Figure 3. Vascularisation de l'œil.	12
Figure 4. Région maculaire de la rétine.	13
Figure 5. Vascularisation veineuse de l'œil.....	14
Figure 6. Représentation schématique des couches du fond d'œil.....	29
Figure 7. Modèle de réflexion de fond de l'œil proposé par Van Norren	31
Figure 8. Modèle de réflexion de fond de l'œil proposé par Delori et Pflibsen.	33
Figure 9. Modèle de réflexion de fond de l'œil proposé par van de Kraats. ...	35
Figure 10. Coefficients d'extinction: hémoglobine (Hb) et oxyhémoglobine (HbO ₂).	40
Figure 11. Spectrorélectomètre multicanal.....	68
Figure 12. Schéma de la lumière envoyée et réfléchi par le fond de l'œil. ...	71
Figure 13. Image du fond de l'œil.....	71

Figure 14. Spectre d'absorption du fond de l'œil mesuré avec le spectroreflectometre multi-canal.....	73
Figure 15. Composantes de l'œil.....	75
Figure 16. Image du fond d'oeil.....	82
Figure 17. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et la fonction spectrale de réflectométrie des capillaires du nerf optique pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.....	83
Figure 18. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et la fonction spectrale de réflectométrie de l'artère pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.....	84
Figure 19. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et la fonction spectrale de réflectométrie de la veine pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.....	85
Figure 20. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 19) pour la zone spectrale de 450nm à 650nm...	92
Figure 21. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 19) pour la zone spectrale de 450nm à 650nm...	93
Figure 22. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 19) pour la zone spectrale de 450nm à 650nm...	94

Figure 23. Relation entre la valeur de χ^2 et le pourcentage d'erreur de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.	96
Figure 24. Relation entre le coefficient de corrélation et le pourcentage d'erreur de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.	96
Figure 25. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 20) pour la zone spectrale de 450nm à 650nm...	98
Figure 26. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 20) pour la zone spectrale de 450nm à 650nm...	99
Figure 27. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 20) pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.	100
Figure 28. Relation entre la valeur de χ^2 et le pourcentage d'erreur de concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.	101
Figure 29. Relation entre le coefficient de corrélation et le pourcentage d'erreur de concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.	101
Figure 30. Pourcentages des erreurs de concentration d'oxyhémoglobine et d'hémoglobine en fonction de la position spectrale du bruit gaussien.	105
Figure 31. Valeur de χ^2 , désignant la qualité d'ajustement entre le modèle (équation 13) et le signal théorique (équation 21), en fonction de la position spectrale du bruit gaussien.	106

Figure 32. Coefficient de corrélation, désignant la qualité d'ajustement entre le modèle (équation 13) et le signal théorique (équation 21), en fonction de la position spectrale du bruit gaussien.....	107
Figure 33. Ajustement, pour la zone spectrale de 450nm à 650nm, entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 21) ayant le bruit gaussien introduit à la longueur d'onde 550nm.	108
Figure 34. Relation entre le coefficient de corrélation du modèle - signal théorique et le pourcentage d'erreur de concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.	109
Figure 35. Relation entre la valeur de χ^2 du modèle - signal théorique et le pourcentage d'erreur de concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.	109
Figure 36. Exemple d'un bruit supplémentaire introduit dans le signal théorique (équation 22) et retrouvé par le nouveau modèle mathématique (équation 23).....	113
Figure 37. Exemple d'un bruit supplémentaire introduit dans le signal théorique (équation 22) et retrouvé par le nouveau modèle mathématique (équation 23).....	113
Figure 38. Exemple d'un bruit supplémentaire introduit dans le signal théorique (équation 22) et retrouvé par le nouveau modèle mathématique (équation 23).....	114

Figure 40. Ajustement, pour la zone spectrale de 450nm à 650nm, entre le modèle mathématique (équation 23) et le signal théorique (équation 20) ayant l'absorption - diffusion du milieu oculaire plus petite que celle réelle. 117

Figure 41. Ajustement, pour la zone spectrale de 450nm à 650nm, entre le modèle mathématique (équation 23) et le signal théorique (équation 20) ayant l'absorption - diffusion du milieu oculaire plus grande que celle réelle.
..... 118

Figure 42. Ajustement, pour la zone spectrale de 450nm à 650nm, entre le modèle mathématique (équation 23) et le signal théorique (équation 20) ayant la même absorption - diffusion du milieu oculaire que celle réelle. ... 119

Figure 43. Ajustement, pour la zone spectrale de 450nm à 650nm, entre le modèle mathématique (équation 23) et le signal théorique (équation 20) ayant une absorption - diffusion du milieu oculaire différente de celle réelle.
..... 122

Figure 44. Ajustement, pour la zone spectrale de 450nm à 650nm, entre le modèle mathématique (équation 23) et le signal théorique (équation 20) ayant la même absorption - diffusion du milieu oculaire que celle réelle. ... 123

Figure 45. Ajustement entre le modèle mathématique initial (équation 13) et la fonction spectrale de réflectométrie des capillaires du nerf optique pour la zone spectrale de 450nm à 650nm. 127

Figure 46. Ajustement entre le nouveau modèle mathématique (équation 23) et la fonction spectrale de réflectométrie des capillaires du nerf optique pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.	128
Figure 47. Ajustement entre le modèle mathématique initial (équation 13) et la fonction spectrale de réflectométrie de l'artère pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.	129
Figure 48. Ajustement entre le nouveau modèle mathématique (équation 23) et la fonction spectrale de réflectométrie de l'artère pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.	130
Figure 49. Ajustement entre le modèle mathématique initial (équation 13) et la fonction spectrale de réflectométrie de la veine pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.	131
Figure 50. Ajustement entre le nouveau modèle mathématique (équation 23) et la fonction spectrale de réflectométrie de l'artère pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.	132
Figure 51. Enregistrement en continu de la concentration d'oxyhémoglobine de l'artère, des capillaires et de la veine pendant 30 secondes.	139
Figure 52. Exemple d'un enregistrement continu de la variation d'oxyhémoglobine, dans l'artère de la rétine, due au changement de la concentration d'oxygène du gaz respiré par le sujet :	146

Figure 53. Exemple d'un enregistrement continu de la variation d'oxyhémoglobine, dans les capillaires de la région du nerf optique, due au changement de la concentration d'oxygène du gaz respiré par le sujet :.....	147
Figure 54. Exemple d'un enregistrement continu de la variation d'oxyhémoglobine, dans la veine de la rétine, due au changement de la concentration d'oxygène du gaz respiré par le sujet :	148
Figure 55. Oxygénation de l'artère de la rétine en condition d'hypoxie et de normoxie pour chaque sujet.....	156
Figure 56. Oxygénation des capillaires du nerf optique en conditions d'hypoxie et de normoxie pour chaque sujet.....	157
Figure 57. Oxygénation de la veine de la rétine en conditions d'hypoxie et de normoxie pour chaque sujet.....	158

Table des tableaux

Tableau 1. Valeurs moyennes des mesures d'oxygénation sur l'artère, les capillaires du nerf optique et la veine.....	140
Tableau 2. Valeurs moyennes des mesures d'oxygénation dans l'artère de la rétine, valeurs moyennes des mesures d'oxygénation systémique et valeurs moyennes des mesures de rythme cardiaque, en condition d'hypoxie pour chaque sujet.....	149
Tableau 3. Valeurs moyennes des mesures d'oxygénation des capillaires de la rétine, valeurs moyennes des mesures d'oxygénation systémique et valeurs moyennes des mesures de rythme cardiaque, en condition d'hypoxie pour chaque sujet.	150
Tableau 4. Valeurs moyennes des mesures d'oxygénation de la veine de la rétine, valeurs moyennes des mesures d'oxygénation systémique et valeurs moyennes des mesures de rythme cardiaque, en condition d'hypoxie pour chaque sujet.....	151
Tableau 5. Valeurs moyennes et écarts-types des mesures d'oxygénation dans l'artère, les capillaires et la veine de la rétine, en condition d'hypoxie pour chaque sujet.	155

Introduction

Ce projet doctoral a vu le jour dans le but de développer une technique permettant de déterminer l'oxygénation sanguine des vaisseaux rétiniens de l'œil. Le déroulement de ce projet s'est effectué en plusieurs étapes qui seront abordées dans les prochains chapitres.

Les deux premiers chapitres présentent le cadre théorique relié au projet. Ils mettent en contexte les différents thèmes associés et nécessaires à la compréhension de cette étude. Ce projet a tout d'abord nécessité une connaissance de l'anatomie oculaire ainsi que des facteurs qui induisent des changements d'oxygénation sanguine au niveau des vaisseaux du fond de l'œil. Subséquemment, le premier chapitre traite l'anatomie de l'œil avec ses principales composantes ainsi que la vascularisation oculaire, plus précisément la vascularisation rétinienne et choroïdienne. Ce cadre théorique, présenté dans le Chapitre 1, a permis de définir la problématique reliée à l'oxygénation sanguine des vaisseaux du fond de l'œil. Le Chapitre 2 présente des méthodes, basées sur des modèles de réflexion du fond de l'œil, pour mesurer l'oxygénation sanguine des vaisseaux rétiniens. Les avantages et les désavantages des modèles du fond de l'œil ainsi que les technologies utilisées pour prendre des mesures d'oxygénation de manière non invasive, ont été décrits au deuxième chapitre afin de définir les limitations de ceux-ci. Ceci a eu pour but de mettre en contexte l'étude afin de comprendre la problématique qui en découle et qui a été décrite au troisième chapitre. Le Chapitre 3 présente donc de manière détaillée

la problématique, les objectifs ainsi que les hypothèses de recherche reliées à ce projet. Les hypothèses ont été fondées en lien avec une technologie novatrice, la spectrorélectrométrie multicanal, qui a été identifiée dans le cadre de ce projet comme ayant un potentiel de mesure. Le chapitre 4 présente cette nouvelle technologie, capable de mesurer *in vivo* et en temps réel l'oxygénation sanguine des vaisseaux rétiniens. Également, le modèle mathématique, développé par Diaconu (Diaconu, 2009) et utilisé initialement dans cette étude, est présenté dans ce chapitre. Le Chapitre 5 présente la méthodologie, incluant les résultats des mesures de validation faites pour arriver à l'article. Les résultats de ce projet ont été ensuite présentés sous la forme de deux articles scientifiques. Le premier article a été présenté au Chapitre 6 et porte sur la modélisation de la fonction de spectrorélectrométrie pour les vaisseaux sanguins de l'œil. Le deuxième article a été présenté au Chapitre 7 et porte sur l'utilisation de ce nouveau modèle afin de mesurer les effets d'un effort physique dynamique sur la concentration d'oxygène dans les capillaires de la tête du nerf optique. Le Chapitre 8 présente la conclusion générale qui découle de ces deux articles, les perspectives et les recommandations reliées à ce projet doctoral.

Chapitre 1. Contexte et revue de littérature

1.1. Œil

L'œil est l'organe de la vision qui nous permet de voir, dans différentes conditions d'illumination, la couleur et, avec une précision suffisante les objets environnants.

Généralement, l'œil est un organe bien adapté pour faire une analyse spectrale du tissu qui le compose. La nature du tissu de l'œil permet à la lumière de parcourir le chemin de la cornée à la rétine, où la lumière est détectée par les bâtonnets et les cônes, produisant ainsi des impulsions électriques qui circulent au long du nerf optique et qui sont utilisés par le cerveau pour développer des images. Avec une telle fenêtre transparente, la couche rétinienne et spécialement les vaisseaux sanguins rétiniens sont facilement étudiés.

Ce chapitre présente une brève introduction de l'anatomie de l'œil en soulignant la vascularisation oculaire, particulièrement au niveau de la rétine et choroïde. Également, le flux sanguin rétinien et choroïdien sont discutés, ainsi que leurs régulations afin de maintenir une certaine homéostasie.

1.2. Anatomie de l'œil

L'œil humain ressemble à une petite sphère d'un diamètre d'environ 2,5 cm, d'une masse d'environ 7 grammes et d'un volume d'approximativement $6,5 \text{ cm}^3$ (Pulido, 2005). La sclérotique est la couche externe de l'œil. Elle recouvre environ les cinq sixième de la surface de l'œil, est une enveloppe de protection et donne à l'œil sa couleur blanche et sa rigidité. La sclérotique est tapissée dans la partie postérieure du globe oculaire par une couche connue sous le nom de la choroïde. La choroïde est une couche de couleur noire qui absorbe les rayons lumineux inutiles pour la vision. Elle contient un réseau de vaisseaux sanguins qui nourrit les photorécepteurs de la rétine. À l'avant de l'œil, la structure de la choroïde devient plus épaisse et plus compliquée et elle est appelée le corps ciliaire (Pulido, 2005). Une autre couche, après la choroïde, en allant de l'extérieur vers l'intérieur, est la rétine. Elle est la couche sensible à la lumière grâce aux photorécepteurs et sa fonction est de transformer la lumière en impulsions électriques qui sont transmises au cerveau par le nerf optique. La rétine possède deux types de photorécepteurs, les cônes et les bâtonnets.

La rétine contient environ 130 millions de bâtonnets et ces derniers sont distribués principalement à la périphérie de celle-ci, étant absents de la région fovéale. Ils ont une très grande sensibilité à la lumière, mais ils ont une très faible perception des détails et des couleurs car plusieurs bâtonnets sont liés à une seule fibre du nerf optique. Quand la lumière frappe les molécules de rhodopsine (la substance chimique qui est contenue dans les bâtonnets), celles-

ci génèrent un faible courant électrique qui est transmis aux cellules nerveuses de la rétine et ensuite au cerveau.

Le nombre des cônes est d'environ 5 à 7 million et ils sont distribués dans la partie centrale de la rétine, plus précisément dans la région maculaire. Le centre de la macula, la fovéa, est d'approximativement 0,3 mm et contient approximativement 115 000 cônes (Bali, et al., 2012). La sensibilité des cônes à la lumière est très faible mais la perception des détails est très grande. Premièrement, il y a une densité élevée de cônes dans la fovéa et deuxièmement, chaque cône de la fovéa transmet son information à plusieurs fibres du nerf optique. Après l'absorption de la lumière, le photopigment (un pigment) dans les cellules photoréceptrices subit une transduction, c'est-à-dire, un ensemble de phénomènes physiques et biochimiques qui engendrent des modifications de la polarisation membranaire. Les molécules de photopigments qui changent de conformation produisent des signaux électrophysiologiques. Ces signaux sont menés au cerveau où l'image est interprétée. Cette activité est très exigeante en énergie et en nutriments étant donné que les cellules photoréceptrices ont le plus haut taux métabolique des cellules dans le corps (Rodieck, 2003). Également, les cônes ont une très bonne sensibilité aux ondes lumineuses de longueurs d'onde différentes (aux couleurs). Il y a trois types de cônes selon le pigment qu'ils contiennent : cônes contenant de l'erythropsine (sensibles au rouge), de la chloropsine (sensibles au vert) et de la cyanopsine (sensibles au bleu).

La cornée est la partie externe de l'œil. C'est une membrane de 11 mm de diamètre et très solide malgré son épaisseur de 500 à 700 microns (Bali, et al., 2012). Elle est transparente, par conséquent, en la traversant la lumière entre a l'intérieur de l'œil. La cornée est très sensible dû à la présence de fibres nerveuses et elle est privée des vaisseaux sanguins, étant nourrie par un liquide, l'humeur aqueuse.

La cornée est la principale lentille de l'œil, assurant environ 80% de la réfraction. Ses principales fonctions sont la protection de l'œil contre les microorganismes, la transmission et la réfraction de la lumière.

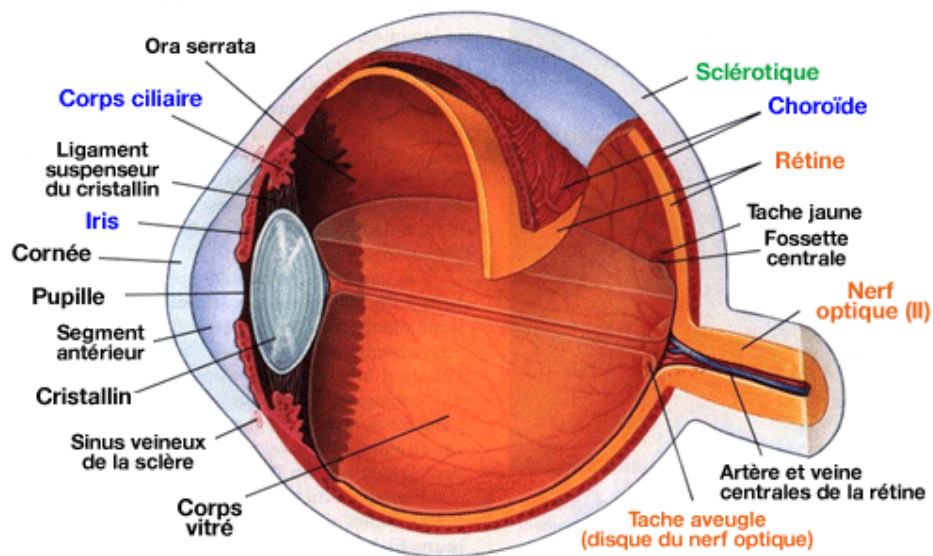


Figure 1. Anatomie de l'œil.

Dessin d'après Bali (Bali, et al., 2012)

La partie colorée de l'œil nommée l'iris est un disque musculaire avec une ouverture centrée appelée la pupille. Il s'agit du diaphragme de l'œil qui fait varier l'ouverture de la pupille entre 2,5 et 7 mm afin de modifier la quantité de lumière qui pénètre dans l'œil (Pulido, 2005). La couleur de l'iris est déterminée par la présence d'un pigment, la mélanine.

Derrière l'iris se trouve le cristallin, fixé dans le corps ciliaire de la choroïde. Le cristallin est une lentille biconvexe composée de fines couches transparentes superposées. Il se déforme sous l'action du muscle ciliaire. La fonction du cristallin est de faire varier la puissance de l'œil.

En schématisant, l'œil comprend trois espaces : la chambre antérieure, comprise entre la cornée et l'iris, la chambre postérieure, communiquant avec la précédente par la pupille, comprise entre l'iris et le cristallin et la chambre vitrée comprise entre le cristallin et la rétine. Les chambres antérieure et postérieure représentent 9% du volume du globe oculaire et contiennent un liquide, l'humeur aqueuse (Pulido, 2005). La chambre vitrée occupe plus des deux tiers du globe oculaire et contient l'humeur vitré ou corps vitré, une substance gélatineuse translucide. Le corps vitré contribue à la pression intraoculaire et ainsi a la forme de l'œil.

1.3. Sang

L'oxygène contenu dans l'air que nous respirons est essentiel au maintien du métabolisme cellulaire et biochimique. Sa distribution continue, dans tous les organes, est primordiale et est assurée par le sang. C'est grâce à l'hémoglobine du globule rouge que le sang peut acheminer l'oxygène pour répondre à la demande métabolique de l'organisme.

Chez l'humain, le sang est composé de diverses cellules en suspension dans le plasma. Il y a trois sortes de cellules sanguines, chacune ayant une fonction particulière. Les érythrocytes (globules rouges) ont pour fonction de transporter l'oxygène, grâce à l'hémoglobine qu'ils contiennent, afin de répondre à la demande métabolique de l'organisme. Les leucocytes (globules blancs) ont une fonction immunitaire, protégeant l'organisme en produisant des anticorps et en éliminant les déchets et les corps étranger par phagocytose. Les thrombocytes (plaquettes) jouent un rôle au niveau de la coagulation sanguine (Widmair, et al., 2006).

Chaque cellule de l'organisme dispose d'un ensemble de processus chimiques intrinsèques nécessaires au maintien de son homéostasie. À cet effet, les substances essentielles comme l'oxygène, les glucides, les protéines, les lipides, l'eau et les hormones doivent être transportées vers chaque cellule et les déchets métaboliques comme le gaz carbonique et les composés azotés doivent être éliminés. Le transport de ces substances est réalisé par un système en circuit formé de vaisseaux sanguins appelé système vasculaire.

Pour cette étude, nous nous contentons seulement de parler de système vasculaire au niveau de l'œil.

1.4. Vascularisation oculaire

Pour bien comprendre les résultats de cette étude, il est intéressant de faire un petit rappel sur la physiologie des vaisseaux sanguins oculaires, notamment la vascularisation rétinienne et celle choroïdienne.

De nombreuses espèces vivantes possèdent un double approvisionnement sanguin de leur organe visuel. L'œil humain partage cette conformation en adoptant une circulation rétinienne et uvéale afin de subvenir aux besoins de la rétine. Par exemple, pour la même masse de tissu, les besoins métaboliques de la rétine sont environ sept fois ceux du cerveau et les plus élevés de tous les tissus de l'organisme (Pulido, 2005).

Pour approvisionner l'œil en oxygène, le tronc brachio-céphalique donne naissance à l'artère carotide commune, qui se divise pour aller vers l'artère carotide interne, puis à l'artère ophtalmique (Bill & Sperber, 1990), (Marieb, 2005). L'artère ophtalmique assure la totalité de l'irrigation de l'œil et de ses annexes chez la majorité des sujets. Celle-ci se détache de la face antérieure de la carotide après avoir franchi le sinus caverneux, puis pénètre le canal optique sous le nerf optique, Figure 2.

L'artère ophtalmique se divise ensuite en différentes branches (Marieb, 2005),
Figure 2 :

- Branche oculaire :
 - artères du nerf optique ;
 - artère centrale de la rétine ;
 - artères ciliaires postérieures courtes et longues.
- Branche orbitaire :
 - artères lacrymales ;
 - artères musculaires.
- Branche extra-orbitaire :
 - artères ethmoïdales antérieure et postérieure ;
 - artère sus-orbitaire ;
 - artère palpébrale.

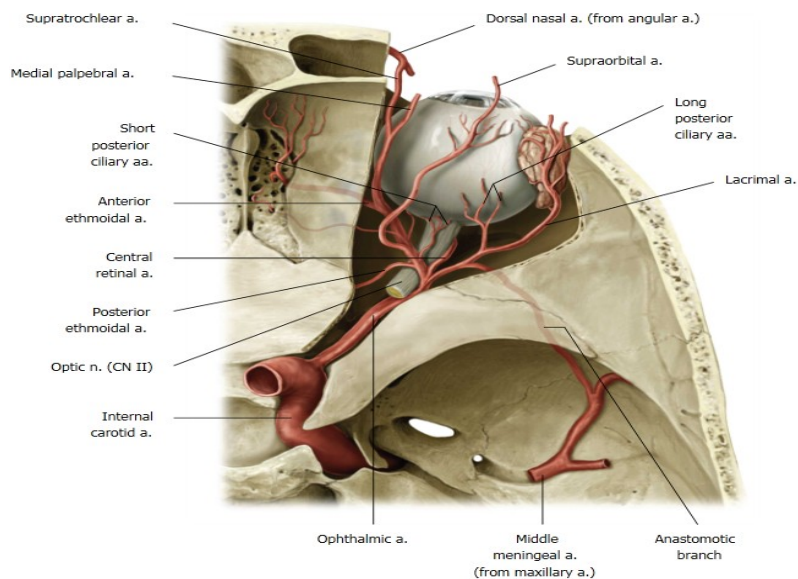


Figure 2. Vascularisation artérielle de l'œil.

Dessin d'après Beslimane. (Beslimane, 2010)

L'apport en oxygène de la rétine est assuré :

- pour les couches ganglionnaires par les vaisseaux rétiniens (vascularisation rétinienne)
- pour la couche pigmentée et la couche neuro-épithéliale (couche des photorécepteurs) par les choriocapillaires (vascularisation choroïdienne).

1.4.1.Vascularisation rétinienne

La circulation rétinienne est constituée d'artères et de veines qui peuvent être observées lors de l'examen du fond d'œil à l'ophtalmoscope. L'artère centrale de la rétine, branche de l'artère ophtalmique, fournit le sang à la rétine et la veine centrale de la rétine draine la rétine.

L'artère centrale de la rétine entre dans le nerf optique approximativement 12 mm derrière le globe oculaire. De façon typique, elle se divise en deux branches principales inférieure et supérieure, qui se subdivisent chacune en une branche temporale et une branche nasale. Après sa première division, le réseau de l'artère centrale de la rétine devient un réseau artériolaire, à cause de l'absence de membrane élastique. Ensuite, ceux-ci se ramifient dans une trame dense de capillaires (Scholfield, et al., 2007). Le réseau capillaire rétinien, Figure 3, nourrit le deux tiers de la rétine, c'est-à-dire la partie interne de la rétine, composée des cellules ganglionnaires et bipolaires, alors que les photorécepteurs sont avasculaires.

Les artères et les veines de la rétine sont situées dans la couche de fibres nerveuses. La densité des capillaires est plus élevée dans la partie centrale de la rétine, où trois à quatre couches sont formées, et devient inférieure à la périphérie, où il existe qu'une seule couche (Scholfield, et al., 2007).

À la macula, une petite région de la rétine de 5,5 mm, les couches de la rétine sont repoussées sur le côté pour permettre une vision maximale, Figure 4.

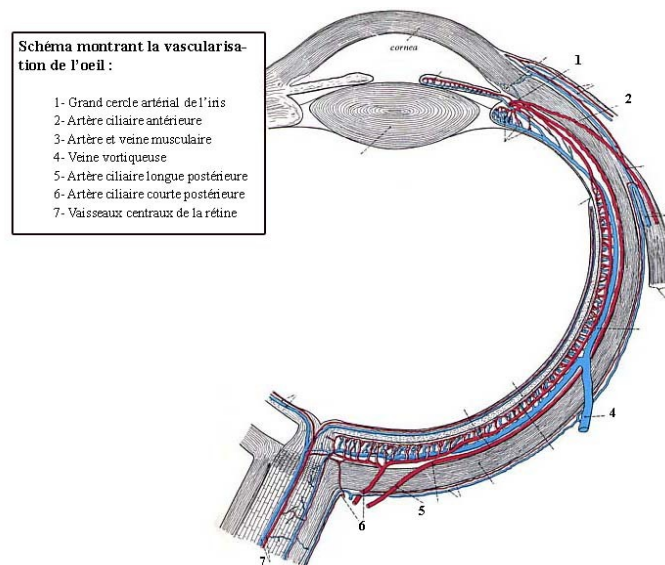


Figure 3. Vascularisation de l'œil.

Dessin d'après Marboeuf (Marboeuf, 2008).

Il n'y a aucun vaisseau sanguin qui traverse la macula. Les artères rétiniennes, des branches temporales inférieure et supérieure, convergent vers le centre de la macula, mais laissent le centre avasculaire, qui est nourri exclusivement par la choriocapillaire (Marieb, 2005).

Généralement, les capillaires sont perméables dans tout l'organisme, ce qui permet à de grosses molécules et à certaines cellules sanguines de les traverser. Cependant, les cellules endothéliales des capillaires de la circulation rétinienne sont connectées afin que rien ne passe entre elles. Ces spécialisations cellulaires s'appellent jonctions serrées. De cette façon, les capillaires rétiens forment une partie de la barrière hémato-rétinienne. Des capillaires identiques sont présents dans le cerveau, où ils contribuent à la barrière hémato-cérébrale (Rodieck, 2003).

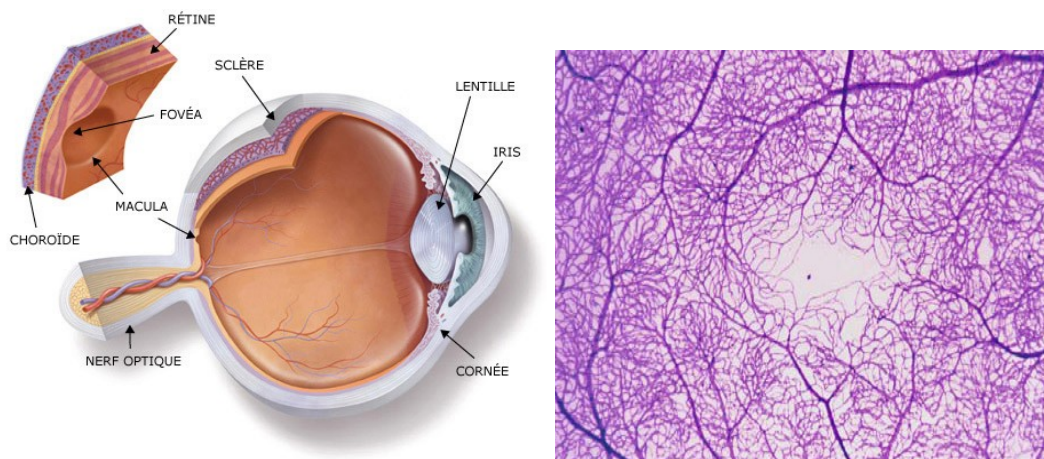


Figure 4. Région maculaire de la rétine.

Dessin d'après Beslimane (Beslimane, 2010)

Habituellement, les veines rétiennes se rejoignent au niveau de la papille optique pour former la veine centrale de la rétine. Ensuite, la veine centrale de la rétine se draine dans la veine ophtalmique supérieure, Figure 5.

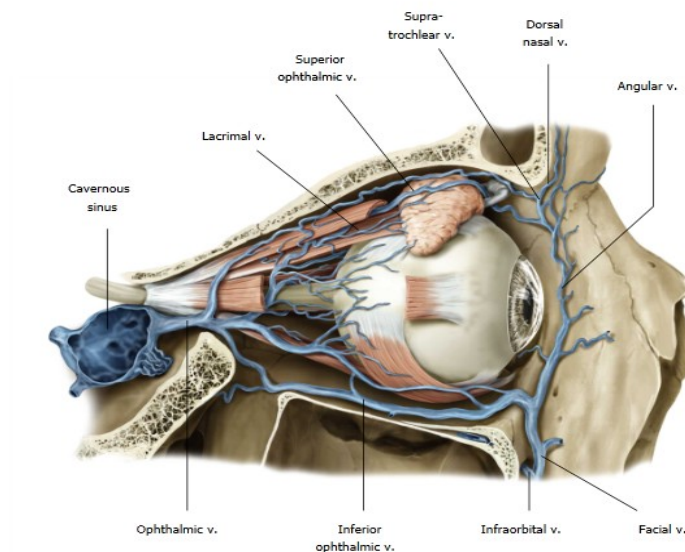


Figure 5. Vascularisation veineuse de l'œil.

Dessin d'après Beslimane (Beslimane, 2010)

1.4.2. Vascularisation choroïdienne

La circulation choroïdienne représente la deuxième voie d'apport d'oxygène à la rétine. La choroïde est un tissu épais de 0,5 à 0,75 mm rempli de vaisseaux sanguins qui nourrissent la rétine externe (les photorécepteurs). La vascularisation choroïdienne fait partie du système vasculaire uvéal qui nourrit également l'iris et le corps ciliaire. Alors que la circulation rétinienne est réalisée par une artère et une veine rétinienne qui traversent le nerf optique, les artères et les veines de la circulation uvéale traversent la sclérotique, Figure 3. Les deux

artères ciliaires postérieures se divisent en plusieurs artères ciliaires postérieures courtes et longues. La choroïde antérieure est irriguée par les artères ciliaires postérieures longues, tandis que la choroïde postérieure est irriguée par les artères ciliaires postérieures courtes (Rodieck, 2003).

On distingue trois couches de vaisseaux choroïdiens : la plus profonde comprend des gros vaisseaux de 30 à 60 μm , la couche centrale contient des vaisseaux moyens et la couche des choriocapillaires, qui est la plus interne, contient un réseau de capillaires d'environ 10 à 20 μm de diamètre (Smith, 2004). Les capillaires de la choroïde sont composés d'un endothélium et d'une membrane basale, et sont fenêtrées sur leur face interne (contre l'épithélium pigmentaire de la rétine), c'est-à-dire que leur endothélium possède des espaces permettant de faire passer facilement de grosses molécules. Selon Bill et Sperber (Bill & Sperber, 1990), la conformation du lit capillaire est structurée de manière à maximiser les échanges métaboliques avec l'épithélium pigmentaire de la rétine. De plus, les capillaires choroïdiens ont un arrangement lobulaire et une densité plus importante à la macula par rapport à la périphérie, où l'organisation des capillaires est triangulaire, probablement en raison des besoins métaboliques élevés de la zone centrale fovéolaire (Pulido, 2005).

Quatre à sept veines vortiqueuses drainent les veines choroïdiennes qui se drainent à leur tour dans la veine ophtalmique et le sinus caverneux Figure 5.

1.5. Flux sanguin rétinien et choroïdien

Les artéριοles rétiniennes et choroïdiennes sont composées d'une couche endothéliale longitudinale et d'une couche simple circulaire de cellules musculaires. Cependant, la circulation rétinienne et la circulation choroïdienne se distinguent par leur flux sanguin et par leur régulation.

Le débit sanguin rétinien est caractérisé par un faible taux de perfusion (environ 40-80 μ l/min), une haute résistance vasculaire, une haute extraction de l'oxygène et, en conséquence, une haute extraction artéριο-veineuse en oxygène (35-40%). En revanche, la choroïde montre le plus haut taux de perfusion par gramme de tissu de tous les lits vasculaires du corps humain (environ 1200-2000 μ l/min), une faible résistance vasculaire, une faible extraction d'oxygène donc une faible extraction artéριο-veineuse en oxygène (3-5%) (Joussen, et al., 2007).

En principe, pour un lit vasculaire, la pression de perfusion est la différence entre les pressions artéριοelle et veineuse. Cependant, la situation dans l'œil est particulière, parce que dans l'équation d'équilibre des pressions entre aussi la pression intraoculaire. En conséquence, pour la circulation sanguine dans l'œil, on parle de la pression de perfusion oculaire.

Il est généralement admis que la rétine ne contient pas d'innervation autonome et qu'elle est fortement autoréglée par des mécanismes métaboliques et myogéniques. Par contre, la choroïde, à cause de sa forte innervation, ne peut être considérée comme autoréglée. Toutefois, elle est capable de s'adapter

face à certains changements métaboliques ou de pression de perfusion (Scholfield, et al., 2007).

1.5.1.Régulation du flux sanguin rétinien et choroïdien

Maintien de l'homéostasie.

Les méthodes d'investigation de la régulation du flux sanguin rétinien ou choroïdien se basent soit sur des modifications de la pression de perfusion induites par une hausse de la pression intraoculaire ou par des exercices physiques, soit par des changements métaboliques induits par la variation de luminance ou par la concentration d'oxygène respiré.

L'autorégulation se définit comme la capacité d'un organe à maintenir un flux sanguin constant malgré les changements de perfusion oculaire, ou encore d'ajuster le débit sanguin à la demande métabolique du tissu (Jean-Louis, et al., 2005)(Jean-Louis *et al.*, 2005).

L'autorégulation joue un rôle important dans le fonctionnement de la rétine, car la rétine à une demande constante en oxygène. Ainsi, l'autorégulation assure l'oxygène adéquat pour la rétine lors des changements physiologiques dans la pression de perfusion oculaire (Joussen, et al., 2007).

Pour la rétine, le mécanisme d'autorégulation peut être facilement mis en évidence car, en comparaison avec d'autres lits vasculaires, le réseau vasculaire de la rétine manque d'innervation autonome (Widmair, et al., 2006).

Les phénomènes d'autorégulation sont étudiés soit au cours d'une diminution de la pression de perfusion, soit au cours d'une augmentation de celle-ci.

Une diminution de la pression de perfusion oculaire est normalement induite par un dispositif expérimental, réalisé avec des ventouses, qui permet l'augmentation de la pression intraoculaire. Parallèlement, cela conduit à une diminution de la pression de perfusion oculaire car la pression intraoculaire est presque égale à la pression dans les veines de la rétine (Riva, et al., 1986). En utilisant cette technique, Riva (Riva, et al., 1986) a démontré l'efficacité de l'autorégulation par une adaptation de la résistance vasculaire de la rétine face à la diminution de la pression de perfusion.

Une augmentation de la pression de perfusion peut être réalisée, soit par une diminution de la pression intraoculaire effectuée comme dans l'expérience précédente après la libération des ventouses, soit pendant un exercice isométrique. Comme en témoigne l'étude de Robinson (Robinson, et al., 1986), au cours de l'exercice isométrique, la rétine montre une certaine capacité d'autorégulation lorsque la pression artérielle atteint 100-110 mmHg. Également, dans son étude, Yu (Yu & Cringle, 2005) montre qu'une variation de la pression de perfusion provoque une modification de la pression partielle d'oxygène dans les tissus rétiniens (si la pression artérielle systémique est augmentée, la pression d'oxygène s'élève dans la rétine). Aussi, Riva (Riva, et al., 2005) note une augmentation du débit sanguin rétinien lors d'une augmentation de pression de perfusion, mais pour ses expériences, il a utilisé comme stimulus un flicker bleu, qui provoque une réponse (augmentation de flux

rétinien) même en luminosité normale. Cependant, pour Bill (Bill & Sperber, 1990) et Forcier (Forcier, et al., 1998), le flux rétinien reste relativement constant malgré une hausse de la pression de perfusion.(Bill and Sperber, 1990;Forcier *et al.*, 1998)

Un autre aspect important de la régulation de flux sanguin dans la rétine est la dépendance de l'oxygénation sanguine avec l'illumination rétinienne.

À l'obscurité, le flux rétinien augmente (Riva, et al., 2005), (Yamamoto & Steinberg, 1992), (Yancey & Linsenmeier, 1989), (Yu & Cringle, 2005), mais cette élévation est également trouvée dans les expériences faisant intervenir un flicker bleu (par effet stroboscopique), qui ne présente pas une illumination constante (Garhofer, et al., 2004), (Scheiner, et al., 1994). Par contre, en lumière vive continue, le flux rétinien diminue (Bill & Sperber, 1990). La lumière provoque une baisse de la consommation d'oxygène dans le segment interne des photorécepteurs, ce qui augmente significativement la tension en oxygène (Cringle, et al., 1999).

De nombreuses études rapportent des changements de la taille des vaisseaux avec des variations de concentration en oxygène, et pour certains auteurs, ce fait est une preuve de régulation (Bill & Sperber, 1990) (Kergoat & Lovasik, 1995).

En situation d'hyperoxie, Yu et Cringle (Cringle, et al., 1999) ont observé une vasoconstriction des vaisseaux de la rétine et une diminution du flux sanguin rétinien. En se basant sur le fait que cette situation n'affecte pas la réponse des photorécepteurs, la majorité des auteurs s'accordent à dire que ce phénomène

de compensation sert à maintenir une oxygénation rétinienne constante (Kergoat & Durand, 1996), (Kergoat & Tinjust, 2004), (Delaey & Van de Voorde, 2000), (Jean-Louis, et al., 2005).

Par contre, l'ajout d'une quantité de monoxyde de carbone (CO), même minime, au gaz de respiration provoque une dilatation des vaisseaux et une augmentation du flux rétinien. Ainsi, Resch (Resch, et al., 2005) et Yu (Yu & Cringle, 2005) suggèrent que le CO empêche le mécanisme régulateur de vasoconstriction. D'après Bill (Bill & Sperber, 1990), une hypoxie, même faible, provoque une dilatation des vaisseaux rétiniens et peut provoquer une dérégulation de la réponse neurale visible avec des électrorétinogrammes (Kergoat, et al., 2006)(Kergoat *et al.*, 2006).

La rétine présente une autorégulation marquée pour maintenir son débit sanguin. Par exemple, à l'obscurité, la consommation des photorécepteurs est augmentée et l'oxygénation dans leur segment externe décroît (Yu & Cringle, 2005), (Cringle, et al., 1999). Certains pensent que l'oxygène requis est alors fourni par la choroïde qui jouerait un rôle de réservoir (Delaey & Van de Voorde, 2000), tandis que d'autres suggèrent un changement vers un métabolisme plus oxydatif à la place du mécanisme de consommation d'oxygène normal (Winkler & Giblin, 1983).

Les métabolites qui sont potentiellement impliqués dans la réponse vasomotrice des vaisseaux sont nombreux et souvent difficiles à isoler.

Les concentrations de lactate (Garhofer, et al., 2002), de calcium intracellulaire (Ca^{2+}) (Scholfield, et al., 2007), ou de potassium (K^+) (Yancey & Linsenmeier,

1989), (Scholfield, et al., 2007) peuvent réguler la constriction des vaisseaux rétiniens. Un autre métabolite important, reconnu comme un puissant vasodilatateur, est l'oxyde nitrique (NO) (Riva, et al., 2005), mais son effet n'a pas été démontré dans toutes les études (Delaey & Van de Voorde, 2000). Il existe également de nombreux autres métabolites ayant un effet apparent, mais dont l'action n'a pu être clairement établie : angiotensine II, endothéline-1 (ET-1), vasopressine, dopamine, prostaglandine (Delaey & Van de Voorde, 2000), (Riva, et al., 2005), (Scholfield, et al., 2007). Pourtant, les études sur le cerveau ont montré que les métabolites n'avaient qu'une influence limitée pour moduler le flux sanguin, ce qui suggère que dans la rétine également, la régulation métabolique ne représente pas le mécanisme primaire de régulation (Scheiner, et al., 1994).

Bien que la vascularisation rétinienne n'ait pas d'innervation sympathique, une hypothèse récente suggère qu'un mécanisme neural puisse intervenir directement sur ces vaisseaux. La vasoconstriction rapide lors d'une modulation d'oxygénation, avec une période de recouvrement plus longue, a amené certains auteurs à considérer un mécanisme neural (Jean-Louis, et al., 2005), notamment via les cellules gliales (Scholfield, et al., 2007) ou les astrocytes (Pellerin & Magistretti, 1994).

La choroïde présente aussi une régulation, qui a été évaluée par des méthodes semblables, mais son contrôle, et surtout ses mécanismes, sont beaucoup plus controversés.

D'abord, aucune étude ne note une augmentation du débit sanguin choroïdien lorsque la luminance est accrue. Toutefois, lorsque l'éclairement est diminué jusqu'à l'obscurité, des résultats contradictoires sont observés avec le même appareil de mesure. Longo (Longo, et al., 2000) et Huemer (Huemer, et al., 2007) notent une diminution du flux sanguin à l'obscurité. Selon eux, le débit sanguin subirait un double mécanisme de régulation. Premièrement, il augmenterait pour compenser une consommation accrue des photorécepteurs et deuxièmement, il diminuerait dû à la baisse de chaleur dans la choroïde, ainsi que ce dernier mécanisme prédominerait. Cette théorie pourrait être confirmée par le fait que l'extraction d'oxygène est très faible et qu'une variation de métabolisme dans la rétine est seulement supportée par la vascularisation rétinienne (Garhofer, et al., 2002). À l'opposé, d'autres études ont démontré que la choroïde jouait un rôle indispensable dans la nutrition de la rétine externe et que la concentration en oxygène choroïdienne devait être maintenue approximativement constante pour nourrir les photorécepteurs adéquatement (Kergoat & Faucher, 1999). De plus, en diminuant la luminosité sur un seul œil, celle-ci provoque une diminution du débit sanguin dans les deux yeux. D'après Huemer (Huemer, et al., 2007), ces observations démontrent qu'un mécanisme neural intervient dans la régulation du flux sanguin.

Par contre, Lovasik (Lovasik, et al., 2005) montre une diminution du flux sanguin à la lumière et non à l'obscurité, mais l'amplitude du changement n'est pas la même, dépendamment si la transition s'effectue de la lumière à l'obscurité ou l'inverse. Pour expliquer les résultats, l'auteur formule l'hypothèse que la fovéa,

comportant majoritairement des cônes, et la périphérie riche en bâtonnets ont un métabolisme différent. Ainsi, lorsque la luminance augmente, la périphérie serait plus activée et le débit sanguin diminuerait à la fovéa pour être redirigé vers les bâtonnets. Le phénomène inverse se produirait à l'obscurité.

Afin d'observer des changements dans la choroïde, des sujets ont été soumis aux situations d'hypoxie et d'hyperoxie. La respiration d'un gaz pauvre en oxygène (hypoxie) augmente le rythme cardiaque, mais la composante pulsatile du débit sanguin reste inchangée (Kergoat, et al., 2005). Ainsi, le fait qu'une situation de stress hypoxique ne change pas les paramètres au niveau oculaire, mais augmente le rythme de la circulation cardiaque, correspond à un mécanisme global de compensation pour augmenter ou maintenir le flux sanguin au niveau de l'œil (Kergoat, et al., 2006). Lorsqu'on utilise un gaz saturé en oxygène (hyperoxie), globalement, le débit sanguin choroïdien diminue, mais les études montrent très peu de changement, voire même aucune variation (Geiser, et al., 2000). D'autres articles évoquent l'hypothèse que les modifications dans choroïde dues à un gaz se fassent en altérant la résistance des vaisseaux, donc par leur diamètre (Kergoat & Faucher, 1999).

De nombreuses études ont exploré le métabolisme de la choroïde après un changement de perfusion causé par une augmentation du rythme cardiaque suite à un exercice. Généralement, lors d'une augmentation de la pression de perfusion oculaire, le débit sanguin augmente de manière linéaire, proportionnellement à la pression de perfusion (Bill & Sperber, 1990). Cependant, les études les plus récentes ont montré que le flux sanguin

augmentait beaucoup moins que la pression de perfusion oculaire. Le fait qu'il soit possible d'observer une dissociation entre le flux sanguin et la perfusion démontre qu'un mécanisme actif de régulation maintient le débit sanguin proche de sa valeur de base (Kiss, et al., 2001).

Une autre technique de modification de la pression de perfusion a été de faire varier la pression intraoculaire. Ainsi, Longo (Longo, et al., 2004) remarque une relation linéaire entre l'augmentation de la pression intraoculaire et le débit sanguin chez l'humain, ce qui est interprété comme une réaction passive de la choroïde. Cependant, Friedman (Friedman, 1970) retrouve une dissociation entre le flux sanguin et la pression de perfusion, qui correspondrait à une régulation active (Friedman, 1970).

De nombreux auteurs pensent que le système nerveux autonome, notamment le système sympathique, est impliqué dans le phénomène de régulation. L'anatomie de la choroïde est en accord avec cette hypothèse car les terminaisons nerveuses sympathiques sont nombreuses dans la choroïde (Lutien-Drecoll, 2006). Polska (Polska, et al., 2007) suggère, lui aussi, un mécanisme neural de régulation qui aurait pour but de protéger la choroïde d'une trop grande perfusion. Il n'exclut cependant pas la possibilité qu'un mécanisme métabolique ou hormonal soit associé à ce phénomène. Pourtant, Kiel (Kiel & Shepherd, 1992) ne croit pas au réflexe neural. Dans son étude, il montre que la pression artérielle et le flux sanguin ne coïncident pas: le flux sanguin diminue bien après que la pression artérielle ait commencé à chuter.

Comme mentionné auparavant, il est difficile d'évaluer et de relier les causes aux effets et de dire exactement ce qui se passe.

En conclusion, il est maintenant généralement admis que la rétine et la choroïde possèdent une certaine capacité de régulation afin de maintenir l'homéostasie des tissus rétinien. Les capacités de régulation rétinienne sont majoritairement myogéniques et métaboliques, même si certains auteurs évoquent une hypothèse neurale. À l'inverse, la choroïde est probablement contrôlée plus par une adaptation neurale et métabolique que myogénique, mais les mécanismes exacts du maintien du débit sanguin sont encore mal connus et toujours débattus. Néanmoins, on peut supposer qu'une altération de la circulation sanguine dans l'œil aura une répercussion dans l'apport en oxygène de la rétine.

Chapitre 2. Contexte et revue de littérature

2.1. Réflectométrie du fond d'œil

Dans les dernières années, de nombreux groupes ont travaillé sur des algorithmes et des instruments destinés à mesurer l'oxygénation sanguine de la rétine.

Des méthodes basées sur des techniques spectrophotométriques, couplées avec la technique de la photographie, de la détection électro-optique ou de l'imagerie numérique, ont été déjà proposées dans la littérature, afin d'évaluer la concentration d'oxygène du sang dans les vaisseaux rétiniens. Également, des méthodes utilisant la phosphorescence et la résonance magnétique ont été développées pour surveiller l'oxygénation sanguine.

La plupart de ces méthodes utilisent une caméra de fond d'œil pour accéder aux yeux en éclairant la rétine à différentes longueurs d'onde. Quand un signal lumineux est envoyé dans un milieu, ce signal se propage selon les lois de propagation du milieu étudié et lorsqu'il rencontre une discontinuité, la lumière est absorbée, réfléchi et diffusée.

Mathématiquement cette interaction de la lumière avec le milieu est décrite par la loi de Lambert-Beer.

$$I(\lambda) = I_0(\lambda) * 10^{-\epsilon * d * c} \quad (1)$$

où, I – l'intensité de la lumière transmise par le milieu, I_0 – l'intensité de la lumière incidente, ε – le coefficient spécifique d'extinction, d – l'épaisseur du milieu, c – concentration du milieu, λ – longueur d'onde.

Selon cette équation, la lumière à travers le milieu diminue logarithmiquement avec la densité et le coefficient d'extinction du milieu, ainsi qu'avec la longueur du chemin optique de la lumière.

D'habitude, pour déterminer l'oxygénation sanguine, la lumière transmise ou la lumière réfléchie par le tissu à étudier sera analysée. À cause de l'anatomie de l'œil, il est impossible d'utiliser la lumière transmise afin de déterminer la saturation en oxygène du sang dans les vaisseaux rétiniens. Dans ce cas, puisqu'une fraction importante de la lumière incidente est réfléchie par les tissus du fond de l'œil, cette lumière réfléchie sera utilisée pour estimer l'oxygénation sanguine.

La structure en couches de l'œil ainsi que l'absorption et la dispersion de ces composantes rendent difficile les mesures de l'oxygénation sanguine. Plus précisément, la lumière réfléchie par l'œil est composée de la lumière réfléchie par une multitude de différentes couches, y compris la lumière réfléchie par les parois des vaisseaux et par les cellules sanguines.

Par conséquent, une compréhension de la structure de la rétine est importante pour réaliser une bonne étude. De plus, comme la longueur d'onde de la lumière d'éclairage change en fonction de l'appareil utilisé, cette lumière pénètre à des profondeurs différentes tout au long de la rétine.

En conclusion, pour connaître la concentration en oxygène du sang dans les vaisseaux rétinien, il est important d'avoir un modèle de fond de l'œil incluant les propriétés optiques de chaque structure de l'œil.

2.2. Modèles optiques des couches de fond de l'œil

Ce qui suit sera un bref aperçu sur les modèles de fond de l'œil développés dans la littérature et qui ont été utilisés pour estimer l'oxygénation sanguine des vaisseaux sanguins de l'œil.

La transparence de l'œil humain permet d'analyser le fond de l'œil en utilisant des ondes électromagnétiques du domaine visible et proche infrarouge. Un grand nombre de techniques de réflectométrie ont été développées au cours des dernières décennies. Toutes ces techniques ont à la base un modèle mathématique de la propagation de la lumière dans l'œil. Pour tous les modèles, la rétine est composée de plusieurs couches avec différentes propriétés d'absorption, de réflexion et de diffusion. La Figure 6 donne un aperçu schématique des composantes de la rétine.

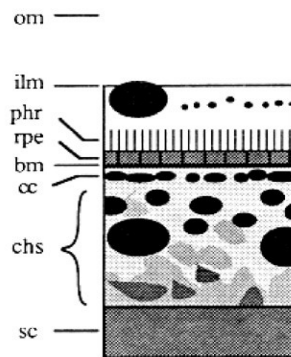


Figure 6. Représentation schématique des couches du fond d'œil.

om – milieux oculaires, ilm – membrane limitante interne, phr- photorécepteurs, rpe – épithélium pigmentaire, bm – membrane de Bruch, cc – choriocapillaires, chs – choroïde, sc – sclera.

Dessin d'après Delori (Delori & Pflibsen, 1989).

2.2.1. Modèle simple

Dans le plus simple modèle de réflexion de fond d'œil, la lumière incidente est transmise par les couches de la rétine et de la choroïde et est réfléchiée par la sclérotique, où ensuite elle est retransmise par la choroïde et la rétine.

Ainsi, la lumière réfléchiée par le fond d'œil est donnée par relation 2 (Berendschot, et al., 2003) :

$$R(\lambda) = R_{sclera}(\lambda) * 10^{-D_{totale}(\lambda)} \quad (2)$$

où $R_{sclera}(\lambda)$ est la réflexion par la sclérotique et $D_{totale}(\lambda)$ est la densité optique totale de toutes les couches absorbantes.

Toutefois, ce modèle ne peut pas être appliqué pour des mesures dans n'importe quelle région de l'œil car, à l'exception de la zone du nerf optique, la lumière incidente passe aussi par les photorécepteurs. Ainsi, pour introduire dans le modèle l'influence du photopigment visuel contenu dans les photorécepteurs, ceci a été déterminé in vivo, en comparant la lumière réfléchie par le fond d'œil quand les photorécepteurs ont été adaptés à la lumière, $R_{blanchie}$, et ensuite adaptés au noir, R_{noir} (Liem, et al., 1996). La densité du pigment visuel était donnée par relation 3 (Liem, et al., 1996).

$$D_{pv}(\lambda) = 0.5 \log \frac{R_{blanchie}(\lambda)}{R_{noir}(\lambda)} \quad (3)$$

Ainsi, la densité optique totale a été modifiée en additionnant la densité de pigment visuel $D_{pv}(\lambda)$.

2.2.2. Modèle Van Norren et Tiemeijer.

Le modèle de base de la réflexion de fond d'œil a été développé pour la région de la fovéa et a été proposé par van Norren et Tiemeijer (van Norren & Tiemeijer, 1986). Dans leur modèle, ils ont considéré quatre couches qui absorbent la lumière : le cristallin, le pigment maculaire, la mélanine et le sang, ainsi que deux couches qui reflètent la lumière : la sclérotique et une couche située antérieurement à l'épithélium pigmentaire. La Figure 6 montre le parcours

de la lumière dans l'œil pour le modèle de van Norren et Tiemeijer. La lumière pénètre dans l'œil, où elle est réfléchiée et absorbée par les différentes couches de l'œil, Figure 7. Ensuite, la lumière réfléchiée est détectée par l'instrument.

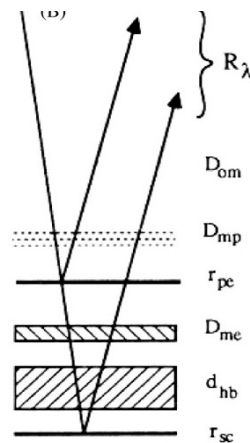


Figure 7. Modèle de réflexion de fond de l'œil proposé par Van Norren

D - la densité optique : des milieux oculaires (D_{om}), du pigment maculaire (D_{mp}) et de la mélanine (D_{me}) ; r - la réflectivité de la sclérotique (r_{sc}) et de l'épithélium pigmentaire (r_{pe}), et d - l'épaisseur de la couche de sang (d_{hb}).

Dessin d'après van Norren et Tiemeijet (van Norren & Tiemeijer, 1986)

L'absorption par le pigment visuel a été ignorée. De plus, la densité du pigment maculaire a été obtenue en supposant que la différence de réflectivité du fond d'œil pour la région fovéale et la région du nerf optique est due à la présence du pigment maculaire (van Norren & Tiemeijer, 1986).

Ils ont testé leur modèle pour 14 longueurs d'onde, avec un densitomètre Utrecht, dans 3 régions de la rétine : fovéa, nerf optique et 12° temporal (van Norren & Tiemeijer, 1986). Mathématiquement, ce modèle a été réduit à un

système de 14 équations avec 5 inconnues. Cependant, dans le modèle de van Norren et Tiemeijer, l'absorption du sang et de la mélanine a été très accentuée tandis que l'absorption ou la réflexion des autres couches ont été négligées (Berendschot, et al., 2003).

2.2.3. Modèle Delori et Pflibsen

Delori et Pflibsen (Delori & Pflibsen, 1989) ont modifié le modèle de van Norren et Tiemeijer par l'introduction de la réflexion et la diffusion des autres éléments du fond d'œil. Leur modèle comportait une sclérotique qui réfléchit la lumière, une choroïde caractérisée par une absorption et une dispersion, un épithélium pigmentaire caractérisé par une absorption et un réflecteur spectral neutre situé antérieurement aux photorécepteurs, Figure 8. Également, ce modèle a inclus l'absorption du pigment maculaire ainsi que la diffusion et l'absorption du milieu oculaire (Delori & Pflibsen, 1989).

La couche de choroïde a été décrite mathématiquement par l'équation de Kubelka-Munk (Kortum, 1969) et caractérisée par une diffusion homogène, dans laquelle le sang et la mélanine sont uniformément réparties. La réflexion de la membrane limitant interne et de la couche de fibres nerveuse n'a pas été explicitement incluse dans le modèle. À ce stade, leur modèle avait 12 paramètres.

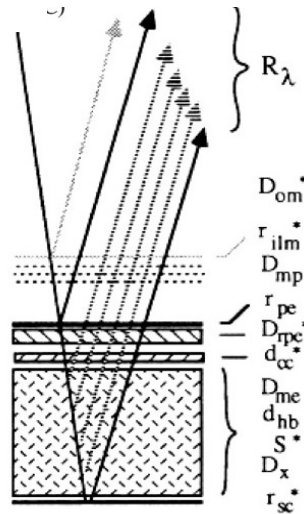


Figure 8. Modèle de réflexion de fond de l'œil proposé par Delori et Pflibsen.

D - la densité optique : des milieux oculaires (D_{om}), du pigment maculaire (D_{mp}), d'épithélium pigmentaire (D_{rpe}) et de mélanine (D_{me}) ; r - la réflectivité de sclérotique (r_{sc}), d'épithélium pigmentaire (r_{pe}) et de la membrane limitant interne (r_{ilm}), d - l'épaisseur de la couche de sang (d_{hb}) et (d_{cc}) et S - la diffusion tissulaire.

Dessin d'après Delori (Delori & Pflibsen, 1989).

Pour diminuer le nombre des variables du modèle, ils ont considéré plusieurs paramètres constants et d'autres ont été considérés équivalents pour toutes les régions de la rétine, malgré son inhomogénéité. Ainsi, l'épaisseur de la choroïde et de la couche de choriocapillaires, également, la diffusion du milieu oculaire et la réflexion de la sclérotique, ont été maintenus constants. La densité optique du cristalline, autant que la diffusion tissulaire, étaient égaux pour toutes les régions de fond de l'œil. Subséquemment, la densité de la mélanine et du sang, la

réflexion de l'épithélium pigmentaire et l'absorption de la choroïde ont été optimisés avec la méthode χ^2 (Delori & Pflibsen, 1989).

La comparaison entre le modèle théorique de fond d'œil et les données expérimentales a été réalisée à partir des mesures de réflexion de fond d'œil, prises à l'aide d'un rétinographe, dans la région fovéale, nasale et à $2,5^\circ$ de la fovéa (Delori & Pflibsen, 1989).

Les données obtenues pour la mélanine et le sang, avec la description de la choroïde avec l'équation de Kubelka-Munk (Kortum, 1969), sont plus réalistes de point de vue physiologique que celles obtenues avec le modèle de van Norren et Tiemeijer. Une version modifiée de ce modèle a été utilisée pour expliquer la fonction de réflectométrie pour le disque du nerf optique (Delori & Pflibsen, 1989).

2.2.4. Modèle van de Kraats

Dans les modèles décrits antérieurement, l'influence du pigment visuel et l'orientation des photorécepteurs par rapport à la lumière incidente ont été négligés. Van de Kraats (van de Kraats, et al., 1996) a développé un modèle de réflexion de fond d'œil pour la région fovéale qui peut expliquer simultanément ces deux derniers effets. Dans leur modèle, Figure 9, les principales couches de l'œil qui réfléchissent la lumière sont la membrane limitant interne, le segment externe des cônes et la sclérotique et celles qui absorbent sont les milieux

oculaires, le pigment maculaire et la choroïde constitué de sang et de mélanine (van de Kraats, et al., 1996).

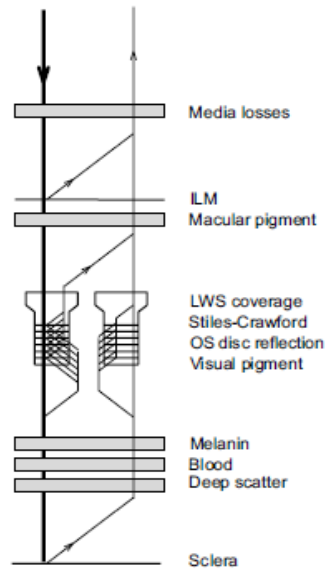


Figure 9. Modèle de réflexion de fond de l'œil proposé par van de Kraats.

La lumière traverse les couches de l'œil et elle est réfléchi par la membrane limitante interne, les disques de photorécepteurs et la sclérotique.

Dessin d'après van de Kraats (van de Kraats, et al., 1996).

Leur modèle est similaire au modèle de van Norren et Tiemeijer (van Norren & Tiemeijer, 1986) avec un terme supplémentaire pour expliquer les pertes par diffusion. La direction des cônes a été modélisée par un paramètre de transmission de la lumière qui prend la valeur 1 si la lumière incidente est perpendiculaire et une valeur entre 0 et 1 si la lumière incidente est oblique (van de Kraats, et al., 1996). En tout, le modèle contient 15 paramètres.

Les densités optiques des milieux oculaires, et la réflexion de la sclérotique ont été maintenues constantes pour tous les sujets. Les autres paramètres, c'est-à-dire la dispersion dans la choroïde, la densité de la mélanine et du sang de la choroïde, la densité du pigment maculaire et la densité du pigment visuelle ainsi que la réflexion sur la membrane limitant interne et sur les disques des segments extérieurs des photorécepteurs, ont été optimisés simultanément pour chaque sujet

Les données expérimentales pour vérifier le modèle ont été obtenues avec le densitomètre rétinien Utrecht (van Norren & van de Kraats, 1989) dans quatre conditions différentes : incidence normale et incidence oblique, une fois dans la lumière et une fois dans le noir. Les quatre spectres mesurés ont été ajustés simultanément avec le modèle pour toutes les longueurs d'onde. Ainsi, van de Kraats (van de Kraats, et al., 1996) affirme que les valeurs obtenues de densité optique du pigment visuel étaient compatibles avec les valeurs obtenues par la technique psychophysique et le modèle décrit bien le spectre pour des mesures en incidence oblique.

2.2.5. Modèle Hammer et Schweitzer

Un nouveau modèle de réflectivité de fond d'œil a été réalisé par Hammer et Schweitzer (Hammer & Schweitzer, 2002) qui ont utilisé la méthode ``adding-doubling`` pour décrire le transport radiatif dans l'œil. Cette méthode est destinée à générer des estimations précises et rapides de la distribution de la

lumière dans les tissus biologiques (Hammer, et al., 1995). Le fond d'œil a été considéré comme constitué de 4 couches : la rétine contenant le pigment maculaire dans la région de la fovéa, l'épithélium pigmentaire avec la mélanine, la choroïde contenant le sang et la mélanine et la sclérotique. Le cristallin avec la correction de l'âge a été également introduit dans ce modèle. La particularité du modèle est la dispersion anisotrope dans la rétine et la choroïde (Hammer & Schweitzer, 2002). Les coefficients de diffusion et l'anisotropie de la diffusion ont été mesurées *in vitro* (Hammer, et al., 1995). Certains paramètres, comme l'absorption et la réflexion de la sclérotique, ont été maintenus constants. Également, les diffusions de la rétine, de l'épithélium pigmentaire et de la choroïde ont été fixées aux valeurs moyennes de résultats de mesures sur des sujets sains. Des estimations des concentrations de mélanine de l'épithélium pigmentaire, du pigment visuelle ainsi que du sang et de la mélanine de la choroïde, ont été obtenus en utilisant la méthode χ^2 .

Le modèle, ainsi développé, a été vérifié sur des mesures réflectométriques de fond d'œil, en utilisant une caméra de fond d'œil modifié (Hammer, et al., 1997). L'inconvénient de ce modèle est le fait qu'on ne peut pas l'exprimer de façon analytique.

Au début, les modèles décrits jusqu'à maintenant pour expliquer la fonction spectrale de réflectométrie de fond de l'œil ont été élaborés pour estimer la densité optique de différentes couches absorbantes de l'œil et aussi pour étudier, d'une manière non invasive, la structure de la rétine.

Ultérieurement, ces modèles qui décrivent l'interaction de la lumière avec les nombreuses couches de tissus de la rétine et les vaisseaux sanguins ont été utilisés pour estimer la concentration en oxygène du sang dans les vaisseaux rétiniens à partir de mesures de réflectométrie de l'œil.

2.3. Application de la réflectométrie de fond de l'œil

2.3.1. Oxymétrie de la rétine

Tout d'abord, la réflectométrie est une méthode de diagnostic basée sur l'interaction de la lumière avec différents milieux. Le signal étudié dans la réflectométrie est bien sûr le signal réfléchi.

La spectrophotométrie est la technique utilisée pour mesurer l'absorption d'un milieu à plusieurs longueurs d'onde, afin de produire un spectre d'absorbance. La réflectométrie combinée à la spectrophotométrie conduit à la spectroréflectométrie, une technique qui permet de produire de spectres à partir de la lumière réfléchie par le milieu étudié.

L'une des applications de la spectroréflectométrie de fond d'œil est l'oxymétrie. Dans le prochain paragraphe, nous discutons des techniques et des résultats obtenus dans les dernières décennies sur l'oxygénation sanguine des vaisseaux rétiniens.

2.3.2. Oxygénation sanguine

Pour mon étude, une information déterminante est de savoir comment la lumière interagit avec toutes les couches de la rétine et principalement avec le sang.

Le chromophore principal du sang est l'hémoglobine, une protéine contenue dans les globules rouges, qui est responsable du transport de l'oxygène vers les organes par l'intermédiaire du système cardio-pulmonaire. Le résultat de l'interaction de la lumière avec le sang est l'absorption due à l'hémoglobine contenue dans les globules rouges et la diffusion due à la discontinuité des indices de réfraction entre les globules rouges et le plasma dans lequel ils sont suspendus. Dans le sang, l'hémoglobine se retrouve principalement en deux états : oxygéné (OHb) et désoxygéné (Hb). Les caractéristiques d'absorption du sang peuvent être exprimées par les coefficients d'extinctions (van Assendelft, 1970) (Figure 10).

Généralement, en spectrophotométrie, toutes les mesures de concentration en oxygène dans le sang sont basées sur ces valeurs.

La méthode pour déterminer la concentration en oxygène du sang dans les vaisseaux est basée sur la différence d'absorption de la lumière par l'oxyhémoglobine (OHb) et l'hémoglobine (Hb).

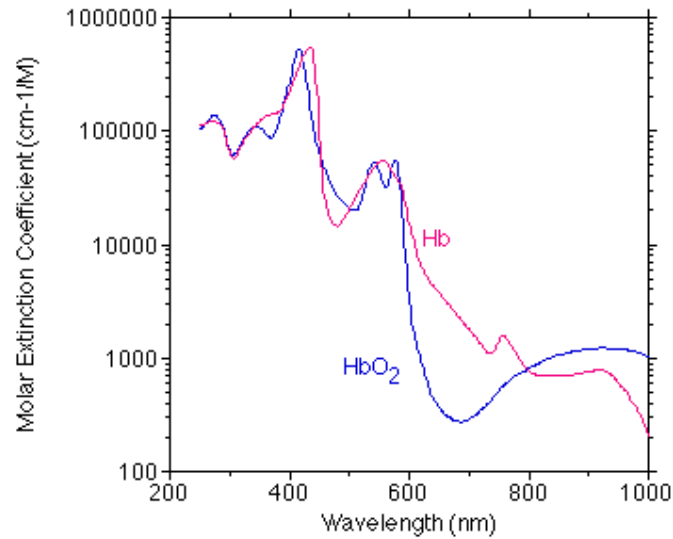


Figure 10. Coefficients d'extinction: hémoglobine (Hb) et oxyhémoglobine (HbO₂).

Dessin d'après Scott Prahl (Prahl, 2001)

Ainsi, la concentration en oxygène du sang est égale au pourcentage de l'hémoglobine oxygénée dans l'hémoglobine totale.

$$saturation_{O_2} = \frac{[OHb]}{[OHb] + [Hb]} \quad (4)$$

où [OHb] – concentration d'oxyhémoglobine et [Hb] – concentration d'hémoglobine.

2.4. Méthodes de mesure d'oxygénation sanguine in vivo

Il a été démontré in vitro que la loi de Beer-Lambert est valable pour des solutions qui contiennent au minimum deux composants : l'oxyhémoglobine et hémoglobine (van Assendelft, 1970), (Horecker, 1943). Des mesures effectuées à différentes longueurs d'onde pour le sang hémolysé montrent une relation linéaire entre la saturation en oxygène et le ratio de la densité optique de l'oxyhémoglobine et de l'hémoglobine (van Assendelft, 1970). Pourtant, le sang total n'est pas une simple solution d'hémoglobine. Les diffusions sur les cellules du sang et sur les parois des vaisseaux ainsi que la dépendance de ces diffusions aux longueurs d'onde de la lumière incidente compliquent l'analyse et met en doute la validité de la loi Beer-Lambert pour les mesures in vivo.

Malgré ces limitations, plusieurs études ont indiqué une relation linéaire entre la saturation en oxygène et le ratio de densité optique quand la concentration et la longueur du trajet optique restent constantes (Hickam, et al., 1963), (Tiedeman, et al., 1998), (Laing, et al., 1975), (Pittman & Duling, 1975). Mais en réalité les mesures in vivo sont plus compliquées que les mesures in vitro.

Dans la section suivante sera présenté un aperçu historique du développement des techniques spectrales existantes pour mesurer la concentration en oxygène de la rétine.

2.4.1. Technique de Hickam

Hickham et ses collaborateurs (Hickam & Frayser, 1959), (Hickam, et al., 1963), (Hickam & Frayser, 1966) ont été les premiers à proposer des mesures non invasives de la concentration en oxygène du sang, en utilisant la méthode photographique. Ils ont développés un modèle mathématique basé sur la loi Beer-Lambert et ils ont utilisé deux longueurs d'ondes, 640 nm et 800 nm ou 640 nm et 505 nm, pour mesurer l'oxygénation sanguine rétinienne. Les longueurs d'ondes 505 nm et 800 nm représentent des pointes isobestiques pour l'hémoglobine et oxyhémoglobine. La densité optique d'hémoglobine est beaucoup plus grande que celle de l'oxyhémoglobine à 640 nm, mais il est le même à 505 nm. Dans leur modèle, la lumière est réfléchié par le disque du nerf optique et les vaisseaux qui croisent le disque optique sont traversés à deux reprises par la lumière : une fois directe et un fois après réflexion sur le disque optique. Ils ont considéré que très peu de lumière est réfléchié par le sang du vaisseau. Puisque le film photographique a une sensibilité logarithmique, la différence de densité entre l'image du vaisseau et celui du fond (disque du nerf optique sans vaisseaux) est proportionnelle à la densité optique du vaisseau qui contient principalement du sang (Hickam & Frayser, 1959). A partir, du rapport des densités optiques à ces longueurs d'onde (640 nm et 800 nm ou 640 nm et 505 nm), ils ont démontrée une relation linéaire avec la saturation en oxygène du sang. La calibration du système a été réalisée à partir des mesures d'oxygénation artérielle sur des sujets inspirant des différentes concentrations en oxygène (hypoxie), et les résultats ont été extrapolés sur le système veineux.

Cette approche éliminait d'autres variables interindividuelles et permettait de garder constant la diffusion de la lumière sur les érythrocytes tout au long des mesures (Hickam, et al., 1963). Utilisant cette comparaison à deux longueurs d'onde, ils estiment la concentration en oxygène de veines rétiniennes à $58\% \pm 10\%$ (Hickam, et al., 1963). Dans leur modèle, aucune correction n'a été faite pour le diamètre des vaisseaux. Même si, dans des expériences in vitro utilisant des capillaires de verre de diamètre compris entre 250 et 500 μm , ils ont démontré que le calcul de la saturation en oxygène dépend de la dimension du capillaire, ils n'ont pas introduit cette dépendance dans leur modèle. Ils ont également constaté que pour les vaisseaux de la rétine qui ont un diamètre compris entre 100 et 200 μm , l'influence de leur diamètre pourrait être ignorée.

Un des problèmes de cette technique pour mesurer l'oxygénation sanguine des vaisseaux rétiens a été sa calibration dans un état d'hypoxie. Les propriétés optiques des vaisseaux rétiens changent avec l'oxygène inspiré (Hickam & Frayser, 1966), et par conséquent, leurs contributions sur la lumière réfléchie également.

Ultérieurement, Laing et Cohen (Laing, et al., 1975), (Cohen & Laing, 1976) ont utilisé cette méthode photographique pour l'appliquer chez humains et chez les lapins.

2.4.2. Technique Pittman et Duling

Pittman et Duling (Pittman & Duling, 1975) ont modifié le modèle utilisé par Hickam en considérant aussi l'influence de la diffusion de globules rouges et d'autres structures internes de l'œil. En utilisant la spectroscopie en mode transmission pour trois longueurs d'onde : une longueur d'onde de 555 nm et deux longueurs d'ondes isobestiques, 520 nm et 546 nm, ils ont obtenu, sur des animaux des mesures plus précises. Les valeurs d'oxygénation calculées en utilisant cette méthode montrent une corrélation avec les valeurs obtenues par les mesures invasives avec une microélectrode (Harris, et al., 2003). Dans leur modèle, ils ont introduit un facteur de correction pour la diffusion qui a été supposée indépendant de la longueur d'onde. Cette hypothèse a été démontrée pour l'intervalle des longueurs d'onde comprises entre 510 nm et 575 nm, par eux (Pittman & Duling, 1975) et plus tard, par Schweitzer (Schweitzer, et al., 2001). Par contre, la diffusion sur les érythrocytes dépend des longueurs d'onde pour l'intervalle spectral 400 nm à 460 nm (Pittman & Duling, 1975) et pour des longueurs d'onde plus grandes que 600 nm (Schweitzer, et al., 2001). L'applicabilité de cette méthode est limitée à une bande restreinte de longueurs d'ondes et celle-ci est loin d'être optimale pour effectuer l'oxymétrie de la rétine en termes de précision (Smith, 1999).

2.4.3. Technique de Delori

Delori et ses collaborateurs (Delori, et al., 1986) ont développé un système spectrophotométrie (capteur photoélectrique) pour mesurer l'oxygénation sanguine des vaisseaux rétiniens en temps réel en utilisant 3 longueurs d'onde différentes ; 558 nm et deux longueurs d'ondes isobestiques 569 nm et 586 nm. Leur méthode est basée sur la méthode de Pittman et Duling (Pittman & Duling, 1975) avec le facteur de correction associé à la diffusion sur les globules rouges du sang. Ces trois longueurs d'onde ont été choisies afin de réduire l'impact de la diffusion de la lumière dans les milieux oculaires et sur les parois des vaisseaux, obtenant ainsi un grand contraste entre les vaisseaux et le fond. Les mesures réalisées ne sont pas en transmission, mais en réflexion, et elles sont des mesures non invasives. Ainsi, pour déterminer la transmission par le vaisseau, l'intensité de la lumière réfléchiée par la colonne de sang du vaisseau a été comparée à l'intensité de la lumière réfléchiée par le fond. La densité optique du vaisseau a été définie comme logarithme de la transmission du vaisseau. Pour la lumière réfléchiée par la colonne de sang du vaisseau, il n'est pas explicitement dit qu'elle représente uniquement la lumière qui a été transmise par le sang du vaisseau, réfléchiée par le fond et ensuite retransmise à travers le vaisseau. En effet, plusieurs autres lumières diffusées ou réfléchies dans les couches de la rétine à proximité du vaisseau sont susceptibles de contribuer à la lumière réfléchiée par le sang du vaisseau. Le modèle conçu est basé sur la concentration en hémoglobine du sang, le diamètre du vaisseau, la diffusion de la lumière sur les globules rouges du sang et la pigmentation de fond d'œil.

Cette méthode évite le calibrage du système pour chaque vaisseau. Des mesures in vitro sur du sang humain ont été réalisées initialement, afin de calibrer l'instrument par rapport à un co-oxymètre. De plus, Delori a choisi d'utiliser, pour calculer l'oxygénation sanguine, les coefficients d'extinction de l'hémoglobine et de l'oxyhémoglobine publiés par van Assendelft (van Assendelft, 1970). Dans les expériences in vivo, la concentration moyenne en oxygène des artères rétiniennes était de $98\% \pm 8\%$ et de $45\% \pm 7\%$ dans les veines rétiniennes. Pourtant, plusieurs facteurs, y compris les mouvements des yeux, la pigmentation du fond de l'œil et les caractéristiques structurelles de la rétine, ont menés à une grande variabilité du calcul de la concentration en oxygène du sang rétinien.

2.4.4. Technique de Schweitzer

Une autre technique développée pour déterminer la concentration en oxygène de la rétine a été l'imagerie spectroscopique (Schweitzer, et al., 1995), (Schweitzer, et al., 1999), (Schweitzer, et al., 2001). Initialement, Schweitzer (Schweitzer, et al., 1992) a développé un ophtalmo-spectromètre d'imagerie afin d'analyser le spectre de la mélanine, de la xanthophylle et de la rhodopsine du fond d'œil. Le spectre de réflexion obtenu a été dans la gamme de longueur d'onde de 450 nm à 700 nm avec une résolution spectrale de 2 nm. Ensuite, ce système a été utilisé pour déterminer la concentration en oxygène dans les vaisseaux rétiens (Schweitzer, et al., 1999). Il emploie un algorithme complexe

en se basant sur des données déterminées expérimentalement *in vitro*. Ainsi, en s'appuyant sur la simulation Monte Carlo de la propagation de la lumière dans l'œil réalisée par Hammer et al. (Hammer, et al., 1997), Schweitzer a considéré que la lumière réfléchie qui sera mesurée comporte deux composantes : la lumière qui pénètre le vaisseau une fois et qui est réfléchie par le fond et la lumière qui est réfléchie à l'intérieur de la colonne de sang. Ils ont déterminé expérimentalement, *in vitro*, le spectre de transmission et de réflexion par une colonne de sang en utilisant une cuvette de quartz ayant différentes épaisseurs et remplie de sang avec différentes concentrations d'oxygène. A partir de ce modèle (Schweitzer, et al., 2001), ils ont étudié séparément la dépendance à la composante de lumière transmise et celle réfléchie par le vaisseau, de l'épaisseur de la colonne de sang, de la concentration du sang et de la vitesse du sang. Selon leurs résultats expérimentaux, Schweitzer et al. (Schweitzer, et al., 2001) ont conclu que la lumière transmise et la lumière réfléchie par le sang ont une dépendance différente à l'épaisseur de la colonne du sang. Or, quand l'épaisseur de la colonne du sang augmente, la transmission diminue pour toutes longueurs d'onde. Par contre, pour des longueurs d'onde plus grandes que 586 nm, la réflectivité augmente quand l'épaisseur de la colonne du sang augmente (Schweitzer, et al., 2001). Ce comportement est complètement différent par rapport au comportement de la lumière transmise qui diminue avec l'augmentation de l'épaisseur de la couche de sang. De plus, la dépendance de la lumière réfléchie à l'épaisseur de la colonne du sang pourrait être négligée si les mesures sont effectuées dans un intervalle de longueurs d'onde de 510 nm à

586 nm. En effet, les expériences in vitro ont démontrées la présence de deux intervalles distincts de longueurs d'onde qui influencent la composition de la lumière mesurée. Le premier intervalle de longueurs d'onde jusqu'à 586 nm considère que l'absorption par la colonne de sang est dominante et que l'épaisseur de la colonne de sang peut être négligée étant donné son faible effet sur la lumière réfléchi. Dans le deuxième intervalle des longueurs d'onde, supérieures à 586 nm, la diffusion est considérée dominante puisqu'il y a une grande augmentation de la lumière réfléchi avec l'augmentation de l'épaisseur de la colonne de sang. Également, ils ont constaté qu'il n'y avait pas de différence de propriétés de dispersion du sang quand la concentration de l'oxygène change et que la réflectivité augmente avec l'augmentation de la vitesse du sang. La précision de la mesure a été améliorée par l'inclusion de critères d'acceptation basés sur la qualité d'image et du rapport signal bruit, pour les spectres mesurés (Thamm, et al., 1998). Finalement, le modèle de Schweitzer a été appliqué pour déterminer la saturation en oxygène, de manière non invasive, sur des sujets en bonne santé. La saturation moyenne en oxygène artérielle était de $91 \pm 5\%$, et celle veineuse $59 \pm 9\%$. La différence artérioveineuse de la saturation en oxygène était de 35%, ce qui est en accord avec la différence artérioveineuse connue dans le cerveau (Schweitzer, et al., 2001).

2.4.5. Technique de Smith

Smith et les collaborateurs (Smith, et al., 1998) ont adapté un ophtalmoscope laser à balayage pour mesurer la concentration en oxygène dans les vaisseaux rétiniens.

Initialement, deux diodes lasers de 670 nm et 803 nm ont été utilisées pour éclairer la rétine ainsi qu'une photodiode pour mesurer la lumière réfléchie par la rétine et les vaisseaux sanguins. Ils ont produit une ligne de balayage d'une longueur de 400 μm sur un vaisseau de la rétine. Les densités optiques et les concentrations en oxygène ont été calculées à partir de la loi de Beer-Lambert. Avec ce système, ils ont été capables de mesurer la concentration en oxygène pour seulement les gros vaisseaux, plus grand que 50 μm , situés à proximité du disque optique. Cette limitation a été attribuée à l'utilisation de longueurs d'onde du rouge et de l'infrarouge, car moins de 3% de la lumière incidente serait absorbée par les petits vaisseaux (inférieurs à 50 μm), ce qui a induit des difficultés et des inexactitudes dans les calculs (Smith, et al., 1998).

Plus tard, deux versions modifiées de leur appareil ont été produites. Les modifications ont été faites par l'intégration de quatre diodes lasers émettant à 629, 678, 821, 899 nm, pour la première version (Smith, 1999) et 488, 635, 670 et 830 nm pour la seconde version (Smith, et al., 2000). Bien que quatre longueurs d'onde soient disponibles, la concentration en oxygène a été déterminée en fonction de paires de deux longueurs d'onde.

Smith et al. (Smith, et al., 2000) ont élargi l'analyse des effets de diffusion, en incluant également la diffusion latérale de la lumière. La rétine a été illuminée

avec une lumière polarisée afin de réduire la réflexion spéculaire sur la paroi du vaisseau (Smith, et al., 2000). Pour calculer la transmittance du vaisseau, le rapport entre l'intensité de l'image du vaisseau et du fond d'œil a été utilisé. En considérant tous les chemins de la lumière par les couches de la rétine, ils ont offert un modèle mathématique plus détaillé. Malheureusement, il a été très difficile de calculer la saturation en oxygène avec leur équation car elle contient un grand nombre de paramètres inconnus. Mais, Smith affirme qu'en utilisant la simulation de Monte Carlo pour la propagation de la lumière dans le tissu, des informations sur des paramètres sont fournies et que les équations développées peuvent être utilisées pour déterminer la concentration en oxygène des vaisseaux rétiniens quelle que soit la longueur d'onde sélectionnée ou les instruments utilisés pour effectuer les mesures. Ainsi, leur technique a été appliquée à un modèle de l'œil in vitro pour plusieurs échantillons de sang avec différentes concentrations en oxygène. En comparant la concentration en oxygène donnée par leur instrument avec celle mesurée par un CO-oxymétrie, ils ont obtenu une bonne corrélation (Smith, et al., 2000). Par contre, les auteurs (Smith, et al., 2000) ont eu des difficultés à obtenir de bons résultats avec des êtres humains, car la réflectivité du fond d'œil dépend de la longueur d'onde, en raison de la variation de l'épaisseur des couches rétiniennes.

2.4.6. Technique de Yoneya

Yoneya (Yoneya, et al., 2002) a mis au point un oxymètre de la rétine, en utilisant la transformée de Fourier, pour déterminer la concentration en oxygène dans les vaisseaux rétiniens. Le système était composé d'un interféromètre de Sagnac couplé à une caméra de fond d'œil et une caméra CCD qui recueillait des données spectrales en deux dimensions (image rétinienne). La concentration en oxygène dans chaque pixel de l'image a été calculée en fonction du spectre de réflexion entre 480 et 600 nm (Yoneya, et al., 2002). Comme modèle, ils ont utilisé la loi Beer-Lambert en incluant des paramètres supplémentaires pour tenir compte de la dépendance de la diffusion de la lumière en fonction des longueurs d'onde. Des cartes quantitatives d'oxygénation ont été obtenues, dans lesquelles l'oxygénation sanguine pour les artères a été calculée à 90-98% et pour les veines à 60-70% (Yoneya, et al., 2002).

2.4.7. Technique de Beach

Un des avancements de la technique d'oxymétrie rétinienne a été l'introduction de l'imagerie numérique à la place de la technique photographique. Beach et les collaborateurs (Beach, et al., 1999) ont décrit une nouvelle technique, l'imagerie numérique hyperspectrale de la rétine, pour mesurer la saturation du sang dans les vaisseaux rétiniens. Les mesures ont été prises simultanément pour deux longueurs d'ondes : 569 nm (longueur d'onde isobestique) et 600 nm. En fait, un

séparateur optique de faisceau a été intégré dans le système pour permettre la génération des deux images rétiniennes simultanément, qui ont ensuite été filtrées en utilisant des filtres passe-bande centrés à 569 nm et 600 nm (Beach, et al., 1999). Ils ont utilisé la même approche que les autres (Delori & Pflibsen, 1989) en considérant que la densité optique du sang contenu dans les vaisseaux rétiniens est donnée par les réflexions mesurées sur le vaisseau et sur les tissus de la rétine. Également, leur méthode pour déterminer la concentration en oxygène est basée sur l'approximation linéaire qui a été trouvée entre la concentration en oxygène du sang et la densité optique du sang dans le vaisseau (Hickam, et al., 1963), (Laing, et al., 1975). Après leurs premiers essais, Beach et al. (Beach, et al., 1999) ont effectué des modifications dans leur modèle de calcul pour la densité optique du vaisseau afin de compenser les variations induites par la pigmentation rétinienne et le diamètre du vaisseau. La calibration a également été faite sur des sujets en situation d'hypoxie. Les résultats ont été optimisés par la méthode de la régression linéaire. Lorsque les corrections ont été appliquées au modèle, les valeurs de la concentration en oxygène du sang veineux ont été de $55\% \pm 3,39\%$ quand les sujets respiraient l'air ambiant, et la concentration en oxygène a augmenté de $19,2\% \pm 2,9\%$ quand les mêmes sujets inspiraient 100% oxygène (Beach, et al., 1999).

Plus récemment, Khoobehi et al. (Khoobehi, et al., 2004) ont utilisé un système composé d'une caméra de fond d'œil avec un spectrographe couplé à un caméra numérique CCD pour évaluer la concentration en oxygène des vaisseaux rétiniens dans la région de la tête du nerf optique. Ainsi, le système

hyperspectral rassemblait une série de scans en ligne, dans la gamme de longueur d'onde de 410 à 950 nm, pour une petite zone de la tête du nerf optique (Khoobehi, et al., 2004). Des mesures ont été effectuées sur des singes dans différentes conditions expérimentales : hyperoxie (100% O₂), normoxie, ainsi que forte pression intraoculaire et pression normale intraoculaire. Ensuite, les résultats ont été comparés. Des changements du spectre ont été observés en condition de hyperoxie par rapport à la condition normale, ce qui indique une augmentation de la concentration en oxygène dans le sang. Cela a été démontré dans les artères, les veines, et le tissu de la tête du nerf optique. Pour de fortes pressions intraoculaires, les changements du spectre ont indiqué une réduction de la concentration en oxygène dans le sang par rapport à la concentration en oxygène obtenue pour des pressions intraoculaires normales. Dans d'autres études, Beach (Beach, et al., 2006) a amélioré l'analyse des données par l'application d'une correction pour le volume sanguin et pour la variation d'illumination rétinienne. Les résultats ont indiqué une amélioration dans la répartition spatiale de la concentration en oxygène sanguin (carte d'oxygénation sanguine) démontrant, pour les capillaires du tissu de nerf optique, une concentration en oxygène intermédiaire à celle des artères et veines de la rétine. Les résultats obtenus avec le système d'imagerie hyperspectrale donnent un aperçu sur son potentiel d'application en oxymétrie de la rétine. Cependant, cette technique est sensible aux artefacts de mouvement, ce qui limite son utilisation expérimentale.

2.4.8. Technique de Stefansson

Stefansson a adopté la technique décrite par Beach (Beach, et al., 1999) et a développé une technique qui produit simultanément quatre images rétiniennes. En utilisant un séparateur de faisceau et quatre filtres, il a obtenu des images rétiniennes à des longueurs d'onde de 542, 558, 586, et 605 nm (Hardarson, et al., 2006). Les images ont été analysées en utilisant un logiciel automatisé basé sur un algorithme de détection des vaisseaux permettant ainsi, de calculer les ratios de densité optique des vaisseaux sanguins. Les résultats de l'oxygénation sanguine calculés dans une situation de normoxie ont été comparés à ceux calculés dans une situation de hyperoxie (100% O₂). Les résultats ont passé de 96±9% (normoxie) à 101±8% (hyperoxie) pour les artères et de 55±14% (normoxie) à 78±15% (hyperoxie) pour les veines (Hardarson, et al., 2006). Cette expérience démontre que l'oxymètre rétinien est capable de détecter des variations d'oxygénation sanguine. Toutefois, la validité de cette technique est contestable, car plusieurs facteurs de confusion comme le diamètre des vaisseaux, la pigmentation du fond d'œil ou la diffusion de la lumière peuvent influencer les résultats.

2.4.9. Technique de Johnson

Johnson et ses collaborateurs (Johnson, et al., 2007) ont élaboré un système d'imagerie hyperspectrale, en utilisant un spectromètre tomographique couplé à

une caméra de fond d'œil et à un CCD en couleur, pour fournir des cartes d'oxygénation sanguine. Chaque image était composée d'images superposées qui ont été recombinaées en utilisant un algorithme complexe pour récupérer le cube de données spectrales (données spatio-spectrales). Les images spectrales ont été produites pour des longueurs d'ondes comprises entre 454 et 700 nm en incrément de 4 nm, à un intervalle de 3 ms pour éliminer les artefacts dus au mouvement et à la mauvaise superposition de pixel. Trois longueurs d'onde ont été sélectionnées et modifiées pour représenter une image prise avec une résolution spectrale de 1nm (Johnson, et al., 2007). Les cartes de concentration en oxygène ont été obtenues avec un algorithme de trois longueurs d'onde basé sur la loi Beer-Lambert. De plus, dans leur modèle, ils ont inclus des paramètres pour tenir compte de la diffusion de la lumière dans les milieux oculaires et les couches de la rétine, et ils ont corrigé la diffusion du fond d'œil avec la méthode de Monte-Carlo. L'oxygénation sanguine pour les artères rétiniennes a été 95% et pour les veines de moins 35% (Johnson, et al., 2007). Maintenant, cet instrument est en essais clinique.

2.4.10. Technique de Ramella-Roman

Ramella-Roman et al. (Ramella-Roman & Mathews, 2007) ont introduit un nouveau type d'oxymétrie de la rétine qui utilise un réseau de lentilles (6 ou 18 lentilles) adapté pour une caméra de fond d'œil et couplé à un détecteur CCD. Un réseau de filtres passe-bande est situé en face du système de lentilles afin

de recueillir des sous-images seulement aux longueurs d'onde d'intérêt. Les valeurs de la concentration en oxygène du sang dans les vaisseaux rétiniens ont été obtenues à la suite de l'algorithme de Schweitzer. Ainsi, l'oxygénation sanguine pour l'artère était de 95% et de 54% pour les veines. Les valeurs de concentration en oxygène variaient de 10% à travers le même vaisseau en fonction de sa position (Ramella-Roman & Mathews, 2007). Même s'ils ont utilisé 6 lentilles ou 18 lentilles, ils ont connu une variabilité similaire de mesures. Ils ont affirmé qu'une partie de la variabilité est probablement en raison de la non-uniformité des milieux absorbants de l'œil.

2.4.11. Technique de Diaconu

Fauber et Diaconu (Faubert & Diaconu, 1999) ont proposé une technologie pour effectuer des mesures de réflectométrie multicanal dans l'œil humain, similaire à celui de Schweitzer (Schweitzer, et al., 2001). Les deux technologies utilisent une camera de fond de l'œil couplée à un système de spectroscopie multicanal et un CCD, afin d'effectuer de mesures multispectrales sur la rétine. Pour avoir un bon signal à analyser, Schweitzer (Schweitzer, et al., 2001) a choisi d'éclairer la rétine avec des brefs flashes de lumière d'une forte intensité, d'une lampe de xénon. Cette méthode améliore considérablement le rapport signal-bruit, mais l'intensité et la composition spectrale d'une lumière pulsatile ne sont pas facilement contrôlables. De plus, l'envoi des flashes lumineux dans l'œil, change également le métabolisme rétinien (Riva, et al., 2001) qui signifie que ces

mesures discontinues ne peuvent pas être répétées. Par contre, la technologie introduite par Diaconu (Diaconu, 2009), propose des mesures de réflectométrie réalisés dans des conditions d'éclairage rétinien continu et stable à basse intensité. Pour augmenter le rapport signal-bruit, Diaconu (Diaconu, 2009) a amélioré le système de détection par utilisation d'un CCD refroidi adapté aux applications des niveaux de lumière très basse. Ce système a permis de mesurer la fonction spectrale de réflectométrie de fond de l'œil, pour 800 de longueurs d'ondes (entre 400 nm et 650 nm). De plus, en s'appuyant sur le modèle de réflexion de fond de l'œil de Delori et Pflibsen (Delori & Pflibsen, 1989), Diaconu a développé un méthode mathématique pour déterminer les concentrations d'hémoglobine, d'oxyhémoglobine et de carboxylique-hémoglobine, à partir des mesures spectrales de réflectométrie sur les micro-capillaires du nerf optique. L'équation mathématique qui décrit la fonction spectrale de réflectométrie a été exprimée comme une combinaison linéaire de plusieurs termes représentant les signatures spectrales de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine, de la carboxylique-hémoglobine, des médias oculaires, de la mélanine, et d'un facteur de dispersion. Ce modèle sera décrit dans le prochain chapitre.

Contrairement au modèle classique, les résultats obtenus en utilisant cette méthode démontrent que l'absorption de la lumière par le sang contenu dans les micro-capillaires des structures biologiques n'est pas compatible avec la loi de Beer-Lambert. Pour augmenter la confiance en modèle, il a été appliqué pour expliquer seulement une partie de la fonction spectrale de la réflectométrie de

l'œil, tandis que les résultats obtenus ont été employés à vérifier et à expliquer l'autre partie de la fonction de réflectométrie.

Les résultats indiquent que les valeurs de la concentration en oxyhémoglobine des micro-capillaires du nerf optique sont en moyenne de 65%. Les valeurs de la concentration carboxylique en hémoglobine dans les micros capillaires étaient entre 0% et 5% selon le sujet. Ces valeurs se trouvent dans l'intervalle des valeurs du contenu normal de carboxyhémoglobine, valeurs mesurées par Suner (Suner, 2008) en utilisant une Co-oxymètre. Les avantages de la technologie multicanal ont été déjà indiqués par Schweitzer et al. (Schweitzer, et al., 2001) qui dit qu'un nombre élevé de mesures de longueur d'onde augmente le rapport de signal-bruit avec environ la racine carrée du nombre considéré de longueur d'onde. Par conséquent, on peut affirmer que les mesures de la spectrophotométrie par la technologie multicanal (plusieurs longueurs d'onde) améliorent la sensibilité d'estimation d'oxyhémoglobine, par rapport à tout autre système qui emploie un nombre limité de longueurs d'onde mesurées.

2.5. Sélection des longueurs d'onde

L'obtention d'une image spectrale de fond d'œil n'est pas facile. Il y a un certain nombre de contraintes qui doivent être surmontées afin de pouvoir extraire de la signature spectrale les informations nécessaires, plus précisément, la concentration en oxygène du sang. Par exemple, le choix de l'intensité de la lumière incidente envoyée dans l'œil est limité à une bande restreinte de

longueurs d'onde pour ne pas causer des dommages à la rétine et, également, l'angle d'incidence doit être contrôlée afin d'éviter le reflet cornéen. En outre, seulement la lumière réfléchie par l'œil peut être analysée, ceci ayant un faible ratio du rapport signal-bruit.

Le nombre de longueurs d'onde et leur sélection sont le point de départ pour tenter de mesurer l'oxygénation rétinienne. Il est important de connaître les conditions induites par l'utilisation de deux, trois ou plusieurs longueurs d'onde, ainsi que l'impact de l'augmentation du nombre de longueurs d'onde sur la minimisation des erreurs dans le calcul de la concentration en oxygène.

L'oxymétrie à deux longueurs d'onde est adéquate dans les conditions où le sang est considéré comme un milieu homogène et non diffusant. Le système de deux équations, obtenu en appliquant la loi Beer-Lambert pour les deux longueurs d'onde choisies a deux inconnues, l'hémoglobine et l'oxyhémoglobine, qui peuvent être déterminées. Toute combinaison de deux longueurs d'onde est suffisante à condition que les coefficients d'extinction de l'hémoglobine et de l'oxyhémoglobine pour une longueur d'onde soient différents et pour l'autre longueur d'onde qu'ils soient égaux (longueur d'onde isobestique). La longueur d'onde isobestique avait été choisie pour faciliter le calcul et ainsi, la solution du système d'équations a été une relation linéaire entre la saturation en oxygène (SO) et le taux de densité optique (TDO).

$$SO = a \cdot TDO - b \quad (5)$$

Certains auteurs (Schweitzer, et al., 1999), (Tiedeman, et al., 1998), (Cohen & Laing, 1976), (Hickam, et al., 1963), (Beach, et al., 1999), (Beach, et al., 2006),

utilisent du sang avec des concentrations en oxygène connues pour obtenir les constantes a et b de façon empirique.

En conséquence, la technique avec deux longueurs d'onde est limitée par l'hypothèse que le sang est une solution homogène et non diffusante pour laquelle la loi de Beer-Lambert est applicable. Ainsi, cette technique peut être utilisée pour mesurer l'oxygénation absolue quand il y a une bonne calibration ou pour suivre l'évolution de l'oxygénation lorsqu'il n'y a pas de calibration.

Pour compenser la diffusion sur les globules rouges de sang ainsi que l'augmentation du trajet optique de la lumière, la loi Beer-Lambert a été modifiée (Delpy, et al., 1988) par l'introduction d'un terme supplémentaire dépendant de la longueur d'onde. Mathématiquement, l'addition du terme de diffusion à l'équation Beer-Lambert, s'est traduite par l'introduction d'une inconnue, d'où la nécessité de prendre des mesures à une longueur d'onde supplémentaire. Une technique d'oxymétrie de trois longueurs d'onde peut être appliquée lorsque la diffusion est supposée constante. Pourtant, le terme de diffusion introduit est fonction de la longueur d'onde, de l'indice de réfraction des globules rouges et du plasma sanguin. Cependant, la diffusion peut être supposée constante pour certaines plages de longueurs d'onde, plus précisément, pour des longueurs d'onde qui ne sont pas caractérisées par une forte absorption des dérivés d'hémoglobine, tels que le bleu ou le rouge (Pittman & Duling, 1975). Ainsi, à travers le domaine de longueurs d'onde du vert, la diffusion resterait à peu près constante, approximation validée expérimentalement pour 520, 546 et 555 nm (Pittman & Duling, 1975).

En supposant la diffusion constante, la concentration en oxygène peut être estimée en résolvant les trois équations de Beer-Lambert modifiées avec le terme de diffusion, pour trois longueurs d'onde différentes. L'utilisation de deux longueurs d'onde isobestiques simplifie le calcul d'oxygénation sanguine, en transformant la solution du système d'équations dans une relation linéaire en densités optiques.

Bien que, en théorie, cette technique de trois longueurs d'onde réussisse à éliminer la dépendance de la diffusion, la méthode est limitée à une utilisation d'une bande étroite de longueurs d'onde qui ne sont pas optimales en termes de précision d'obtention d'oxygénation.

La technique d'imagerie multispectrale est caractérisée par l'utilisation d'un grand nombre de longueurs d'onde. Les 76 équations obtenues pour 76 longueurs d'ondes entre 510 et 586 nm (Schweitzer, et al., 2001) ainsi que les 800 équations différentes obtenues pour 800 longueurs d'onde entre 400 et 650 nm (Diaconu, 2009) sont utilisées pour optimiser les valeurs de plusieurs inconnues jusqu'à ce que la somme d'erreurs atteigne un minimum. Évidemment, l'utilisation de plusieurs longueurs d'onde aboutie à une détermination plus précise de la concentration en oxygène.

La sélection de longueur d'onde pour mesurer la concentration en oxygène de la rétine de manière non invasive, afin de minimiser les erreurs, a fait l'objet de plusieurs études. Théoriquement, l'évaluation des erreurs de concentration en oxygène de la rétine nécessite l'établissement d'une relation entre la concentration et la réflectivité du fond d'œil. La combinaison optimale de

longueurs d'onde varie avec le nombre de longueurs d'onde considérées. Des erreurs dans la détermination de la concentration en oxygène pour différents diamètres de vaisseaux et pour différentes combinaisons de longueurs d'onde ont été déjà rapportées dans la littérature (Hickam, et al., 1963), (Tiedeman, et al., 1998), (Delori & Pflibsen, 1989), (Smith, et al., 1998) En dépit du fait que pour certaines combinaisons de longueurs d'onde, ils ont obtenu une excellente sensibilité de la concentration en oxygène, cela ne représente pas nécessairement la meilleure combinaison. En fait, pour de mesures in vivo dans l'œil, il existe plusieurs facteurs qui influencent la sélection des longueurs d'onde, telles que la forte absorption par les milieux oculaires, l'absorption par l'hémoglobine et ses dérivées, la diffusion par les globules rouges du sang et la longueur de chemin optique due à la structure en forme de couches de la rétine et à son hétérogénéité.

En conséquence, pour déterminer la concentration en oxygène avec une sensibilité suffisante, il est souhaitable de choisir des longueurs d'onde qui sont rapprochées, qui ont un effet de diffusion constant, qui ne sont pas à proximité ni d'une bande de forte absorption de l'hémoglobine et de milieux oculaires ni d'une bande de faible absorption de l'hémoglobine et d'une pénétration plus profonde dans les tissus. Cette affirmation restreint la plage de longueurs d'onde, pour effectuer l'oxymétrie de la rétine, de 450 à 800 nm.

Chapitre 3. Problématique et but de l'étude

3.1. Problématique

Les altérations de la circulation sanguine de la rétine représentent la source majeure de la plupart des maladies oculaires. Le flux sanguin et la saturation en oxygène sont les paramètres dynamiques les plus importants qui caractérisent le métabolisme rétinien. La technique de réflectométrie du fond de l'œil permet, théoriquement, de mesurer la concentration en oxygène du sang contenu dans les structures internes de l'œil. L'intérêt pour un système conçu à partir de cette technique est grand étant donné qu'il a le potentiel de développer une méthode non invasive capable de mesurer l'oxygénation du sang dans les vaisseaux rétiniens et implicitement d'étudier le mécanisme d'autorégulation et l'activité métabolique de l'œil en relation avec certains médicaments. Présentement, aucun instrument n'est disponible pour être utilisé en clinique ou en recherche afin de mesurer de manière non invasive l'oxygénation sanguine des structures rétiniennes. Cela démontre que le problème relié aux méthodes de calcul pour déterminer les concentrations des dérivées de l'hémoglobine du sang n'est pas encore totalement résolu.

3.2. Objectifs de l'étude

L'objectif principal de ce projet doctoral est de développer un modèle mathématique capable d'expliquer entièrement la fonction de réflectométrie sur les vaisseaux rétiniens. Ce modèle doit tenir compte à la fois de l'absorption et de la réflexion de la lumière d'un nombre fini des structures de l'œil et des limites de la loi Beer-Lambert pour des structures biologiques.

Les objectifs spécifiques de ce projet sont de :

1. s'assurer que le modèle développé décrit entièrement, c'est-à-dire pour toute la bande spectrale étudiée, la fonction spectrale de réflectométrie autant pour les artères et les veines que pour les capillaires de la rétine.
2. vérifier si les données obtenues avec le nouveau modèle sont reproductibles pour un même état et si elles sont comparables pour des sujets sains.
3. vérifier que la méthode de spectroréflectométrie multicanal de l'œil, munie du nouveau modèle mathématique, peut détecter des variations d'oxygénation sanguine, après un changement de la concentration en oxygène systémique des sujets en santé.
4. vérifier que la méthode de spectroréflectométrie multicanal de l'œil, munie du nouveau modèle mathématique, peut détecter des changements d'oxygénation sanguine, après un effort physique dynamique chez des sujets en santé.

De plus, la méthode proposée devra avoir un réel potentiel d'intégration dans un contexte clinique.

En considérant l'ensemble des objectifs découlant du projet et sa problématique, des hypothèses de recherche ont été formulées.

3.3. Hypothèses de recherche

Les deux hypothèses présentées découlent directement des objectifs du projet doctoral et sont en lien direct avec chacun des articles scientifiques qui ont été écrits.

1. Étant donné les hétérogénéités des structures de la rétine, des modèles spécifiques sont nécessaires pour expliquer la fonction de réflectométrie de chaque zone rétinienne. Les vaisseaux sanguins présentent entre eux de grandes variations de structure et de composition. Intégrées dans un modèle mathématique, ces distinctions de propriétés physiques et chimiques permettraient de calculer l'oxygénation sanguine, tant pour les capillaires que pour les artères et les veines de la rétine. Étant dans l'hypothèse d'un modèle linéaire, le nouveau modèle mathématique sera semblable au modèle utilisé pour les micro-capillaires (Diaconu, 2009) mais le nombre des paramètres sera élargi. Ces paramètres seront capables de décrire l'absorption spectrale provenant des différents composants comme les parois des artères et des veines, ainsi que la diffusion sur les cellules rouges du sang.

2. Les mesures in vivo de la concentration en oxygène devraient permettre de conduire aux deux principaux indicateurs de la valeur scientifique et de la performance d'un modèle, c'est à dire sa validité et sa fidélité.

Des expériences qui induisent des variations de la concentration en oxygène devraient être réalisées. La présence des changements notables et répétables de l'oxygénation chez des sujets jeunes et en santé, en fonction de condition de l'expérience, représente une validation du modèle de calcul et de la méthode de mesure utilisée.

Chapitre 4. Spectrorélectromètre multicanal et modèle mathématique

4.1. Spectrorélectromètre multicanal

Des récents développements dans le domaine de technique non-invasive d'investigation des paramètres sanguins oculaires, proposent un appareil capable de mesurer en temps réel l'oxygénation sanguine avec une précision de 2% (Diaconu, 2009). L'appareil utilisé pour mon étude est cette nouvelle technique de spectrorélectrométrie de l'œil, basée sur le principe de la technologie multicanal, permettant de mesurer l'état d'oxygénation du sang dans les vaisseaux rétiniens de façon non invasive et en continu.

Ce dispositif (On-line and real-time spectroreflectometry measurement of oxygenation in a patient's eye (Faubert & Diaconu, 1999)) comprend une camera de fond de l'œil, une camera vidéo couplée à un système d'affichage et un spectrographe couplé a un dispositif CCD (dispositif a couplage de charge) Figure 11.

La caméra de fond de l'œil incorpore une source de lumière pour produire un faisceau lumineux ayant une bande spectrale prédéterminée, et deux systèmes optiques pour propager la lumière. La source de lumière est une lampe à tungstène halogène de 10 Watts. En principe, la bande spectrale de la source comprend une plage de longueurs d'onde comprise entre 450 nm et 850 nm, bande spectrale optimisée pour les mesures spectrorélectrometriques de l'oxygénation.

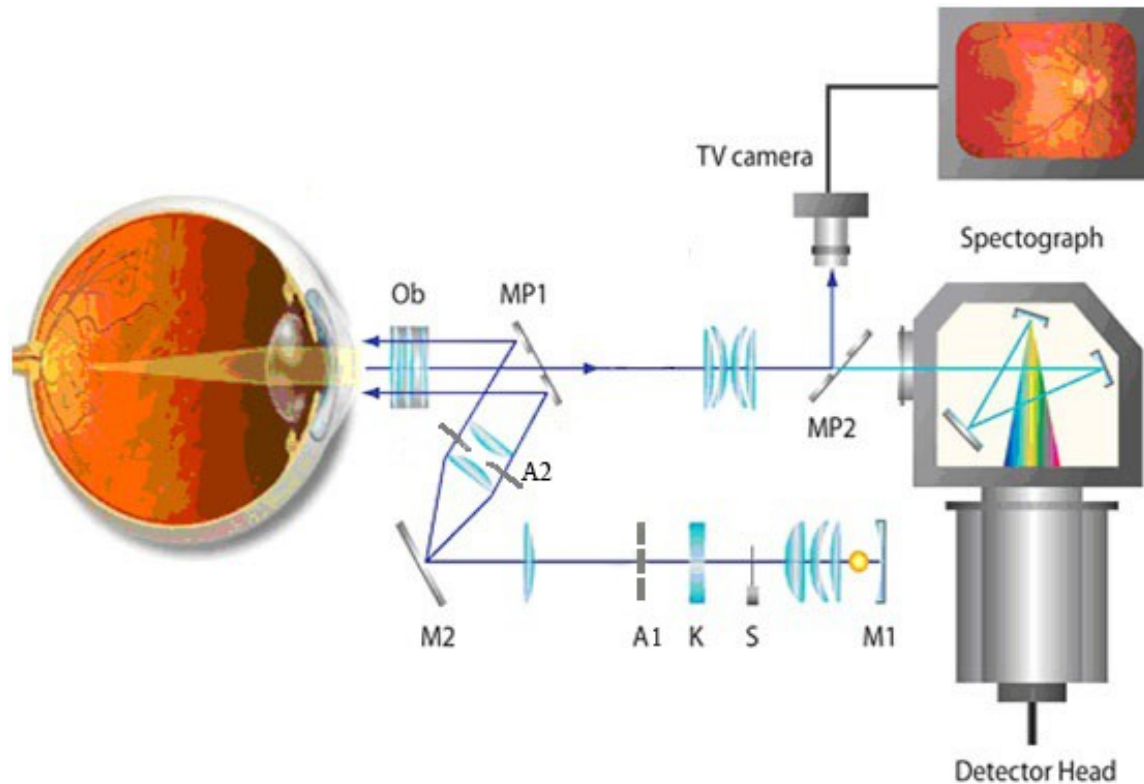


Figure 11. Spectroréfectomètre multicanal.

Le premier système optique est utilisé pour propager le faisceau lumineux provenant de la source de lumière à l'œil du patient. Un système des filtres a été placé en face de la source pour réduire l'intensité de la lumière incidente ainsi qu'un filtre bleu (K) pour couper la zone de longueurs d'onde rouge et infrarouge afin de supprimer les radiations thermiques et d'obtenir un spectre énergétique uniforme dans la zone d'intéresse de 430 à 650 nm. Également, ce système optique comprendre un ensable des lentilles, deux apertures et deux miroirs afin de propager et de focaliser la lumière de la source sur une région du fond de l'œil du patient, Figure 11.

L'aperture (A1), située dans le plan conjugué du miroir M2, a son image dans le plan conjugué avec la cornée par rapport au miroir MP1. Cette aperture est une ouverture annulaire donnant, à travers le système optique formé des miroirs M2 et MP1, une image au niveau de la cornée en forme d'anneau. L'image obtenue est formée d'un disque noir avec un diamètre de 3 mm, entouré d'une partie lumineuse avec un diamètre extérieur pouvant varier de 6 mm à 24 mm.

Ultérieurement, nous avons introduit dans le trajet optique de la lumière incidente une autre aperture (A2) afin de contrôler l'éclairement rétinien (Figure 11). Le rôle de cette aperture est de limiter la surface éclairée de la rétine jusqu'à une délimitation de la zone de mesure d'approximativement 1mm. Cette délimitation permet d'éliminer de notre signal mesuré la lumière parasite provenant des structures adjacentes et également de ne pas activer le métabolisme des autres zones de la rétine. L'aperture (A2) est située dans le plan conjugué avec la rétine par rapport au miroir MP1.

En prenant une mesure le patient est invité à garder les yeux ouverts, avec leurs pupilles dilatées, pendant de longues périodes de temps. Pour cette raison, nous devons être certains que le niveau d'éclairage utilisé est conforme à l'accord sur les normes de sécurité.

Selon l'American National Standards Institute (ANSI) le document RP- 27.1-05: Recommended Practice for Photobiological Safety for Lamps and Lamp Systems-General Requirements (Levin, 2005) et à l'article du Delori (Delori, et al., 2007) des lignes directrices différentes sont employées selon la longueur d'onde de la lumière et le temps d'exposition utilisé dans le système. Pour une

source à large bande, comme celle utilisée dans notre dispositif, le plus grand danger, qui peut provoquer une blessure photochimique de la rétine, est dû à l'intensité de la source, au temps d'exposition utilisé (plus grand de 6 minutes) et à la zone d'exposition de la rétine (plus grande de 35 degrés) (Levin, 2005).

Avant les expériences qui ont été réalisées, l'éclairage a été mesuré au niveau de la rétine pour confirmer que l'intensité de la source de lumière est dans la plage de fonctionnement sûr. L'énergie reçue par cm^2 au niveau de la rétine a été entre $140 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ et $170 \mu\text{W}/\text{cm}^2$. Pour des raisons de sécurité, le faisceau de lumière doit être maintenu à une intensité inférieure à $0,5 \text{ mW}/\text{cm}^2$, ce qui est sûr pour des mesures impliquant un temps d'exposition long d'approximativement 6 minutes (Levin, 2005). La tache lumineuse circulaire au niveau de la rétine donne un éclairage rétinien de 35 degrés.

En conséquence, pour nos expériences, l'intensité de cette lumière est suffisamment basse pour éclairer le fond de l'œil pour une longue durée de la mesure, tout en ne provoquant pas des dommages à l'œil du patient.

Une partie de faisceau de lumière incidente est réfléchi par le fond de l'œil du patient et est propagée à l'aide d'un deuxième système optique jusqu'à l'unité de détection, Figure 12.

Ce système optique comprend principalement deux lentilles (l'objective) et un miroir troué, positionné à 45 degrés sur le trajet de la lumière réfléchi. Le miroir est placé avec son ouverture devant l'entrée du spectrographe, sur l'axe optique principal de l'objectif.

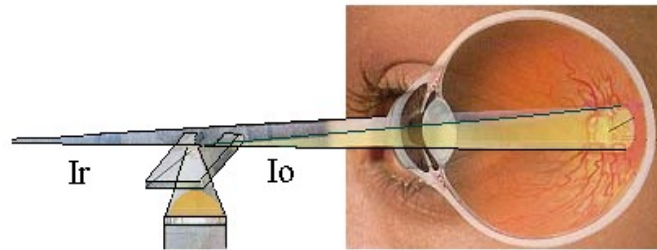


Figure 12. Schéma de la lumière envoyée et réfléchi par le fond de l'œil.

Ainsi, le faisceau lumineux réfléchi par la rétine se propage à partir de la rétine jusqu'au miroir troué, qui joue le rôle d'un diviseur, où il est divisé dans une partie axiale centrale et une partie périphérique, entourant la partie centrale axiale. La partie axiale centrale du faisceau est transmise au spectrographe par une fibre optique et la partie périphérique axiale est transmise au système d'affichage. Le système d'affichage donne une image de fond de l'œil avec une tache noire sur l'image, indiquant l'endroit précis où la mesure a été faite.

Un exemple d'image captée et affichée est représenté sur la Figure 13.

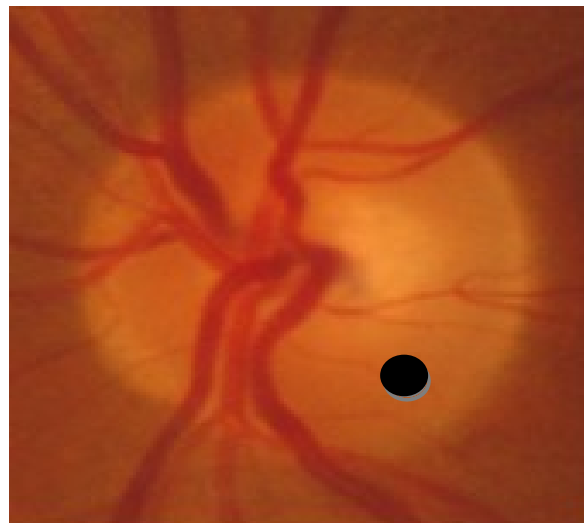


Figure 13. Image du fond de l'œil.

La tache noire est produite par l'ouverture axiale du miroir et correspond à la partie centrale axiale du faisceau lumineux réfléchi par le fond de l'œil.

La dimension de cette tache noire est de 0,5 mm et la fibre optique, qui transport l'information vers le spectrographe, a un cœur de 0,25 mm. Ainsi, nous avons recueilli des informations d'une partie de 250 μm de la rétine. Cette image permet à l'opérateur de positionner comme souhaité le point noir sur le fond de l'œil du patient, en déplaçant le point de fixation du patient par rapport à l'axe de la propagation de la lumière.

L'unité de détection est située à l'extérieur de la caméra de fond de l'œil et comprend un spectrographe, MS 125 TM 1/8m Oriel, qui analyse la partie centrale axiale du faisceau lumineux réfléchi, et une matrice des détecteurs (Instaspec TM IV CCD) pour mesurer l'intensité lumineuse, à différentes longueurs d'onde (le spectre). En d'autres termes, le réseau de diffraction du spectrographe décompose la lumière réfléchie par le fond de l'œil aux différentes longueurs d'onde dans la gamme comprise entre 450 nm et 850 nm. La matrice des détecteurs CCD est constituée de 1024 colonnes et 256 lignes des détecteurs. Les valeurs spectrales sont lues avec une précision de 0.3 nm et sont enregistrés avec une période d'intégration de 500 ms.

Un deuxième système d'affichage permet de voir le diagramme de l'absorption du fond de l'œil en fonction de la longueur d'onde de la bande spectrale prédéterminée, Figure 14. Ces mesures spectrales ont été utilisées afin de déterminer l'oxygénation sanguine de vaisseaux sanguins de la rétine.

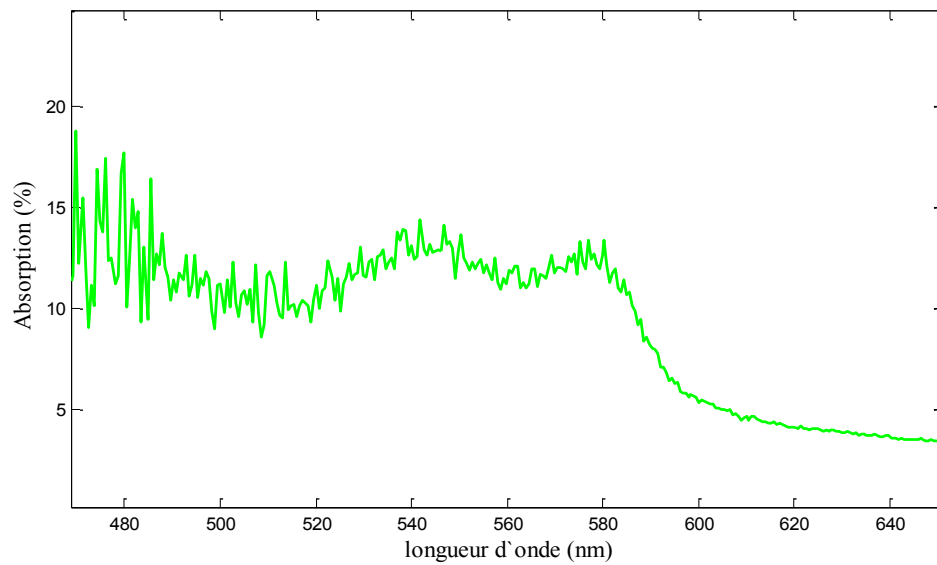


Figure 14. Spectre d'absorption du fond de l'œil mesuré avec le spectroreflectometre multi-canal.

À partir d'un modèle d'absorption-réflexion de fond de l'œil, initialement développé par Diaconu (Diaconu, 2009) pour les microcapillaires de nerf optique et ensuite adapté par moi (Vucea, et al., 2011) pour les artères et les veines, un algorithme mathématique a été implémenté dans le programme Matlab afin d'expliquer les spectres d'absorption et de calculer l'oxygénation sanguine dans les vaisseaux rétiniens. Présentement, afin de faciliter l'utilisation de l'appareil, nous travaillons pour adapter l'algorithme mathématique pour le programme C++.

4.2. Modèle mathématique initial

Propagation de la lumière dans l'œil et le modèle mathématique associé.

Lorsque la lumière incidente rentre par la pupille dans l'œil, celle-ci est transmise et réfléchiée par tous les milieux de l'œil. Ainsi, la lumière passe à travers la cornée, l'humeur aqueuse, le cristallin et l'humeur vitrée jusqu'à la rétine où elle est transmise à travers les couches de la rétine vers la choroïde et la sclérotique. La Figure 15 présente le plan de la section transversale d'un œil normal, ainsi que un faisceau de lumière incident qui est réfléchiée par le fond d'œil.

Pour décrire mathématiquement la réflexion et l'absorption de la lumière par les différentes couches de l'œil, nous avons opté pour le modèle mathématique développé par Diaconu (Diaconu, 2009). Ce qui suit est une brève description de la démarche réalisée par Diaconu pour arriver au modèle mathématique permettant d'expliquer la fonction spectrale de réflectométrie de microcapillaires du nerf optique.

Le point de départ de son modèle mathématique est le modèle développé par Van Norren (van Norren & Tiemeijer, 1986) et ensuit par Dolori et Pflibsen (Delori & Pflibsen, 1989).

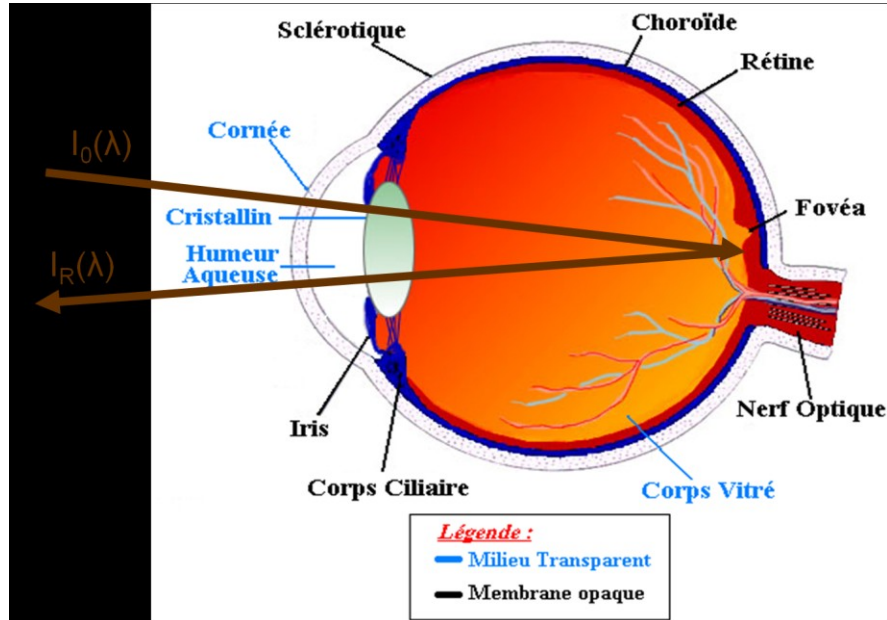


Figure 15. Composantes de l'œil.

Dessin d'après Lekhal(Lekhal & P, 2002)

Un milieu transparent tel que la cornée ou le cristallin permet le passage de la lumière visible avec une faible absorption. En revanche, les milieux tels que les vaisseaux sanguins, l'épithélium pigmentaire, et la choroïde introduisent une atténuation significative.

Mathématiquement ces affirmations peuvent être écrites :

$$I_R(\lambda) = I_0(\lambda) \times 10^{-2[D_{media}(\lambda)+D_{melanin}(\lambda)+D_{Hb}(\lambda)+D_{OHb}(\lambda)]} \times R(\lambda)C(\Omega) \quad (6)$$

ou $I_R(\lambda)$ – la lumière réfléchie, $I_0(\lambda)$ – la lumière incidente, et

$10^{-2[D_{media}(\lambda)+D_{melanin}(\lambda)+D_{Hb}(\lambda)+D_{OHb}(\lambda)]}$ – terme qui décrit l'absorption de la lumière par différents structures de l'œil, en conformité avec la loi Beer-Lambert.

Le facteur 2 de l'exposant a été ajouté pour prendre en compte le fait que la lumière parcourt deux fois les milieux de l'œil. Pour un milieu homogène, la densité optique spectrale $D(\lambda)$ peut être écrite comme le produit entre le coefficient d'extinction spectrale $\varepsilon(\lambda)$, la longueur du trajet optique de la lumière d , et la concentration du milieu c .

$$D_i(\lambda) = \varepsilon_i(\lambda)d_i c_i \quad (7)$$

$R(\lambda)$ – terme qui caractérise la réflexion de la lumière sur les différentes structures (sclérotique, vaisseaux, épithélium pigmentaire) et $C(\Omega)$ constante géométrique.

Des modifications ont été apportées par Diaconu (Diaconu, 2009) à cette équation.

Une première proposition a été d'exprimer la densité optique de chaque couche $D_i(\lambda)$ par le produit de la fonction normalisée de la densité spectrale $S_i(\lambda)$, appelée aussi signature spectrale de milieu absorbant et un coefficient m_i qui varie en fonction de trajet optique de la lumière d , et la concentration du milieu c .

$$D_i(\lambda) = S_i(\lambda)m_i \quad (8)$$

Généralement, la fonction de réflectométrie sur les structures de l'œil est exprimée en absorbance $Ab(\lambda)$.

$$Ab(\lambda) = \log \left[\frac{I_0(\lambda)}{I_R(\lambda)} \right] \quad (9)$$

Une deuxième proposition de Diaconu (Diaconu, 2009) a été d'exprimer cette fonction de réflectométrie en termes d'absorption $A(\lambda)$

$$A(\lambda)\% = \frac{I_0(\lambda)}{I_R(\lambda)} \quad (10)$$

et d'utiliser l'approximation pour de faible densité optique:

$$10^{2S_i(\lambda)m_i} = 1 + 2S_i(\lambda)m_i \quad (11)$$

Avec toutes ces propositions, l'équation mathématique qui décrit la fonction spectrale de réflectométrie devient une combinaison de six termes représentant, respectivement, la signature spectrale de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine, du milieu oculaire, de la mélanine, ainsi qu'un facteur de réflexion et un facteur libre.

$$A(\lambda) = m_1 S_{Hb}(\lambda) + m_2 S_{OHb}(\lambda) + m_3 S_{m.oculaire}(\lambda) + m_4 S_{melanine}(\lambda) + \\ + m_5 \frac{1}{R(\lambda)} + k \quad (12)$$

Les signatures spectrales de l'hémoglobine et de l'oxyhémoglobine sont connues à partir des mesures in vitro (van Assendelft, 1970) et ils sont considérés comme étant indépendants du sujet. Par contre, les signatures spectrales du milieu oculaire, qui comprendre le cristallin et l'humeur aqueuse, celui de la mélanine et aussi les réflexions de différentes couches de l'œil, sont dépendants du sujet. Généralement, les valeurs attribuées aux derniers paramètres sont les valeurs moyennes obtenues sur un groupe de sujets. Comme l'utilisation d'une valeur moyenne peut induire des erreurs, Diaconu a préféré d'exprimer mathématiquement d'une autre manière les dernières termes de l'équation 12 réduisant ainsi les nombres des inconnues.

En conséquence, l'équation 12 a été modifiée en exprimant tous les paramètres en fonction de la longueur d'onde, trouvant ainsi la relation suivante pour exprimer la fonction spectrale de réflectométrie de l'œil.

$$A(\lambda) = m_1 S_{Hb}(\lambda) + m_2 S_{OHb}(\lambda) + m_3 (\lambda)^{-n} + m_4 k \quad (13)$$

ou $S_{Hb}(\lambda)$ – signature spectrale de l'hémoglobine, $S_{OHb}(\lambda)$ – signature spectrale de l'oxyhémoglobine, λ^{-n} – absorption du milieu oculaire et diffusion sur les structures du fond d'œil, k – facteur libre et m_1, m_2, m_3, m_4 – paramètres représentant la contribution de chaque termes à la fonction spectrale de réflectométrie de l'œil.

L'équation obtenue présente 6 inconnues m_1, m_2, m_3, m_4, k et n . Ces valeurs sont calculées en demandant que la fonction spectrale de réflectométrie mesurée pour 800 longueurs d'onde, $\lambda \in [450nm; 650nm]$ soit expliquée par l'équation 13. Toutes les données expérimentales ont été obtenues par des mesures réalisées avec le spectroréflectomètre multicanal (Diaconu, 2009) sur les capillaires de la région du disque du nerf optique de l'œil.

À partir de ce modèle mathématique, je tenterai de l'appliquer pour expliquer la fonction spectrale de réflectométrie des gros vaisseaux de la rétine et de l'améliorer afin de déterminer l'oxygénation sanguine dans ceux-ci. Toutes les mesures ont été prises pour 800 longueurs d'onde différentes, $\lambda \in [450nm; 650nm]$, avec le spectroréflectomètre multicanal.

Chapitre 5. Méthodologie

5.1. Expérience et résultats préliminaires

Tel que décrit au troisième chapitre, l'objectif de ce travail de recherche a été d'étudier et de développer un modèle mathématique capable d'expliquer entièrement la fonction spectrale de réflectométrie des vaisseaux rétiniens.

5.1.1. Modèle mathématique initial

Le but de l'expérience décrite dans cette section était d'essayer de calculer l'oxygénation sanguine dans les gros vaisseaux sanguins de la rétine en appliquant le modèle mathématique développé antérieurement (Diaconu, 2009). Ce modèle, expliquant l'absorption de la lumière par le sang de capillaires de la rétine, n'est pas compatible avec le modèle classique qui exprime l'absorption de la lumière par une fonction exponentielle en conformité avec la loi Beer-Lambert. La particularité du modèle réside dans le fait que la fonction de réflectométrie est représentée en termes d'absorption $A(\lambda)$ %. De cette manière, la fonction spectrale de réflectométrie de l'œil, pour le domaine spectral du visible, a été écrite comme une combinaison linéaire des signatures spectrales de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine et du milieu oculaire. Les résultats de recherche de Diaconu montrent que la lumière visible qui pénètre les parois des vaisseaux est diffusée et absorbée par les molécules d'hémoglobine situées

dans les espaces interstitiels de l'endothélium. Selon des expériences en vitro, l'absorption et la diffusion par le sang des capillaires ont été considérées similaires à ceux d'une structure poreuse telle qu'une feuille de papier (Diaconu, 2009). De ce fait, dans les capillaires de la rétine les molécules d'hémoglobine semblent disposées en surface et non en volume, ce qui a prouvé que la lumière visible n'est pas absorbée conformément à la loi Beer-Lambert. Suite a cette constatation, et en suivant la démarche décrite dans le chapitre précédent, Diaconu (Diaconu, 2009) a trouvé la relation suivante pour exprimer la fonction spectrale de réflectométrie de l'œil :

$$A(\lambda) = m_1 S_{Hb}(\lambda) + m_2 S_{OHb}(\lambda) + m_3 (\lambda)^{-n} + m_4 k \quad (13)$$

ou $S_{Hb}(\lambda)$ – signature spectrale de l'hémoglobine, $S_{OHb}(\lambda)$ – signature spectrale de l'oxyhémoglobine, λ^{-n} – absorption du milieu oculaire et diffusion sur les structures du fond d'œil, k – facteur libre représentant l'échelle verticale et m_1 , m_2 , m_3 , m_4 – paramètres représentant la contribution de chaque termes à la fonction spectrale de réflectométrie de l'œil.

5.1.2. Application du modèle initial pour expliquer la fonction de réflectométrie des artères et des veines

En utilisant le spectroréflectomètre multicanal, des mesures ont été réalisées sur les capillaires du disque du nerf optique, sur une artère et sur une veine, afin de calculer la concentration en oxygène de ces zones.

La concentration en oxygène a été déterminée en utilisant la formule :

$$OHb = \frac{m_2}{m_1 + m_2} \quad (14)$$

Des mesures ont été acquises sur les yeux de six volontaires sains. Les critères d'inclusion pour cette étude étaient des adultes avec des examens oculaires normaux. Les critères d'exclusion étaient les patients atteints de maladies de la rétine, de glaucome, d'une opacité de milieu oculaire, y compris la cataracte, du diabète, d'une maladie vasculaire systémique y compris l'hypertension. Une fois que les volontaires ont été examinées par un optométriste, les participantes à l'étude ont reçu une fiche d'information et un formulaire de consentement qui explique le but, les procédures et la durée de l'étude. Pour prendre de mesures et une image rétinienne plus facile, les volontaires ont reçu des gouttes oculaires, Mydriacyl, afin de dilater la pupille. Une fois que les yeux des patients ont été complètement dilatés, on leur a demandé de poser leurs têtes sur le support du dispositif de mesure et l'instrument a été mise au point afin d'acquérir des images rétiniennes Figure 16. Les points noirs sur l'image représentent les zones de mesures spectrales.

Une séance de mesure représente un enregistrement continu de la fonction de réflectométrie (800 longueurs d'onde de 450nm à 650nm) pour chaque zone étudiée de la rétine, pendant 10 seconds avec un temps d'intégration de 0,5 s.

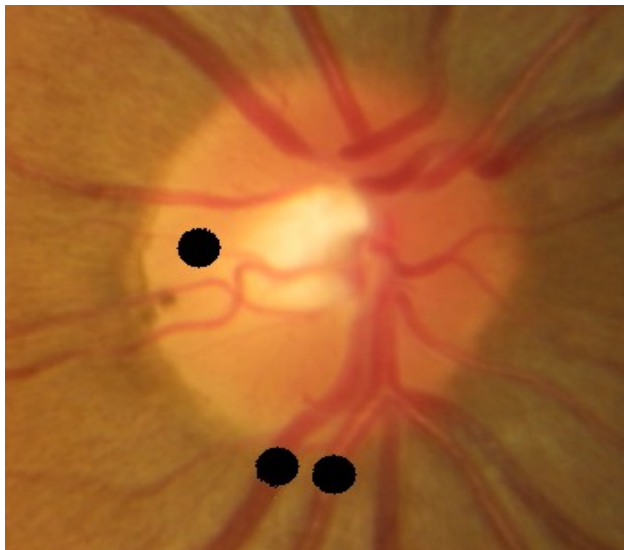


Figure 16. Image du fond d'œil.

Les points noirs représentent les zones où les mesures ont été prises.

Pour déterminer l'absorption de l'œil, le signal réfléchi par le fond de l'œil a été divisé par un signal de référence, les deux signaux étant corrigés par le bruit de l'appareil. Le signal de référence a été mesuré à l'aide d'une couche réfléchissante de BaSO₄ d'un œil modèle.

L'algorithme de calcul de l'équation 13 a été créé dans le logiciel Matlab.

La Figure 17, la Figure 18 et la Figure 19 montrent l'ajustement entre le spectre de l'absorption de capillaires (Figure 17), des artères (Figure 18) et des veines (Figure 19) de la rétine avec le modèle prédit par l'équation 13.

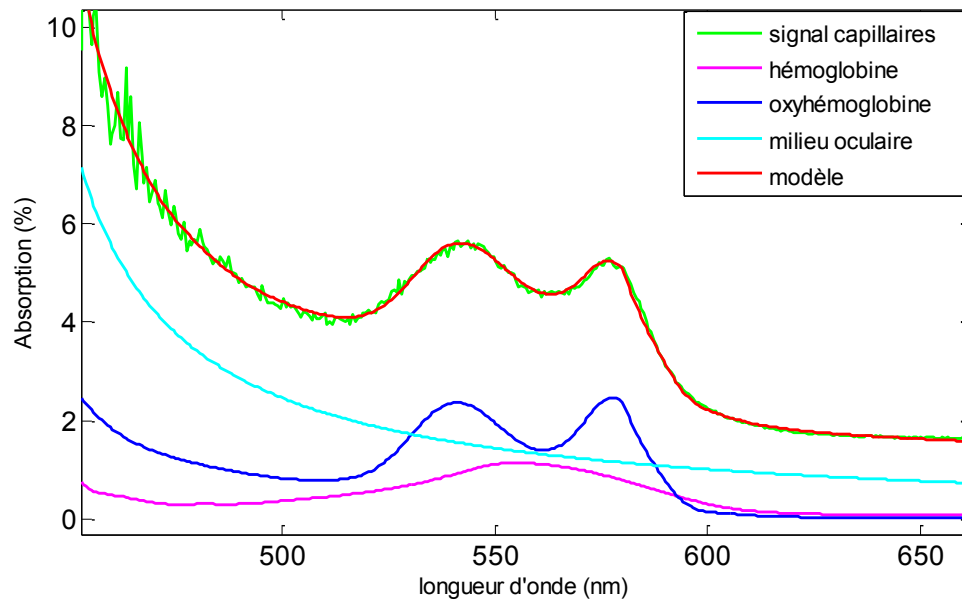


Figure 17. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et la fonction spectrale de réflectométrie des capillaires du nerf optique pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le graphique représente les contributions au modèle mathématique de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine ainsi que de l'absorption - diffusion du milieu oculaire. Concentration d'oxyhémoglobine calculée pour capillaire : 61,2%

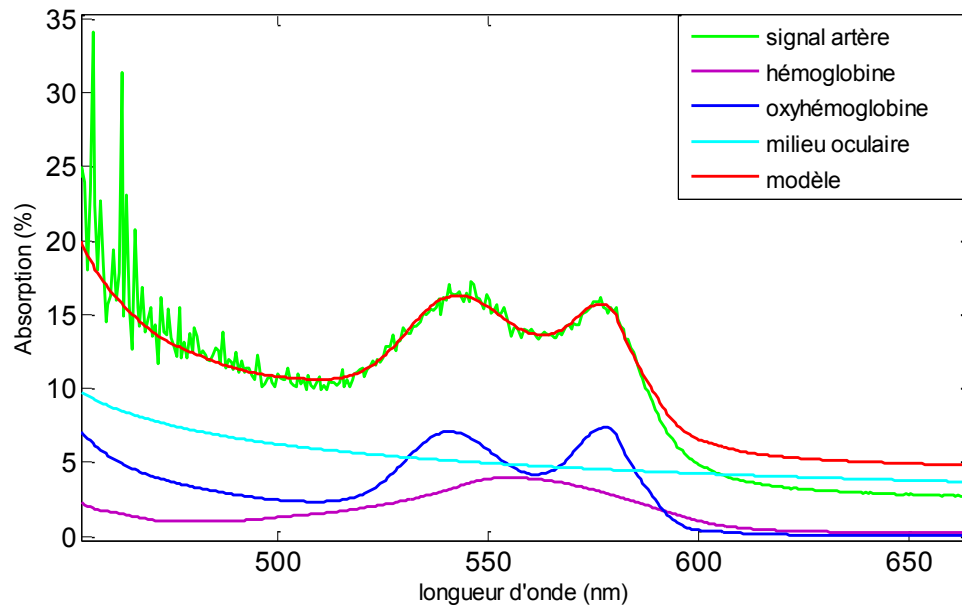


Figure 18. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et la fonction spectrale de réflectométrie de l'artère pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le graphique représente les contributions au modèle mathématique de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine ainsi que de l'absorption - diffusion du milieu oculaire. Concentration d'oxyhémoglobine calculée pour artère : 62,3%

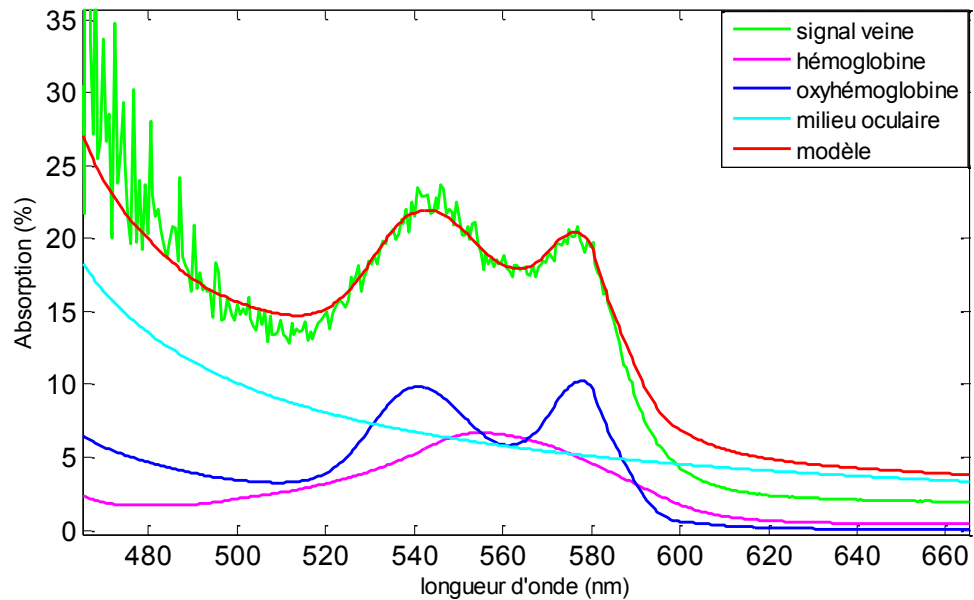


Figure 19. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et la fonction spectrale de réflectométrie de la veine pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le graphique représente les contributions au modèle mathématique de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine ainsi que de l'absorption - diffusion du milieu oculaire. Concentration d'oxyhémoglobine calculée pour veine : 58,7%

Il est évident que la fonction spectrale de réflectométrie des capillaires de la rétine est entièrement expliquée par le modèle mathématique initial (13). Par contre, pour les artères et les veines, le modèle mathématique initial explique la fonction de réflectométrie expérimentale seulement pour la bande spectrale 450 nm à 590 nm. Pour la bande spectrale de 590 nm à 650 nm, il existe une différence entre le spectre expérimental et le spectre théorique (13), induite par une forte réflexion sur certaines structures de l'œil.

En raison de non-ressemblance entre la courbe des mesures expérimentales et la courbe du modèle mathématique (13) pour toute la gamme de longueurs d'ondes (Figure 18 et Figure 19), les valeurs calculées de la concentration en oxygène peuvent être erronées.

En conséquence, à cause de l'hétérogénéité de la rétine, le modèle mathématique doit être adapté pour chaque zone de mesure de la rétine.

Alors, les connaissances acquises lors de cette première expérience seront utilisées pour développer une version améliorée du modèle mathématique (13), capable d'expliquer entièrement la fonction de réflectométrie de l'œil pour n'importe quelle zone de la rétine.

5.2. Application du modèle mathématique sur un signal théorique

5.2.1. Construction du signal théorique

Dans cette deuxième partie de ce chapitre, une analyse sur un signal théorique est réalisée afin de comprendre les différences induites par le modèle mathématique dans la zone spectrale de 590 nm à 680 nm. Ensuite, la qualité du modèle de correspondre aux données a été déterminée à l'aide des valeurs du chi-deux (χ^2) et du coefficient de corrélation.

On a supposé que la taille et les parois du vaisseau sanguin constituent les principaux facteurs qui modifient la fonction de réflectivité sur les artères et les veines par rapport à celles sur les capillaires. En ce qui concerne la taille, on fait allusion explicitement à la diffusion sur les globules rouge du sang.

Il est évident qu'une réflexion supplémentaire, dû à une ou plusieurs éléments qui ne sont pas pris en compte dans le modèle, perturbe la ressemblance entre le modèle et les résultats expérimentaux. Même si on a supposé que la réflexion supplémentaire soit donnée par les globules rouges du sang et par les parois du vaisseau, on ne connaît pas leurs spectres de réflexion pour les introduire dans le modèle.

Notre approche a été de construire un signal théorique, pour lequel les concentrations d'oxyhémoglobine et d'hémoglobine sont connues, et d'étudier l'influence des différents bruits aléatoires ou systématiques sur le calcul des concentrations d'oxyhémoglobine et d'hémoglobine.

L'équation qui décrit ce signal est donnée par la relation suivante :

$$\mathbf{Signal\ theorique} = n_1 S_{OHb} + n_2 S_{Hb} + n_3 S_{milieu\ oculaire} + n_4 S_{bruit} \quad (15)$$

ou $S_{Hb}(\lambda)$ – spectre de l'hémoglobine, $S_{OHb}(\lambda)$ – spectre de l'oxyhémoglobine, $S_{milieu\ oculaire}$ – spectre du milieu oculaire (construit d'après le modèle de Diaconu (Diaconu, 2009), S_{bruit} – spectre d'un bruit, n_1, n_2, n_3, n_4 – paramètres connus, établis apriori. Dans le modèle de Diaconu, l'absorption du milieu oculaire est aussi une inconnue qui est déterminée pour chaque sujet par la résolution du système d'équations 13.

Premièrement, nous nous sommes intéressés à déterminer l'influence sur la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine d'un bruit entaché au signal.

Deuxièmement, nous nous sommes intéressés à la qualité de l'ajustement du modèle sur les données bruitées.

Quelques notions de statistique.

L'objectif de la modélisation des données n'est pas seulement de trouver un modèle qui fonctionne, mais de trouver le meilleur modèle possible. En conséquence, la qualité de l'ajustement du modèle est primordiale pour exprimer si le modèle est pertinent ou non. Cette qualité est définie à travers l'analyse des différents écarts entre le modèle et les données, qui amènent à des mesures de résidu, de coefficient de corrélation ou de valeur du χ^2 .

Dans notre cas, les données observées sont celles du signal théorique (15) et les données calculées sont celles obtenues à l'aide du modèle (13). Les distances entre les points de données et le modèle sont appelées les résidus du modèle. La somme des résidus étant zéro, on travaille souvent avec le carré de ces résidus. Ainsi, dans notre étude on appelle les résidus du modèle, les carrés des écarts entre les données observées et le modèle théorique.

La somme pondérée de ces résidus est chi-deux, χ^2 . En calculant la valeur de χ^2 de cette manière, on a standardisé, ce qui signifie qu'on a tout rapporté à une même échelle, permettant ainsi de travailler sur des paramètres comparables entre eux. En utilisant le signal théorique (15), on ne peut pas déterminer les incertitudes de mesure, et en conséquence, on divise l'écart entre les valeurs observées et les valeurs théoriques calculées (valeurs obtenues en appliquant le modèle théorique (13)) par les valeurs théoriques.

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(De_i - Dc_i)^2}{Dc_i} \quad (16)$$

où De_i – données expérimentales, Dc_i – données calculées à partir du modèle.

La valeur du χ^2 traduit la qualité de l'ajustement de la modélisation mathématique obtenue. Plus faible est la valeur du χ^2 , meilleur est l'ajustement.

Également, nous avons calculé la corrélation entre les données et le modèle. Le coefficient de corrélation est compris entre -1 et 1. Plus il s'éloigne de zéro, meilleure est la corrélation.

5.3. Influence d'un bruit sur le calcul de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine

Une première démarche a été d'observer si les valeurs des concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine changent quand un bruit est ajouté au signal. L'absorption du cristallin a été introduite a priori dans le signal théorique (15) et les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine ont été maintenues à 40% et 60% respectivement.

Les erreurs des concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine induites par l'introduction d'un bruit, par rapport aux concentrations théoriques, ont été calculées en utilisant les formules suivantes :

$$erreurHb(\%) = \frac{(\%Hb_{théorique} - \%Hb_{calculé})}{\%Hb_{théorique}}$$

(17)

$$erreurOHb(\%) = \frac{(\%OHb_{théorique} - \%OHb_{calculé})}{\%OHb_{théorique}}$$

(18)

où $\%Hb_{théorique}$ et $\%OHb_{théorique}$ sont les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine connues ($\%Hb_{théorique} = 40\%$, $\%OHb_{théorique} = 60\%$) qui ont été introduites a priori dans le signal théorique (15). $\%Hb_{calculé}$ et $\%OHb_{calculé}$ sont les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine, calculées à partir de notre modèle (13), afin d'expliquer le signal théorique avec le bruit (15).

5.3.1. Bruit de l'appareil

Généralement, le signal mesuré subit différentes déformations entraînées par les bruits. Il est d'usage de caractériser le bruit par sa puissance. De ce fait, l'influence du bruit sur un signal est donnée par le rapport signal bruit qui est le rapport de la puissance du signal non bruité sur la puissance du bruit. Ce rapport est fréquemment exprimé dans une échelle logarithmique. Plus le rapport est élevé, meilleure sera la qualité du signal mesuré.

Habituellement, le signal mesuré connaît des variations qui ont à l'origine un bruit interne de l'appareil. Il est intéressant de connaître l'influence du bruit de l'appareil sur le signal.

Ainsi, le bruit de l'appareil a été déterminé et introduit dans l'équation 15.

$$\textit{Signal theorique} = n_1 S_{OHb} + n_2 S_{Hb} + n_3 S_{milieu\ oculaire} + n_4 S_{bruit\ appareil} \quad (19)$$

Le modèle mathématique (13) a été appliqué pour expliquer ce signal théorique (19). Les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine ont été calculées dans plusieurs cas, en augmentant le bruit.

La Figure 20, la Figure 21 et la Figure 22 montrent l'ajustement du modèle mathématique au signal théorique distordant avec le bruit de l'appareil (19) et les erreurs de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine en fonction du rapport signal bruit.

Les valeurs de χ^2 et les coefficients de corrélation ont été également calculés.

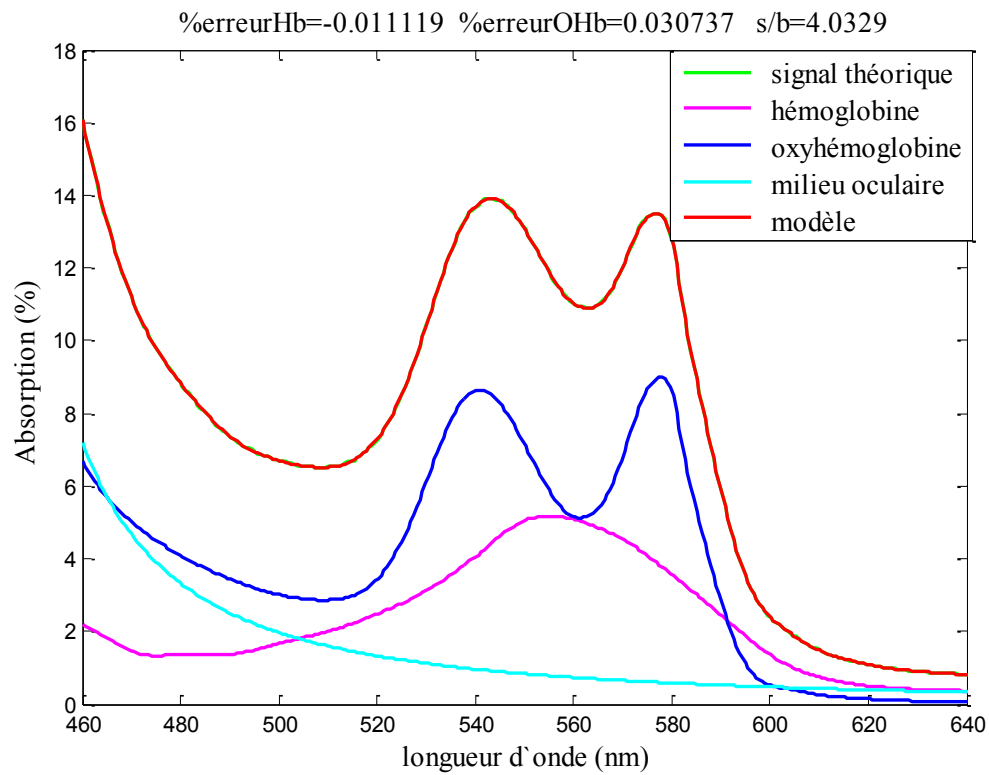


Figure 20. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 19) pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le rapport signal bruit = 4,03, la valeur de $\chi^2=0,0117$ et le coefficient de corrélation = 0,9999

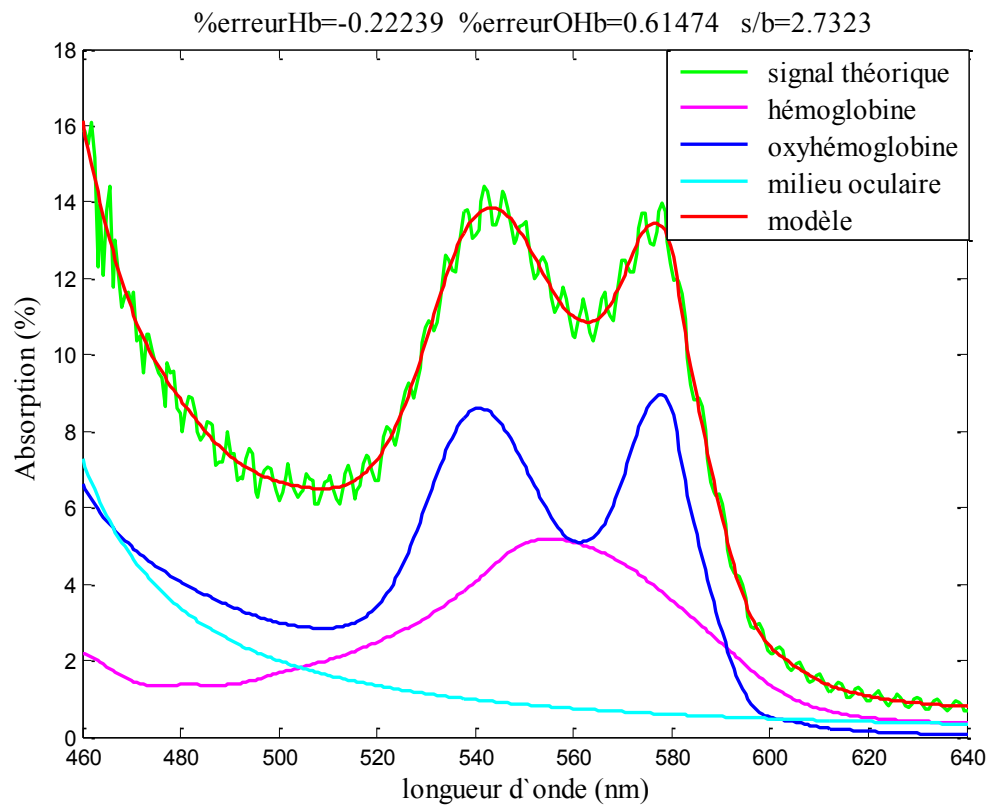


Figure 21. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 19) pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le rapport signal bruit = 2,73, la valeur de $\chi^2=4,7525$ et le coefficient de corrélation = 0,9977

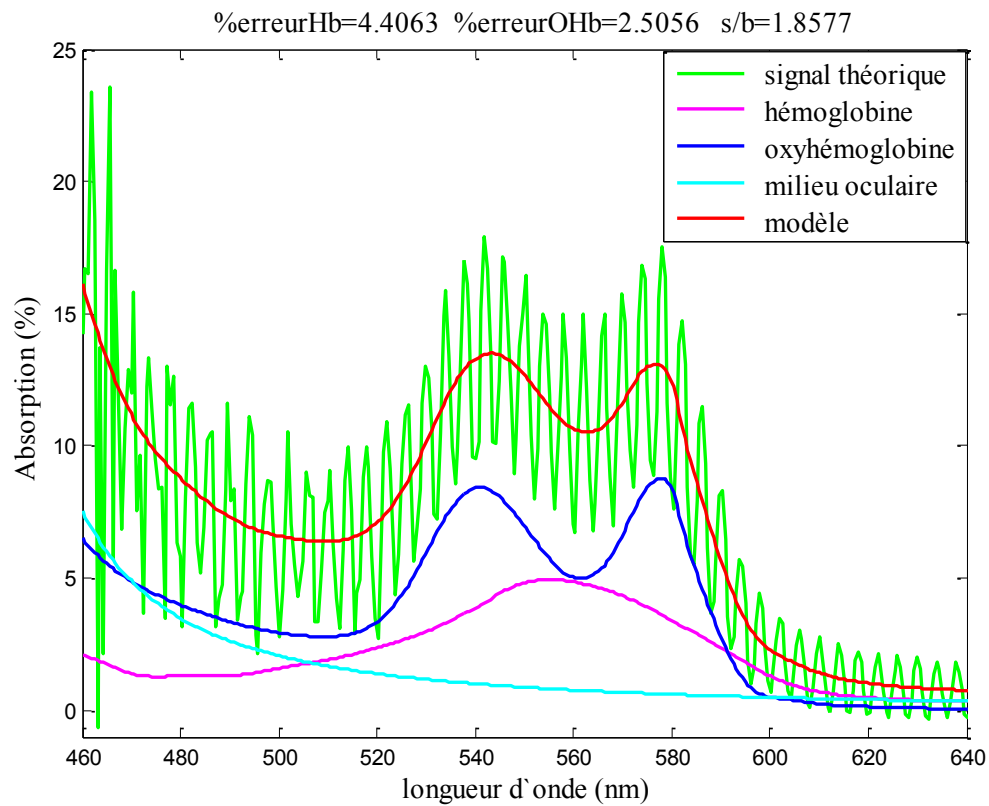


Figure 22. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 19) pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le rapport signal bruit = 1,85, la valeur de $\chi^2=237,982$ et le coefficient de corrélation = 0,9037

La Figure 23 et la Figure 24 montrent la relation entre la valeur de χ^2 et respectivement le coefficient de corrélation, et les erreurs des concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine. Même en réduisant le rapport signal bruit par l'augmentation du bruit de l'appareil, les erreurs des concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine obtenues sont plus petites que 7%. Donc, une erreur relative petite pour un bruit grand. En acceptant une erreur de 5% dans l'estimation de la concentration d'hémoglobine ou d'oxyhémoglobine, on peut accepter que le modèle décrit convenablement les données jusqu'à une valeur maximale d'ajustement χ^2 de 310 (Figure 23) et un coefficient de corrélation de 0,87 (Figure 24). Une erreur sur l'estimation de la concentration d'hémoglobine ou d'oxyhémoglobine d'approximativement 5% correspond à un rapport signal bruit de 1,85 (Figure 22). Les modifications, apportées à l'appareil par Diaconu(Diaconu, 2009) par l'introduction d'une CCD refroidie, ont amélioré le rapport signal bruit et celui-ci est toujours plus grand que 2,50. Ainsi, le bruit de l'appareil influence l'estimation de la concentration en oxygène dans un pourcentage de 2%. Ce rapport, signal bruit de l'appareil (S/N), peut être calculé pour chaque expérience et, en conséquence, le pourcentage des erreurs qui sont induites peut être déduit.

En généralisant, pour un bruit interne de l'appareil grand ($S/N < 2$), les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine changent dans une proportion de 7%, mais pour notre appareil avec un rapport signal bruit plus grande que 2,5 ($S/N > 2,5$), ces concentrations changent dans une proportion plus petite de 2%.

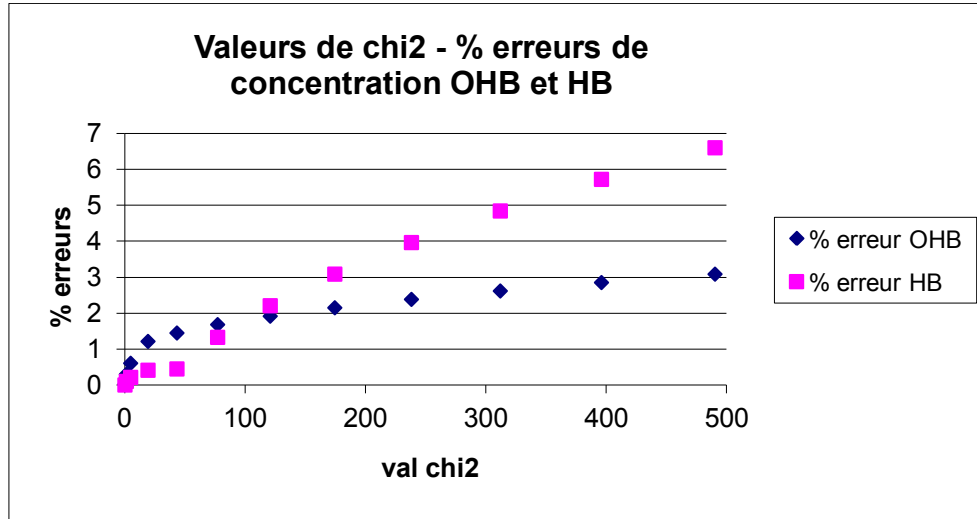


Figure 23. Relation entre la valeur de χ^2 et le pourcentage d'erreur de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.

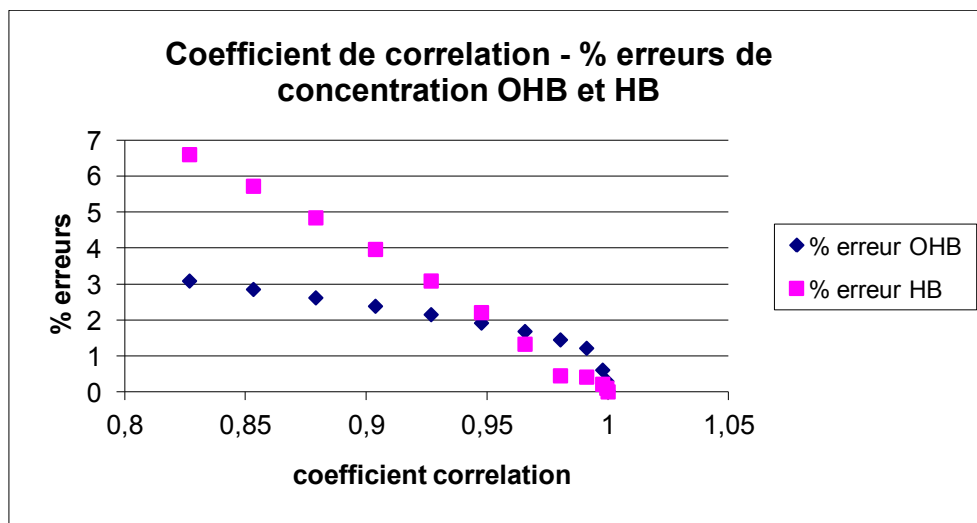


Figure 24. Relation entre le coefficient de corrélation et le pourcentage d'erreur de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.

5.3.2. Bruit aléatoire

Également, on sait que le signal mesuré connaît des variations qui ont à l'origine un bruit aléatoire. Ainsi, un bruit blanc a été généré dans le Matlab et introduit dans l'équation 15.

$$\textit{Signal theorique} = n_1S_{OHb} + n_2S_{Hb} + n_3S_{milieu\ oculaire} + n_4S_{bruit\ blanc} \quad (20)$$

La même démarche a été suivie et les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine ont été calculées en augmentant le bruit blanc. La Figure 25, la Figure 26 et la Figure 27 montrent les erreurs de concentration et l'ajustement du modèle mathématique au signal théorique distordant avec un bruit blanc (équation 20), en fonction du rapport signal bruit. Également, la valeur du χ^2 et le coefficient de corrélation ont été calculés.

Ce bruit blanc à caractère purement aléatoire, qui vient se superposer au signal théorique sous une forme essentiellement additive, dégrade le rapport signal bruit. De plus, les erreurs induites sont d'autant plus grandes que le bruit est fort. Par exemple, pour un bruit blanc grand ($S/N < 4,5$), l'erreur pour la concentration d'hémoglobine dépasse 15%, Figure 28 et Figure 29.

En acceptant une erreur de 5% pour l'évaluation de la concentration d'hémoglobine ou d'oxyhémoglobine, on peut conclure que la qualité de l'ajustement est acceptable jusqu'à un facteur maximale pour χ^2 de 80 et pour le coefficient de corrélation de 0,98.

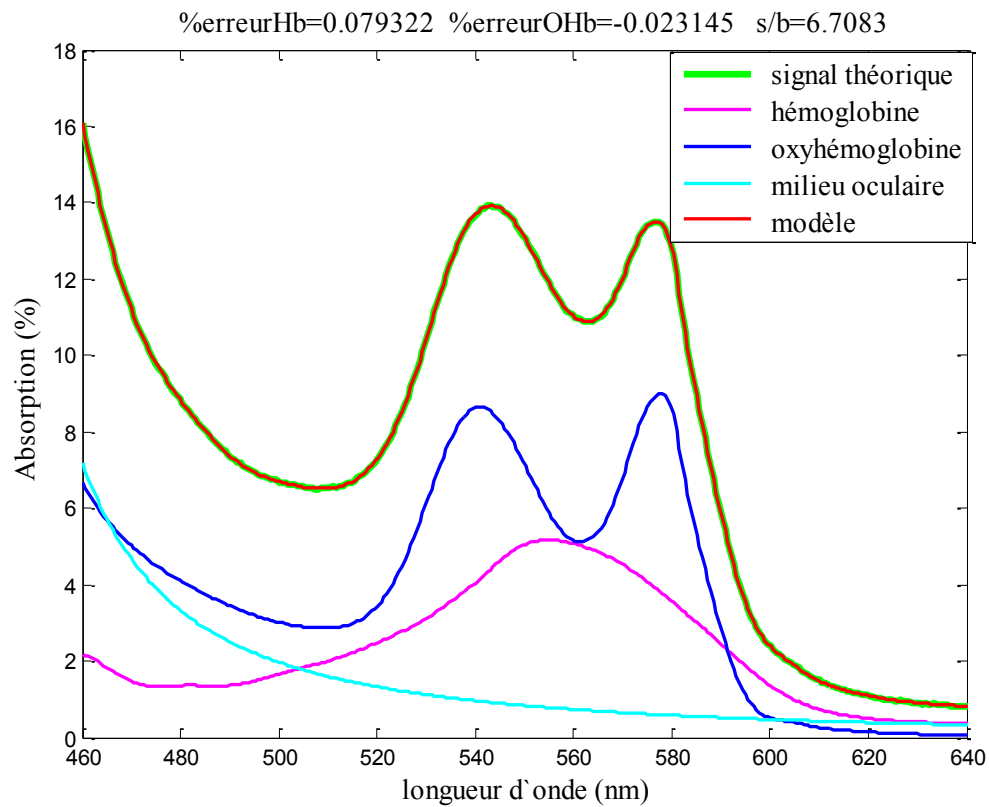


Figure 25. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 20) pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le rapport signal bruit = 6,70, la valeur de $\chi^2=0,0143$ et le coefficient de corrélation = 0,9999

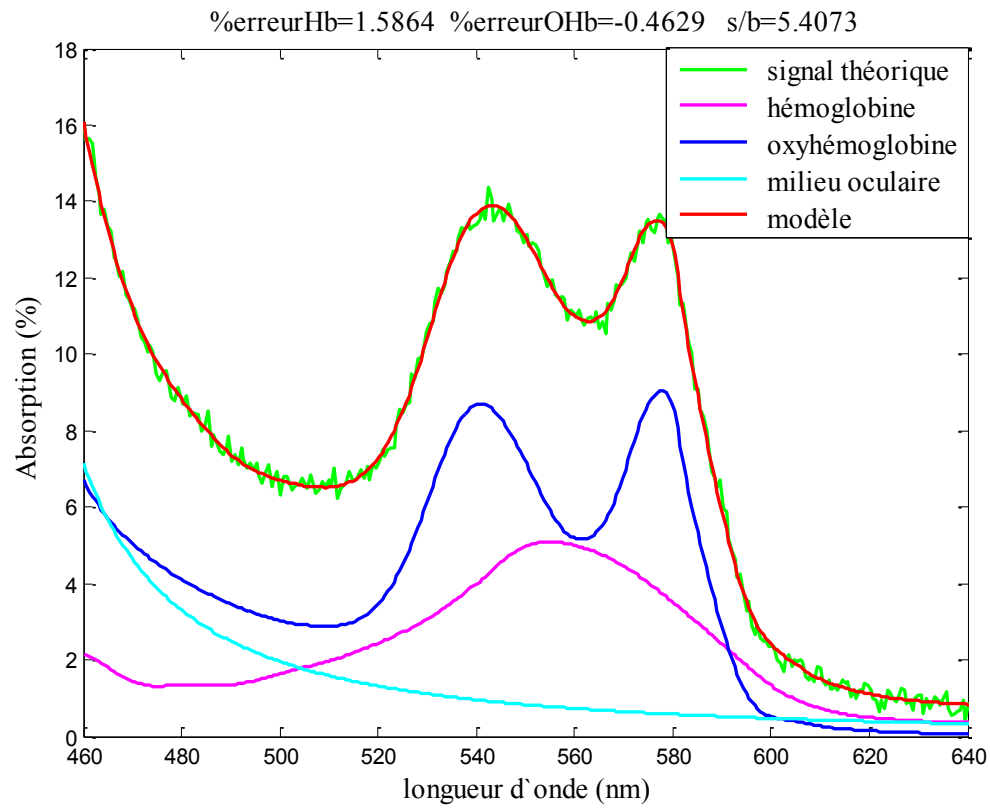


Figure 26. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 20) pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le rapport signal bruit = 5,40, la valeur de $\chi^2=5,6316$ et le coefficient de corrélation = 0,9991

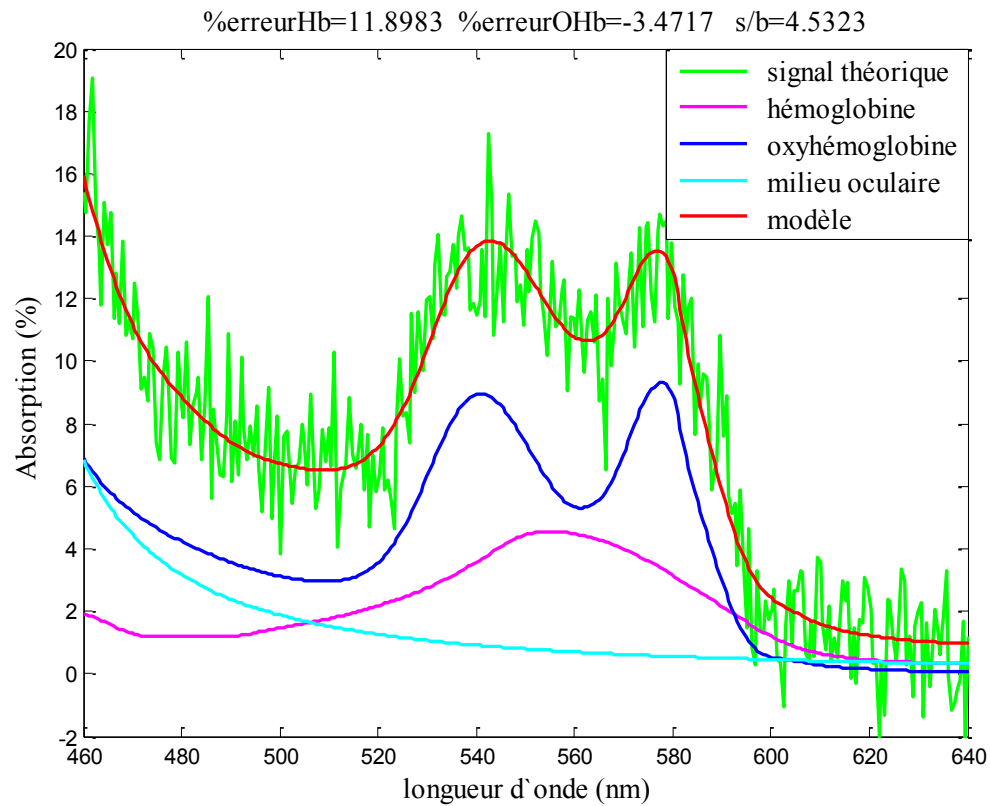


Figure 27. Ajustement entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 20) pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le rapport signal bruit = 4,53, la valeur de $\chi^2=401,263$ et le coefficient de corrélation = 0,9333

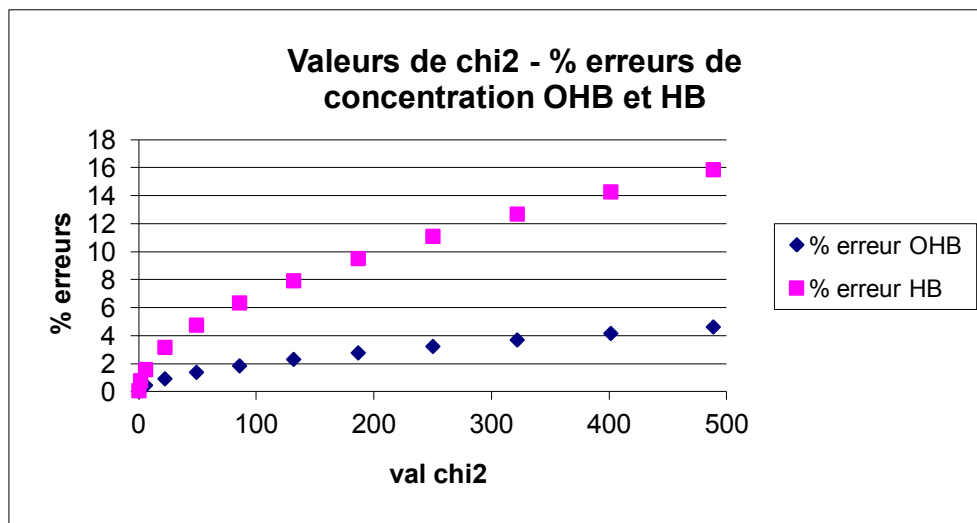


Figure 28. Relation entre la valeur de χ^2 et le pourcentage d'erreur de concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.

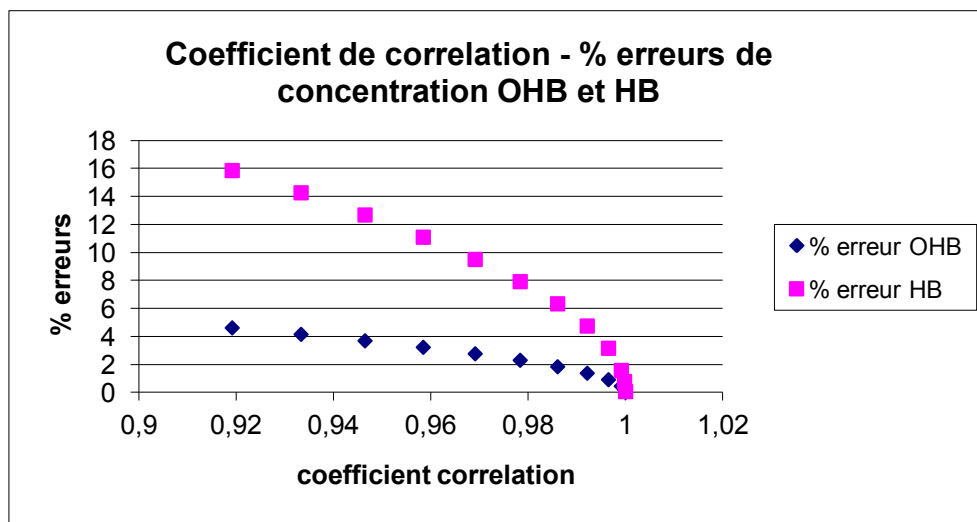


Figure 29. Relation entre le coefficient de corrélation et le pourcentage d'erreur de concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.

Généralement, si un bruit est attaché à un signal, il est nécessaire de supprimer tout, ou du moins une partie, de ce bruit de mesure afin de récupérer le signal dont l'information puisse être utilisable. Dans ce cas, les filtrages sont indispensables et devront être choisis avec soin. Si l'intensité du signal est forte et celle du bruit faible, on peut couper les variations de faible amplitude. Si les fréquences du signal et du bruit sont différentes, on peut filtrer en fonction de la fréquence. Si le signal est régulier et le bruit est aléatoire, on peut augmenter le temps d'acquisition.

En conséquence, si le rapport signal bruit est petit et si un filtrage s'avère nécessaire celui-ci doit être fait en fonction des caractéristiques du signal et du bruit.

5.3.3. Influence d'un signal supplémentaire ajouté au signal de réflectométrie sur le calcul de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine

La possibilité que la fonctionne de réflectométrie soit contaminée par un signal supplémentaire inconnu est réelle. Des réflexions supplémentaires qui perturbent la ressemblance entre le modèle et les résultats expérimentaux ont été remarquées. Ces réflexions supplémentaires sont dues à d'autres composants de l'œil, mais nous ne connaissons ni leurs spectres pour la gamme de longueurs d'onde utilisée ni leurs contributions au calcul de l'oxygénation sanguine. La prise en compte des caractéristiques de ce spectre

du signal supplémentaire dans le modèle devrait nous permettre d'améliorer la précision des estimations en concentration d'oxygène, mais aussi peut-être de nous apporter un supplément d'information sur les propriétés des tissus observées.

Le but a été de quantifier la contribution d'un signal supplémentaire à la fonction de réflectométrie sur le calcul de l'oxygénation sanguine et d'établir une méthode pour dresser la forme spectrale de ce signal. Pour confirmer l'adéquation du modèle aux données, la valeur du χ^2 et le coefficient de corrélation ont été calculés.

Le signal inconnu a été représenté par une fonction gaussienne. L'influence de cette fonction gaussienne, nommée le bruit gaussien, sur le modèle qui calcule les concentrations de d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine a été étudiée.

Ainsi, un bruit avec la forme caractéristique d'une fonction gaussienne, ayant différentes largeurs, a été introduit dans le signal théorique (21), avec le maximum positionné à différentes longueurs d'onde de la zone spectrale.

$$\begin{aligned} \mathbf{Signal\ theorique} = n_1 S_{OHb} + n_2 S_{Hb} + n_3 S_{milieu_{oculaire}} + n_4 S_{bruit_{blanc}} + \\ + n_5 S_{bruit_{gaussien}} \end{aligned} \quad (21)$$

où, n_1, \dots, n_5 – les contributions de chaque signature spectrale au signal théorique, établies a priori par nous, S_{OHb} – signature spectrale de l'oxyhémoglobine, S_{HB} – signature spectrale de l'hémoglobine, $S_{milieu_{oculaire}}$ – signature spectrale du milieu oculaire, $S_{bruit_{blanc}}$ – spectre d'un bruit blanc et

$S_{\text{bruit_gaussien}}$ – fonction gaussienne $N(\mu_i, \sigma^2)$ avec $450\text{nm} \leq \mu_i \leq 650\text{nm}$ et $5\text{nm} \leq \sigma \leq 40\text{nm}$.

Initialement, dans le signal théorique, la fonction gaussienne introduite avait une largeur constante ($\sigma=\text{constant}$) et seulement la position du maxima a été modifiée dans l'intervalle [450nm; 650nm]. Ensuite, la largeur de cette fonction a été variée dans l'intervalle [5nm; 40nm]. Les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine ont été calculées avec le modèle (13) et comparées avec celles introduites a priori ($\%Hb_{\text{théorique}}=40\%$, $\%OHb_{\text{théorique}}=60\%$) dans le signal théorique.

La Figure 30 représente un exemple de variation des erreurs de concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine, obtenues en changeant la position de maximum du bruit gaussien dans la zone spectrale de 450nm à 650nm. Des erreurs de concentration d'oxyhémoglobine et d'hémoglobine plus grandes que 5% ont été obtenues quand le bruit gaussien a été positionné dans la zone de longueurs d'onde de 510 nm à 650 nm. De plus, les erreurs sont d'autant plus grandes que le maximum du spectre du bruit gaussien est situé autour de 520 nm (longueur d'onde correspondante au minimum d'absorption de d'oxyhémoglobine) et 560 nm (longueur d'onde correspondante au maximum d'absorption d'hémoglobine et au minimum d'absorption d'oxyhémoglobine). Pour la zone spectrale de 450 nm à 510 nm, l'introduction d'un signal supplémentaire n'affecte pas les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.

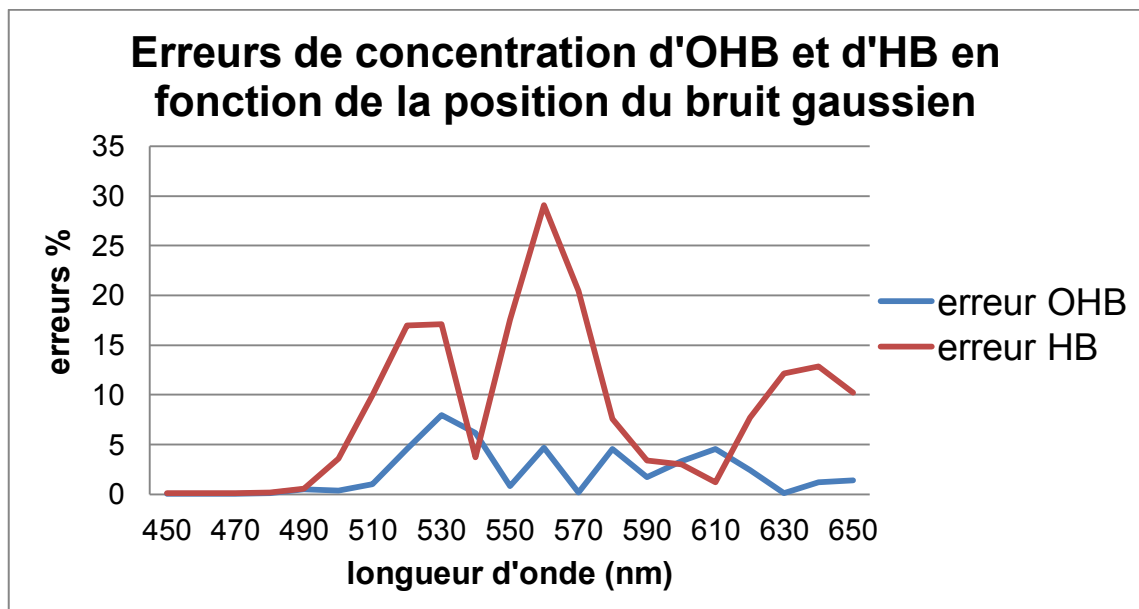


Figure 30. Pourcentages des erreurs de concentration d'oxyhémoglobine et d'hémoglobine en fonction de la position spectrale du bruit gaussien.

Pour que notre modèle explique le signal théorique avec le bruit (21), il faut que la courbe du modèle mathématique (13) s'ajuste à ce signal.

Le résidu, c'est-à-dire la somme des carrés des écarts entre la valeur du signal et la valeur prédite par le modèle, a été calculé pour chaque longueur d'onde. Ces écarts aux carrés seront toujours positifs et d'autant plus grands que le modèle ne s'ajuste pas au signal qu'on veut modéliser. Ensuite, la valeur du χ^2 et le coefficient de corrélation ont été déterminés en fonction de la position spectrale du bruit gaussien.

Une grande variation a été remarquée, autant pour le coefficient de corrélation (Figure 32) que pour la valeur de χ^2 (Figure 31), dans la zone spectrale de 510 nm à 650 nm.

Généralement, la valeur de χ^2 est grande dans cette zone spectrale, mais elle atteint un minimum autour de 550nm (Figure 31). Également, le coefficient de corrélation est plus petit que 1, ayant les valeurs maximales dans les zones spectrales de 450 nm à 510 nm et de 610 nm à 650 nm et il atteint aussi un maximum autour de 550nm (Figure 32).

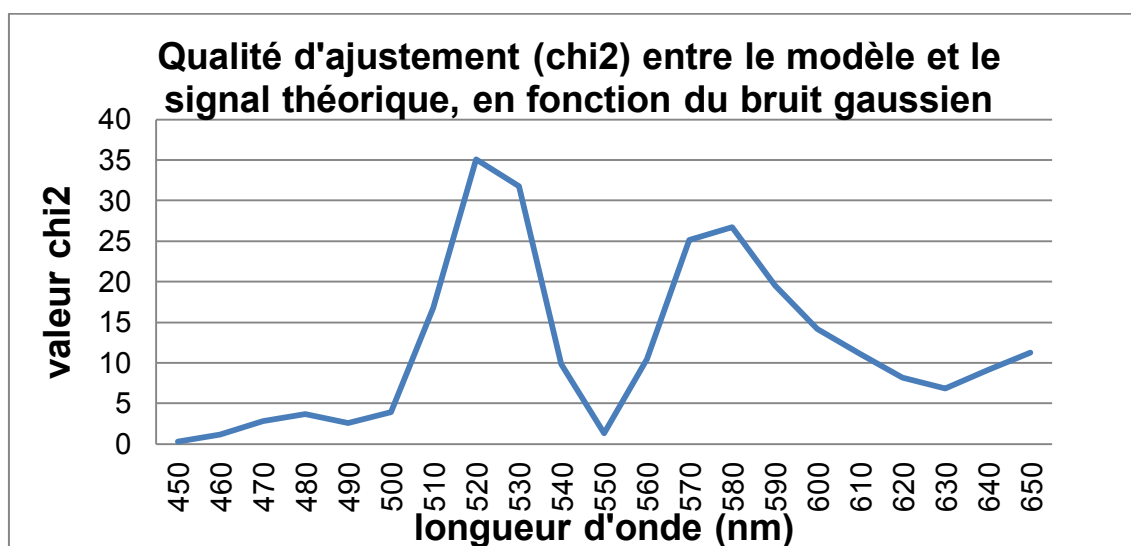


Figure 31. Valeur de χ^2 , désignant la qualité d'ajustement entre le modèle (équation 13) et le signal théorique (équation 21), en fonction de la position spectrale du bruit gaussien.

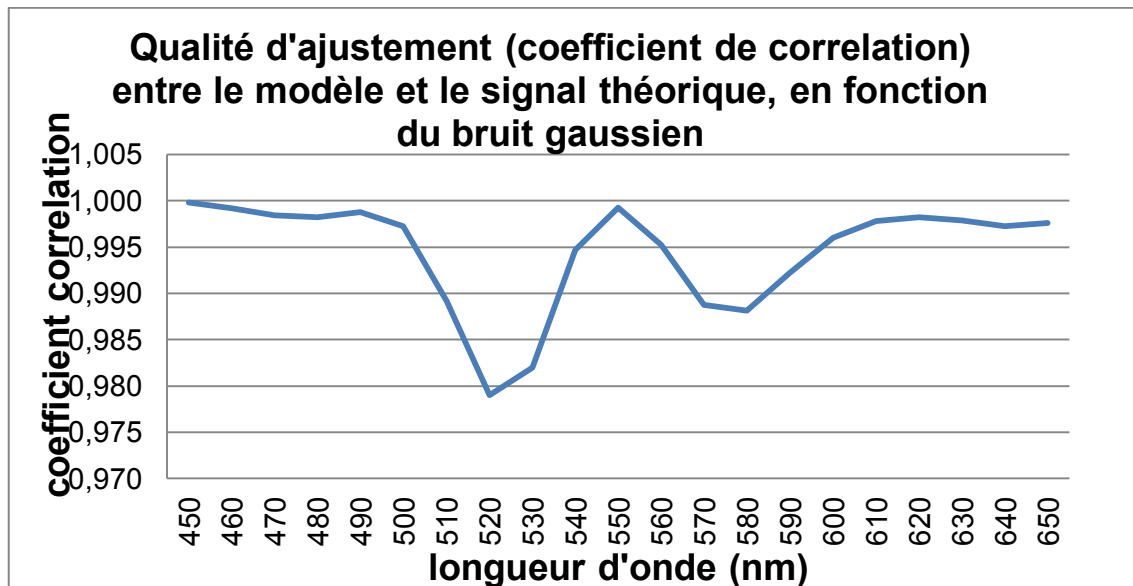


Figure 32. Coefficient de corrélation, désignant la qualité d'ajustement entre le modèle (équation 13) et le signal théorique (équation 21), en fonction de la position spectrale du bruit gaussien.

D'après la Figure 31, et la Figure 32, un signal (bruit) supplémentaire, introduit à 550 nm dans notre signal théorique, donne un minimum pour la valeur de χ^2 , ce qui se traduit par un ajustement acceptable entre le modèle mathématique et le signal théorique. Cependant, les valeurs calculées de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine sont erronées.

La Figure 33, montre un exemple de cet ajustement et les erreurs de calcul pour la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.

Cependant, après une analyse visuelle, on a constaté que ce n'est pas un meilleur ajustement entre le modèle et le signal théorique.

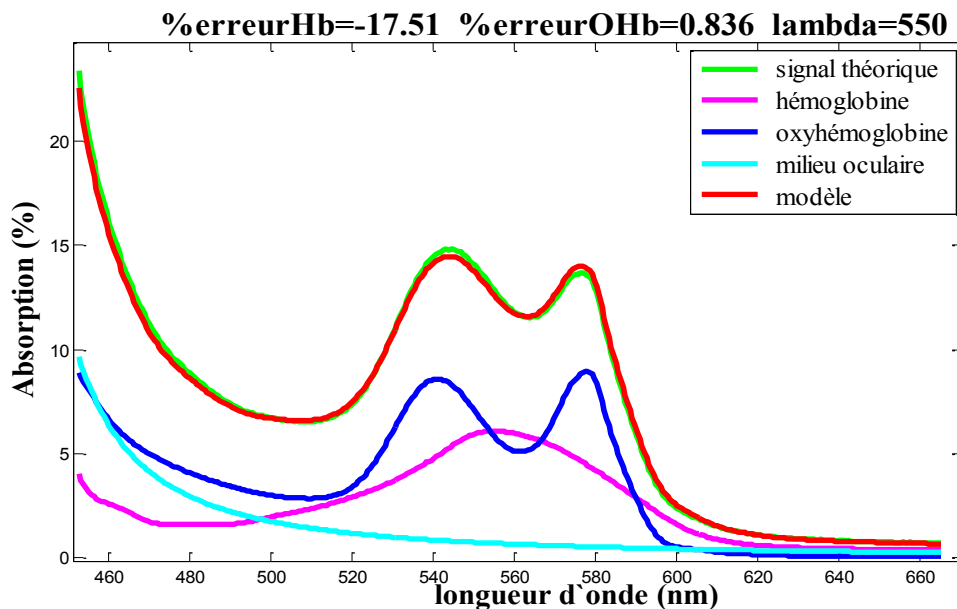


Figure 33. Ajustement, pour la zone spectrale de 450nm à 650nm, entre le modèle mathématique (équation 13) et le signal théorique (équation 21) ayant le bruit gaussien introduit à la longueur d'onde 550nm.

La valeur de $\chi^2=1,2868$ et le coefficient de corrélation = 0,9992

En conséquence, on ne pouvait pas se confier totalement au calcul de la valeur de χ^2 ou du coefficient de corrélation.

Une analyse a été réalisée afin de mettre en évidence une relation entre les erreurs de concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine et le coefficient de corrélation (Figure 34) et la valeur de χ^2 (Figure 35) respectivement.

Les résultats de la Figure 34 et la Figure 35 indiquent que la corrélation entre les erreurs de concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine et les deux mesures associées à la qualité d'ajustement d'un modèle aux données est faible.

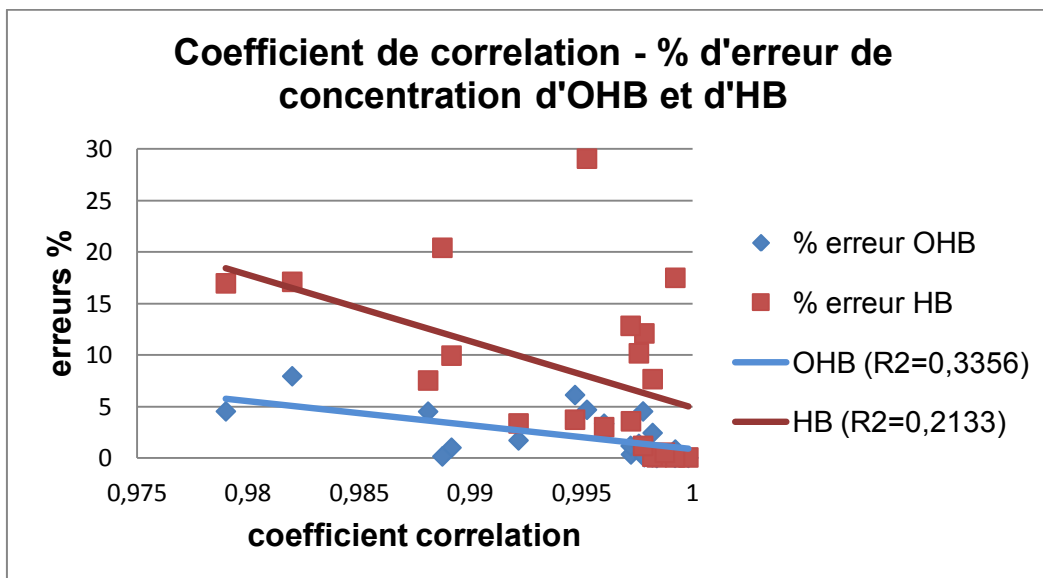


Figure 34. Relation entre le coefficient de corrélation du modèle - signal théorique et le pourcentage d'erreur de concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.

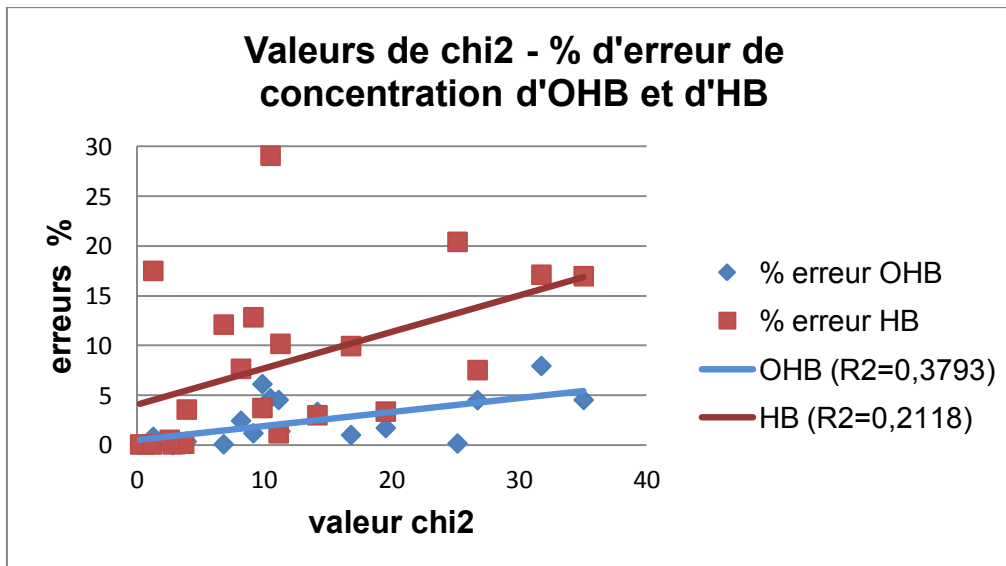


Figure 35. Relation entre la valeur de χ^2 du modèle - signal théorique et le pourcentage d'erreur de concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.

En conséquence, la valeur de χ^2 peut nous renseigner sur la qualité d'ajustement, mais elle ne semble pas un indicateur fiable pour préciser si les valeurs de concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine sont erronées.

La même démarche a été suivie avec des différentes largeurs de la fonction du bruit gaussien et même avec deux gaussiennes additionnées, ce qui donne une fonction spectrale du bruit supplémentaire d'une forme plus complexe.

Des résultats semblables ont été obtenus pour une forme positive de la fonction gaussienne représentant une absorption et également pour une forme négative représentant une réflexion.

Généralement, un bruit supplémentaire d'une forme quelconque, qui peut être causé par une absorption, une diffusion ou une réflexion d'une composante inconnue du milieu étudié, induit des erreurs dans le calcul des concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine si celui-ci n'est pas prédit par le modèle.

De plus, les erreurs pourraient dépasser beaucoup la limite acceptable de 5%, si le bruit supplémentaire est situé dans l'intervalle de longueurs d'onde de 510 nm à 650 nm. Également, les valeurs calculées de χ^2 varient de manière aléatoire par rapport à un tel bruit.

Autrement dit, si une déclaration sur la validité du modèle était nécessaire, la valeur de χ^2 pourrait être calculée pour avoir une idée globale de l'ajustement du modèle, mais ce n'est pas un outil efficace pour discuter la qualité du notre modèle mathématique.

5.3.4. Détection et la récupération du signal supplémentaire

La présence dans notre signal mesuré d'une réflexion supplémentaire, qui change l'ajustement du modèle (13) à la fonction spectrale de réflectométrie de l'œil, a été supposée. La conclusion du paragraphe précédant, obtenue sur un signal théorique, a été que le modèle pourrait fournir des valeurs erronées des concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine, et que la fonction de corrélation et la valeur du χ^2 ne peuvent pas prédire ces erreurs.

Subséquentement, nous proposons une méthode de détecter et récupérer cette réflexion supplémentaire afin de l'extraire du signal mesuré pour réduire l'erreur de computation de notre modélisation.

Pour déterminer les signatures spectrales des divers composants de l'œil qui n'ont pas été pris en compte dans notre modèle, nous avons utilisé une technique connue en spectroscopie. Cette technique permet de détecter, dans un spectre de raies, des éléments inconnus présents dans un échantillon par l'introduction des fonctions Gauss ou Lorentz.

En travaillant aussi sur le signal théorique avec un bruit gaussien additionnel, nous avons introduit dans le modèle mathématique une fonction multi-gaussienne afin de détecter et récupérer ce bruit supplémentaire.

Notre signal théorique est celui donnée par la formule suivante:

$$Signal_theorique = n_1 S_{OHb} + n_2 S_{Hb} + n_3 S_{milieu_oculaire} + n_4 S_{bruit_blanc} + n_5 S_{bruit_gaussien}$$

(22)

où, n_1, \dots, n_5 – contributions établies par nous de chaque signature spectrale au signal théorique, S_{OHb} – signature spectrale de l'oxyhémoglobine, S_{HB} – signature spectrale de l'hémoglobine, $S_{milieu_oculaire}$ – signature spectrale du milieu oculaire, S_{bruit_blanc} – spectre d'un bruit blanc et $S_{bruit_gaussien}$ – fonction obtenue d' un ou deux fonctions gaussiennes $N(\mu_i, \sigma^2)$ additionnées, avec $510nm \leq \mu_i \leq 610nm$ et $10nm \leq \sigma \leq 50nm$.

Ensuit, dans le modèle mathématique (13), a été introduit une fonction multi-gaussienne.

$$A(\lambda) = m_1 S_{Hb}(\lambda) + m_2 S_{OHb}(\lambda) + m_3 (\lambda)^{-n} + m_4 k + \sum_{i=1}^n m_{4+i} N(\mu_i, \sigma^2) \quad (23)$$

$S_{Hb}(\lambda)$ – signature spectrale de l'hémoglobine, $S_{OHb}(\lambda)$ – signature spectrale de l'oxyhémoglobine, m_1, m_2, m_3, m_4, k, n et m_{4+i} avec $1 \leq i \leq 100$ – connues, $N(\mu_i, \sigma^2)$ fonctions gaussiennes, avec $450nm \leq \mu_i \leq 650nm$ et $2nm \leq \sigma \leq 5nm$.

La Figure 36, la Figure 37 et la Figure 38 montrent trois exemples des bruits supplémentaires introduits dans le signal théorique et retrouvés par le nouveau modèle (23). Les spectres de ces signaux représentent l'enveloppe de plusieurs fonctions gaussiennes introduites par le nouveau modèle mathématique(23). Également, les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine ont été calculées avec le nouveau modèle mathématique et les erreurs ont été déterminées.

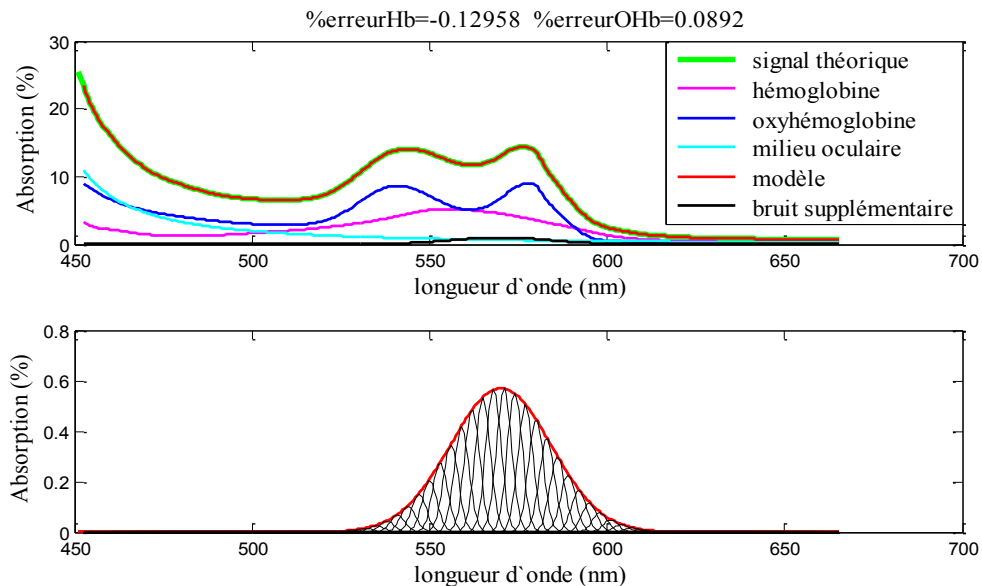


Figure 36. Exemple d'un bruit supplémentaire introduit dans le signal théorique (équation 22) et retrouvé par le nouveau modèle mathématique (équation 23).

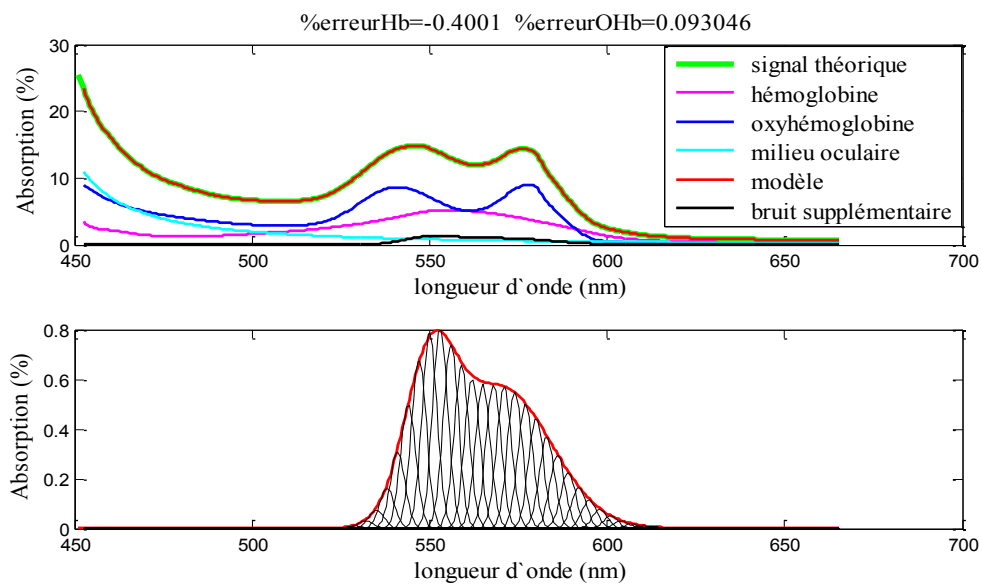


Figure 37. Exemple d'un bruit supplémentaire introduit dans le signal théorique (équation 22) et retrouvé par le nouveau modèle mathématique (équation 23).

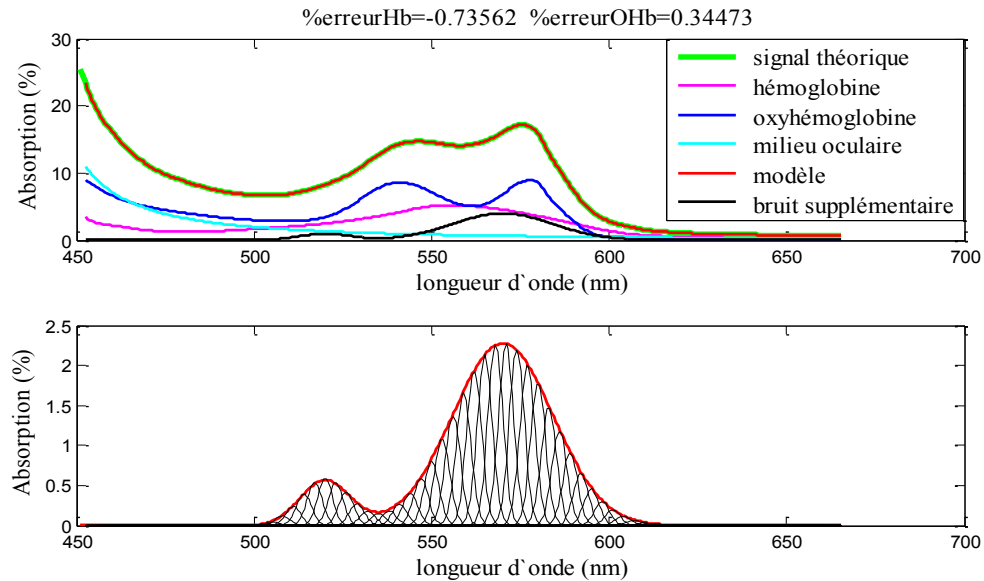


Figure 38. Exemple d'un bruit supplémentaire introduit dans le signal théorique (équation 22) et retrouvé par le nouveau modèle mathématique (équation 23).

Diverses formes spectrales, autant positives que négatives, du signal supplémentaire ont été utilisées et le modèle a toujours retrouvé ces formes à l'aide de la fonction multi-gaussienne.

Les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine ont été calculées chaque fois et les erreurs retrouvées étaient plus petites 0,9%. Ainsi, le signal supplémentaire, issu de la réflexion de la lumière sur d'autres composantes de l'œil, et qui n'est pas considéré comme des bruits aléatoires, peut être retrouvé par la fonction multi-gaussienne. Ce signal inconnu a été trouvé par l'extension du nombre d'inconnues du modèle mathématique. Tandis que le nombre d'inconnues (105) ne dépasse pas le nombre d'équations (400), le système d'équations (23) reste surdéterminé et il peut être résolu.

En conclusion, si une réflexion supplémentaire est détectée dans le signal mesuré, sa fonction spectrale peut être récupérée par la fonction multi-gaussienne sans que les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine calculées soient erronées et sans que la qualité d'ajustement soit corrompue (χ^2 très petit et le coefficient de corrélation ≈ 1).

5.4. Influence de l'absorption du milieu oculaire sur le calcul de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.

L'absorption du milieu oculaire, plus précisément du cristallin, est différente d'un sujet à l'autre et dépend de l'âge.

Le but de cette étape a été d'observer si le modèle mathématique (23) explique le signal théorique (20) pour n'importe quelle absorption du milieu oculaire et si les valeurs de concentration d'oxygène changent quand l'absorption du cristallin est différente de celle introduite a priori (initialement) dans le signal théorique. Donc, la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine ont été maintenues à 40% et 60% respectivement et le spectre de bruit est celui d'un bruit blanc (20).

Le modèle mathématique a été contraint de prendre des différentes valeurs de densité pour la fonction d'absorption du cristallin.

Pour une sous-estimation de la valeur d'absorption de cristallin, il n'y a pas de ressemblance entre les deux courbes et en plus, les concentrations calculées sont très différentes en comparaison avec ceux établies par nous. Dans

l'exemple de la Figure 39, la concentration d'hémoglobine calculée par rapport à la concentration réelle (paramètre établie initialement dans le signal théorique) a diminué de 21% et la concentration d'oxyhémoglobine calculée par rapport à la concentration réelle (paramètre établie initialement dans le signal théorique) a augmenté de 6%. Également, pour une surestimation de la valeur d'absorption de cristallin, il n'y a pas de ressemblance entre la courbe du signal théorique et la courbe du modèle. Dans l'exemple de la Figure 40, la concentration d'hémoglobine calculée a diminué de 4% par rapport a la concentration réelle et la concentration d'oxyhémoglobine calculée a augmenté de 5% par rapport a la concentration réelle.

Par contre, pour une même courbe d'absorption du cristallin, les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine calculées sont celles réelles (40% et 60%) avec une petite variation de 0,03% (Figure 41).

Plusieurs possibilités ont été essayées et même pour des petites variations d'absorption- diffusion du milieu oculaire, la ressemblance n'est pas parfaite et les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine varient aussi entre 4% et 5%.

La comparaison entre les deux courbes a été faite visuellement et aussi en calculant la valeur de χ^2 et le coefficient de corrélation (Figure 39, Figure 40 et Figure 41). La valeur du χ^2 a été grande pour les exemples présentées dans la Figure 39, et la Figure 40 (respectively 4,91 et 5,96) et elle a été petite pour la Figure 41(0,013).

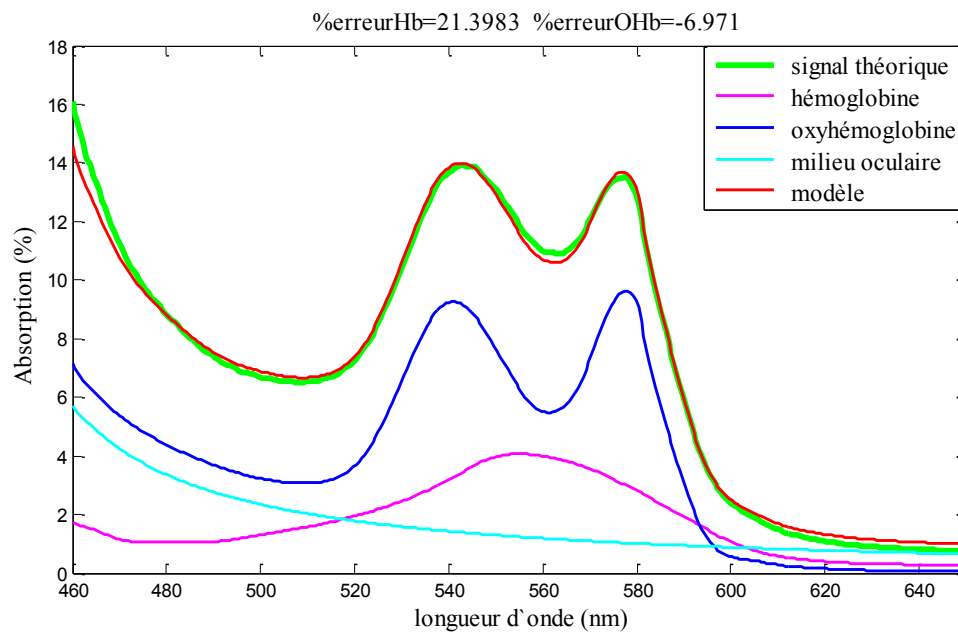


Figure 39. Ajustement, pour la zone spectrale de 450nm à 650nm, entre le modèle mathématique (équation 23) et le signal théorique (équation 20) ayant l'absorption - diffusion du milieu oculaire plus petite que celle réelle.

La valeur de $\chi^2=4,9127$ et le coefficient de corrélation = 0,9993

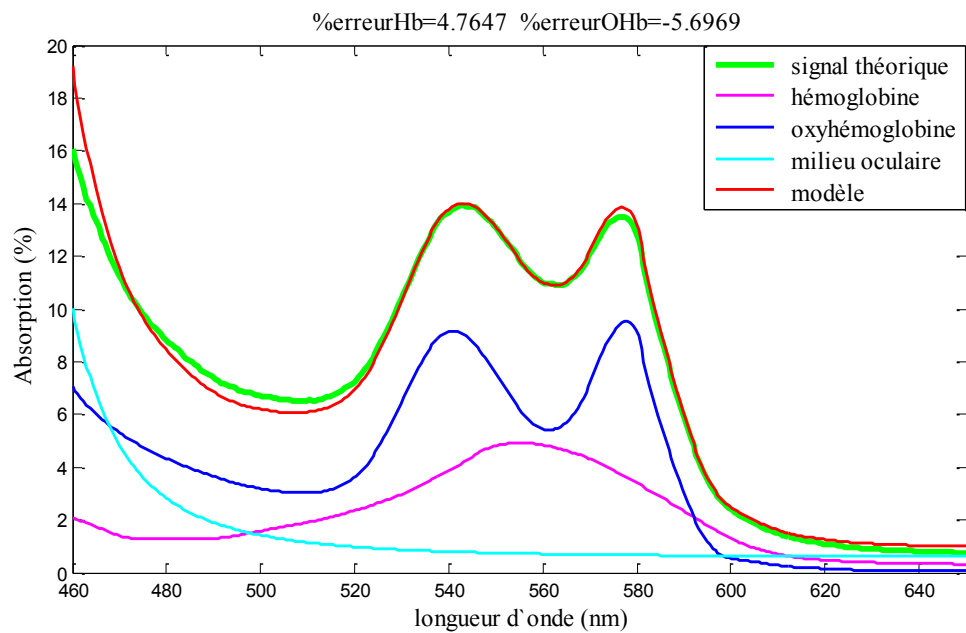


Figure 40. Ajustement, pour la zone spectrale de 450nm à 650nm, entre le modèle mathématique (équation 23) et le signal théorique (équation 20) ayant l'absorption - diffusion du milieu oculaire plus grande que celle réelle.

La valeur de $\chi^2=5,9682$ et le coefficient de corrélation = 0,9979

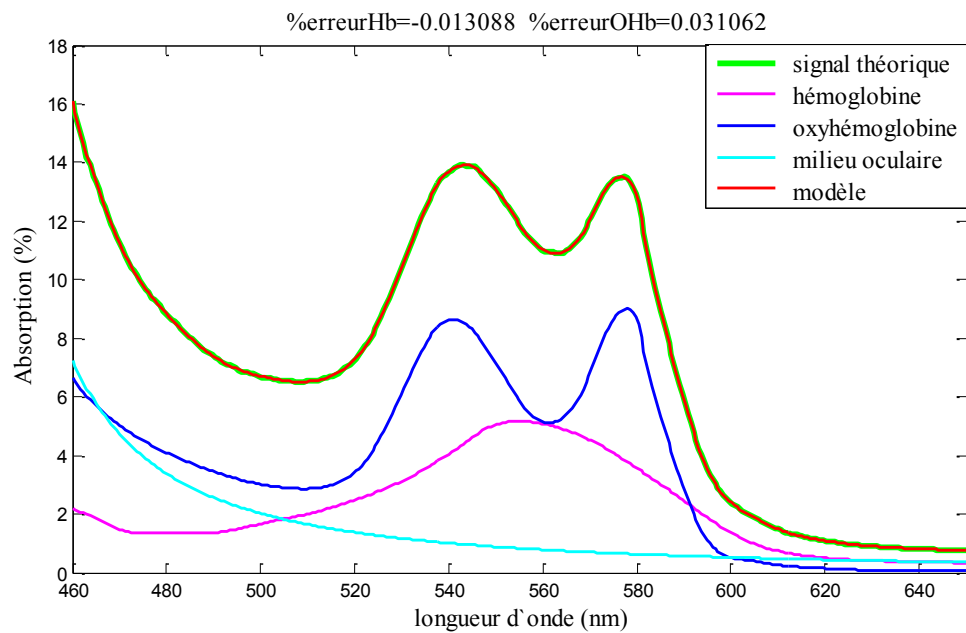


Figure 41. Ajustement, pour la zone spectrale de 450nm à 650nm, entre le modèle mathématique (équation 23) et le signal théorique (équation 20) ayant la même absorption - diffusion du milieu oculaire que celle réelle.

La valeur de $\chi^2=0,013$ et le coefficient de corrélation = 1

Une première conclusion a été que le modèle mathématique est très sensible au changement d'absorption-diffusion du cristallin, ce qui confirme notre hypothèse, qu'un modèle qui utilise comme calibration une courbe d'absorption-diffusion du cristallin déterminée expérimentalement sur un groupe des sujets pourrait introduire des erreurs d'appréciation sur le calcul d'oxygénation. L'absorption du cristallin d'un sujet représente une variable spécifique à chaque individu.

A partir de ces dernières hypothèses, on a envisagé de donner la possibilité au modèle de s'ajuster pour différentes courbes d'absorption du cristallin, plus précisément de faire un auto-calibration pour la fonction de cristallin.

Les paramètres m_1 , m_2 , m_3 , m_4 et k ont été calculés à partir du système des équations (23) en utilisant uniquement 500 valeurs du signal théorique (20) correspondant à la zone spectrale de 520 nm à 650 nm. Ensuite, les valeurs obtenus pour les paramètres m_1 , m_2 , m_3 , m_4 et k ont été utilisés pour vérifier le signal théorique pour la zone spectrale de 450 nm à 520 nm. La valeur de n (qui décrit l'absorption du cristallin) a été calculée en posant la contrainte de minimiser les différences, c'est-à-dire les résidus, entre le modèle (23) et le signal théorique (20).

Les concentrations d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine ont été calculées et comparées avec les valeurs a priori définies pour le signal théorique (40% et 60% respectivement).

On a constaté que si la contrainte de minimiser les résidus n'avait pas été posée pour la première partie du spectre, de 450 nm à 520 nm, il n'y avait pas de

ressemblance entre la courbe du modèle avec la courbe du signal théorique. La valeur calculée d'oxygénation était un peu différente de celle définie a priori, mais le résidu était trop grand (résidus=270,67), (Figure 42).

Par contre, si la contrainte avait été posée, la valeur d'oxygénation était celle définie a priori dans le signal théorique et la valeur du résidu était plus petite (résidus=0,083), (Figure 43).

Finalement, on a conclu qu'en utilisant dans le modèle une même absorption du cristallin pour tous les sujets, la ressemblance entre la courbe du modèle mathématique et le signal expérimental sera compromise et les valeurs d'oxygénation calculées seront erronées.

En fait, en demandant que l'absorption du cristallin soit une variable du système d'équations (23), on a élargi le nombre des inconnus à déterminer, ce qui ne met aucun problème pour le spectrorélectromètre multicanal qui mesure la fonction spectrale de réflectométrie pour 800 longueurs d'onde (800 des équations). Par contre, pour une méthode, qui prend des mesures seulement pour quelques longueurs d'onde, le système des équations serait sous-déterminé.

En conclusion, estimer l'oxygénation sanguine dans les structures de l'œil par une méthode spectrale qui mesure la fonction de réflectométrie avec un nombre limité de longueurs d'onde pourrait représenter une appréciation improbable.

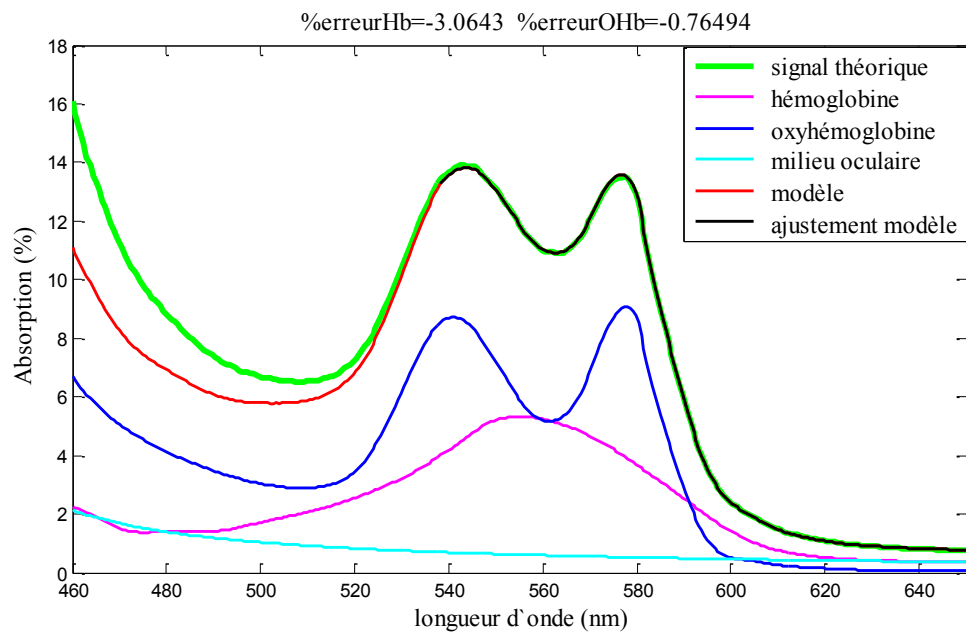


Figure 42. Ajustement, pour la zone spectrale de 450nm à 650nm, entre le modèle mathématique (équation 23) et le signal théorique (équation 20) ayant une absorption - diffusion du milieu oculaire différente de celle réelle.

La valeur de $\chi^2=35,875$, le coefficient de corrélation = 0,9845 et les résidus = 270,67

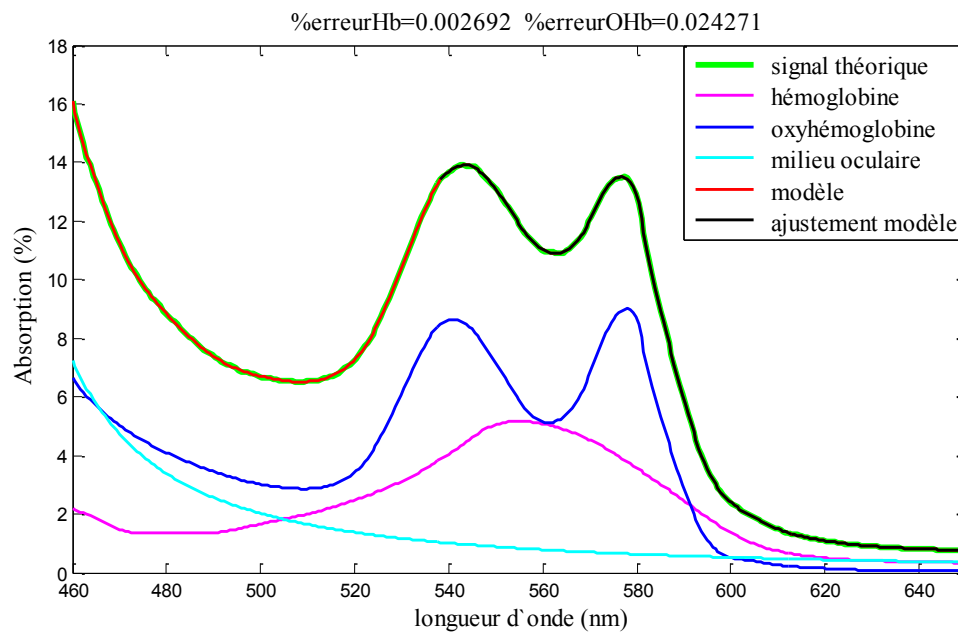


Figure 43. Ajustement, pour la zone spectrale de 450nm à 650nm, entre le modèle mathématique (équation 23) et le signal théorique (équation 20) ayant la même absorption - diffusion du milieu oculaire que celle réelle.

La valeur de $\chi^2=0,011$, le coefficient de corrélation = 1 et les résidus = 0,083

5.5. Données expérimentales et modèles mathématiques

Nous disposons de plusieurs mesures expérimentales pour essayer de calculer l'oxygénation sanguine avec l'un de ces deux modèles mathématiques (13 et 23). La qualité d'ajustement entre les modèles et les données expérimentales a été évalué par le coefficient de corrélation et la valeur de χ^2 .

La valeur du χ^2 est donnée par la relation :

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(y_i - f(x_i))^2}{(\sigma_i^{exp})^2} \quad (24)$$

où y_i les données expérimentales, $f(x_i)$ – le modèle mathématique et σ_i^{exp} l'incertitude sur les mesures, y_i .

On a définit ensuite le χ^2 réduit :

$$\chi_{reduit}^2 = \frac{\chi^2}{\nu} \quad (25)$$

où ν représente le nombre de degrés de liberté du système. Pour un ajustement acceptable ce rapport doit être voisin de 1.

Les figures suivantes présentent les fonctions de réflectométrie de l'œil sur les capillaires (Figure 44, Figure 45), sur l'artère (Figure 46, Figure 47) et sur la veine (Figure 48, Figure 49), expliquées par le modèle initiale (13) (Figure 44, Figure 46, Figure 48) et par le nouveau modèle (23) respectivement (Figure 45, Figure 47, Figure 49).

La fonction spectrale de réflectométrie pour les capillaires du nerf optique peut être expliqué par les deux modèles, avec des concentrations d'oxyhémoglobine comparables et respectivement des valeurs de χ^2 et des coefficients de corrélation semblables (Figure 44, Figure 45). Le test t confirme que les

moyennes de χ^2 , obtenues avec le modèle initial et avec le nouveau modèle, n'étaient pas significativement différentes ($t=0,536$; $dl=19$; $p=0,5976$). Également, pour les coefficients de corrélation, les moyennes obtenues n'étaient pas significativement différentes ($t=1,441$; $dl=19$; $p=0,1658$).

Sur les structures capillaires, le nouveau modèle calcule une fonction multi-gaussienne avec une contribution négligeable, ce qui réduit le nouveau modèle (23) au modèle initial (13). De plus, les valeurs d'oxyhémoglobine calculées sont semblables. Le test t confirme que les moyennes des valeurs des concentrations d'oxyhémoglobine, calculées avec le modèle initial et avec le nouveau modèle, n'étaient pas significativement différentes ($t=1,3126$; $dl=19$; $p=0,2218$).

En effet, le modèle initial (13) est le cas particulier du nouveau modèle (23) quand la fonction multi-gaussienne prend des valeurs négligeables. Ce cas est spécifique seulement pour les mesures sur les capillaires de nerf optique.

En appliquant le modèle initial (13) pour expliquer la fonction de réflectométrie de la veine et de l'artère nous avons constaté des écarts entre les données et le modèle, pour la zone spectrale de 580 nm à 650 nm. Ainsi, la fonction multi-gaussienne que l'on a introduite dans le nouveau modèle (23) a son domaine de définition de 580 nm à 650 nm. La Figure 47 et la Figure 49 montrent l'ajustement de la fonction de réflectométrie de l'artère et de la veine avec le nouveau modèle. Également, la réflexion supplémentaire, retrouvée par la fonction multi-gaussienne est présentée sur ces figures.

Visuellement, la qualité de l'ajustement du nouveau modèle (23) avec la fonction spectrale de réflectométrie sur l'artère et la veine est meilleure (Figure 47 et

Figure 49), même si les valeurs de χ^2 et les coefficients de corrélation, du modèle initial et de nouveau modèle, sont comparables.

Pour les mesures sur l'artère, le test t confirme que les moyennes de χ^2 , obtenues avec le modèle initial et avec le nouveau modèle, n'étaient pas significativement différentes ($t=2,622$; $dl=19$; $p=0,1686$). Également, pour les coefficients de corrélation, les moyennes obtenues n'étaient pas significativement différentes ($t=1,754$; $dl=19$; $p=0,2219$).

Pour les mesures sur la veine, le test t confirme que les moyennes de χ^2 , obtenues avec le modèle initial et avec le nouveau modèle, n'étaient pas significativement différentes ($t=1,812$; $dl=19$; $p=0,0857$). Également, pour les coefficients de corrélation, les moyennes obtenues n'étaient pas significativement différentes ($t=1,635$; $dl=19$; $p=0,1183$).

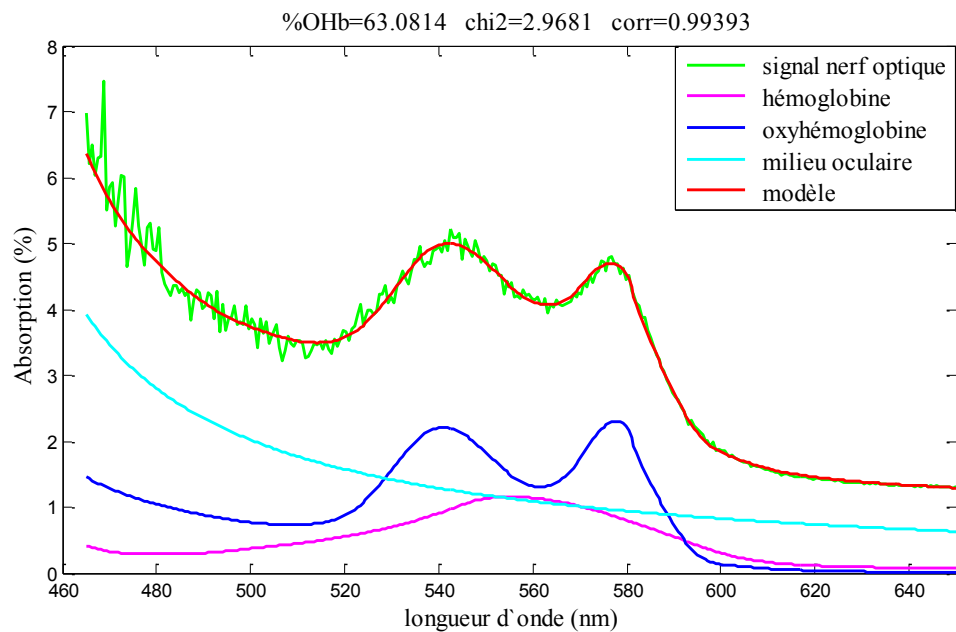


Figure 44. Ajustement entre le modèle mathématique initial (équation 13) et la fonction spectrale de réflectométrie des capillaires du nerf optique pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le graphique représente les contributions au modèle mathématique de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine et de l'absorption - diffusion du milieu oculaire.

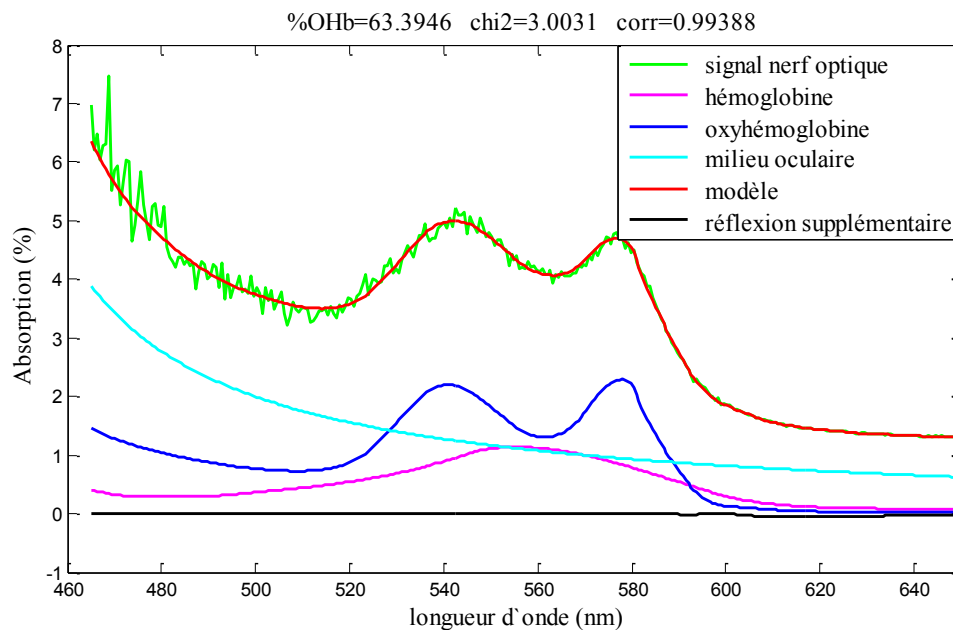


Figure 45. Ajustement entre le nouveau modèle mathématique (équation 23) et la fonction spectrale de réflectométrie des capillaires du nerf optique pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le graphique représente les contributions au modèle mathématique de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine, de l'absorption - diffusion du milieu oculaire et de la réflexion supplémentaire.

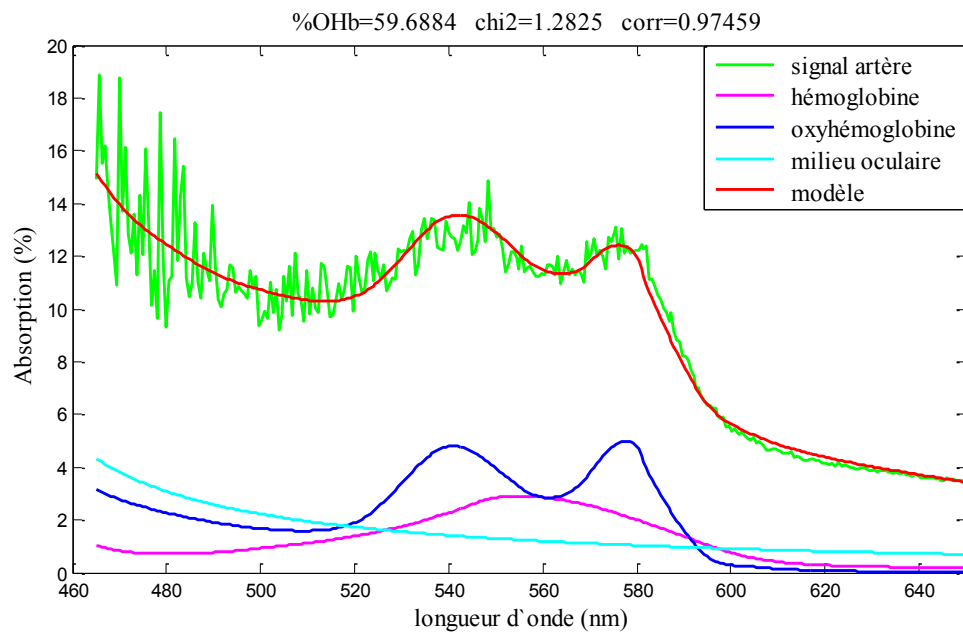


Figure 46. Ajustement entre le modèle mathématique initial (équation 13) et la fonction spectrale de réflectométrie de l'artère pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le graphique représente les contributions au modèle mathématique de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine et de l'absorption - diffusion du milieu oculaire.

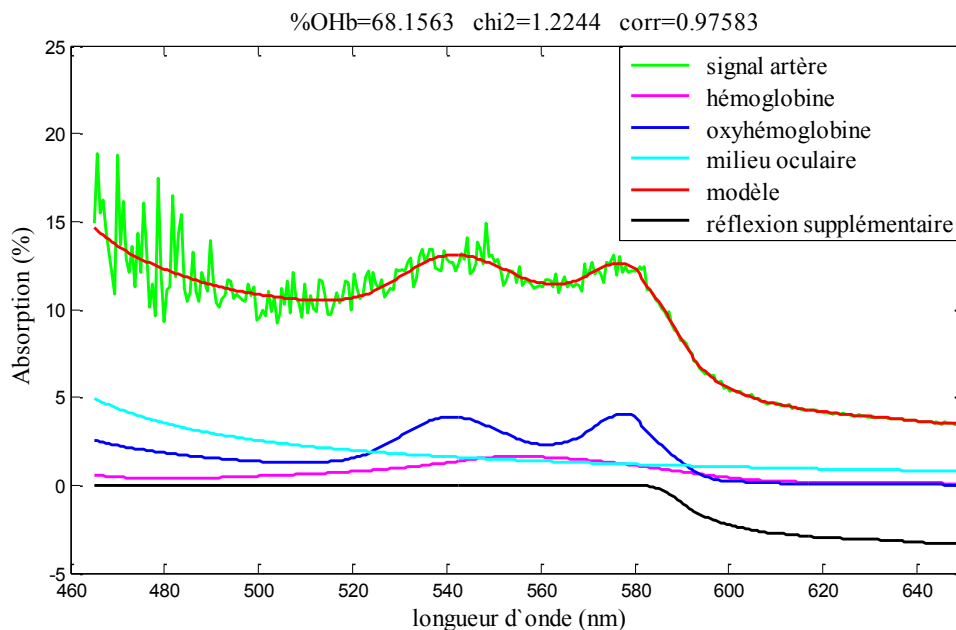


Figure 47. Ajustement entre le nouveau modèle mathématique (équation 23) et la fonction spectrale de réflectométrie de l'artère pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le graphique représente les contributions au modèle mathématique de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine, l'absorption - diffusion du milieu oculaire et de la réflexion supplémentaire.

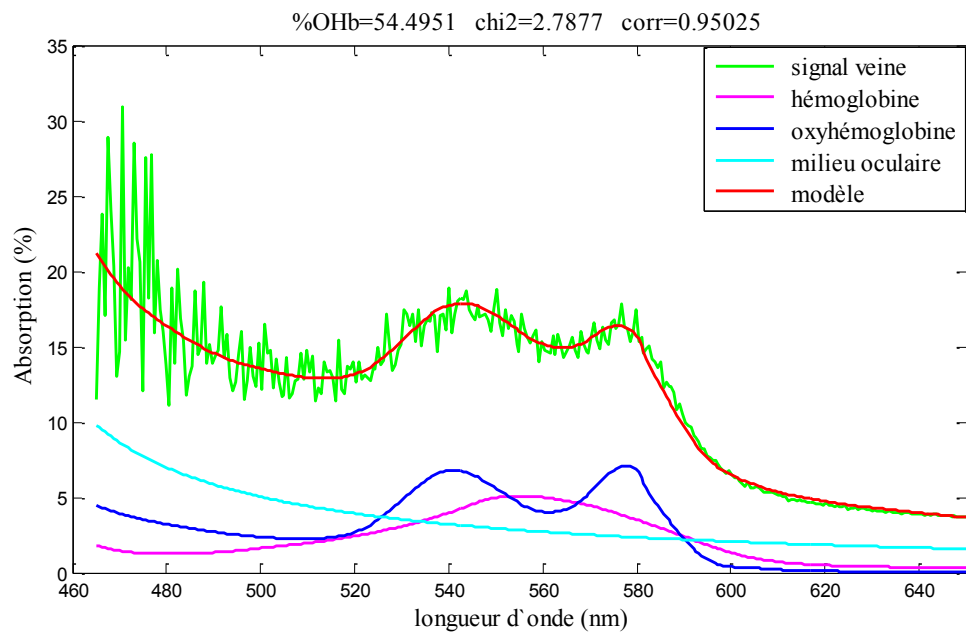


Figure 48. Ajustement entre le modèle mathématique initial (équation 13) et la fonction spectrale de réflectométrie de la veine pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le graphique représente les contributions au modèle mathématique de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine et de l'absorption - diffusion du milieu oculaire.

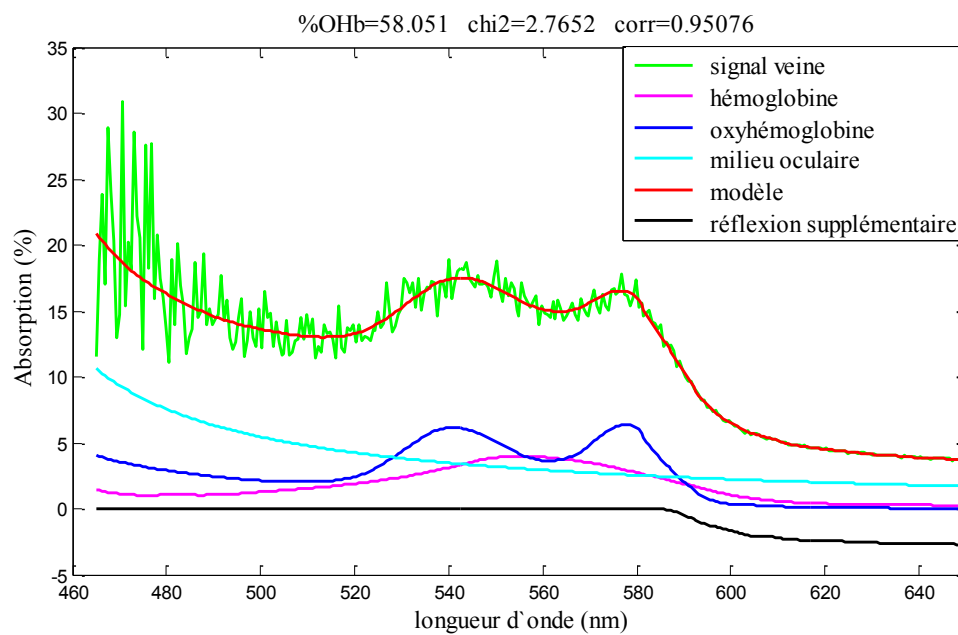


Figure 49. Ajustement entre le nouveau modèle mathématique (équation 23) et la fonction spectrale de réflectométrie de l'artère pour la zone spectrale de 450nm à 650nm.

Le graphique représente les contributions au modèle mathématique de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine, de l'absorption - diffusion du milieu oculaire et de la réflexion supplémentaire.

En regardant les valeurs d'oxyhémoglobine pour l'artère et la veine, calculées avec les deux modèles, on a constaté des différences très grandes.

Exemple :

$$\text{OHb}_{\text{artère (modele_initial)}} = 59.68 < \text{OHb}_{\text{artère (nouveau_modele)}} = 68.15$$

$$\text{OHb}_{\text{veine (modele_initial)}} = 54.49 < \text{OH}_{\text{veine (nouveau_modele)}} = 58.05$$

Pour les mesures sur l'artère, le test t confirme que les moyennes des concentrations d'oxyhémoglobine, calculées avec le modèle initial et avec le nouveau modèle, étaient significativement différentes ($t=6,2858$; $dl=19$; $p=0,0000492$).

Pour les mesures sur la veine, le test t confirme que les moyennes des concentrations d'oxyhémoglobine, calculées avec le modèle initial et avec le nouveau modèle, étaient significativement différentes ($t=8,9586$; $dl=19$; $p=0,000311$).

La différence entre les valeurs calculées de concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine avec les deux modèles, montre que le terme ajouté dans le nouveau modèle pour expliquer la réflexion supplémentaire, affecte les valeurs oxyhémoglobine calculées. Ce n'est pas une surprise, car il est connu qu'une réflexion sur les parois des vaisseaux ou une diffusion sur les globules rouge du sang ont un impact sur l'oxymétrie sanguine (Hammer, et al., 2002)(Fine & Weinred, 1993)(Cohen & Laing, 1976)(van de Kraats, et al., 1996)(Smith, et al., 2000)(Hammer, et al., 2001). Un résultat inattendu a toutefois été que la valeur de χ^2 et le coefficient de corrélation sont semblables pour les deux modèles. La réflexion supplémentaire, remarquée dans le signal mesuré sur les artères et les

veines, a augmenté l'écart par rapport au modèle initial et devrait aboutir aux valeurs du coefficient de corrélation inférieure et aux valeurs de χ^2 supérieures aux ceux obtenues avec le nouveau modèle. Cependant, même si la réflexion supplémentaire, a entraîné un changement pour la concentration d'oxygène calculée, elle n'a pas d'incidence sur la valeur de χ^2 et du coefficient de corrélation.

Nos analyses suggérer que la valeur de χ^2 permet d'avoir une idée globale de l'ajustement du modèle mais elle n'est pas une déclaration absolue sur le meilleur ajustement. Cette valeur peut être trompeuse comme un indicateur de la confiance des valeurs d'oxygénations, car la valeur de χ^2 ne peut pas prédire s'il y a des erreurs systématiques, dans l'ajustement. Ces erreurs systématiques sont obtenues lorsque le modèle ne tient pas compte de toutes les composantes du tissu étudié. Cependant, la valeur de χ^2 présente un outil efficace pour confirmer quantitativement l'analyse visuelle.

Si $\chi_{reduit}^2 \gg 1$ le modèle n'est pas adéquat ou les erreurs σ^{exp} sont sous-évaluées. Si $\chi_{reduit}^2 \ll 1$ les erreurs σ^{exp} sont sur évaluées et on ne peut pas tester la validité du modèle.

En conséquence, pour notre étude, nous avons utilisé le résidu comme un critère quantitatif pour décider si le modèle représente les données qu'on veut modéliser. Ce résidu est la somme des carrés des écarts entre le modèle et les données. Ces écarts aux carrés seront toujours positifs et d'autant plus grands que les données expérimentales seront éloignées du modèle.

5.6. Fiabilité du modèle en conditions expérimentales

Des expériences ont été réalisées afin de montrer la validité du modèle.

5.6.1. Oxygénation des vaisseaux sanguins de la rétine en condition de normoxie et d'hypoxie

Le modèle mathématique a été testé pour mesurer l'oxygénation sanguine à partir de la réflectivité de l'artère, des capillaires et de la veine de la rétine des sujets sains, dans des conditions de hypo oxygénation.

Sujets

Huit sujets ont participé à l'expérience. Tous les participants avaient une bonne santé générale et oculaire. L'âge des sujets se situait entre 21 et 40 ans.

Pour chaque sujet, il a été nécessaire de prévoir six visites. Une première visite pour passer l'examen visuel, une deuxième et une troisième visite pour enregistrer les valeurs d'oxygénation dans les capillaires du disque du nerf optique, dans les artères et dans les veines.

Dans la quatrième, cinquième et sixième session expérimentale, les variations d'oxygénation des capillaires, des artères et des veines ont été enregistrées respectivement. Les trois derniers enregistrements ont été effectués en condition d'hypo oxygénation en changeant la concentration de l'oxygène dans le gaz respiré.

5.6.1.1. Procédure de collecte des données

Première séance

Lors de cette étude, chaque sujet participait aux évaluations suivantes:

1. Questionnaire médical

Le sujet devait répondre à des questions concernant sa santé générale, afin de s'assurer qu'il n'avait pas de maladies et/ou qu'il ne prenait pas de médicaments susceptibles d'affecter les résultats de l'étude.

2. Données visuelles de base ;

Préalablement à l'étude, un optométriste a effectué des tests afin de confirmer que les structures rétiniennes des sujets participants à l'étude sont en bonne santé.

Deuxième et troisième séances

Durant chaque session expérimentale, le rythme cardiaque et l'oxygénation artérielle au niveau du doigt ont été enregistrés en utilisant le sphygmooxymètre.

Les mesures de ces paramètres ont été nécessaires afin de déterminer une corrélation entre l'oxygénation du sang au niveau des vaisseaux rétiniens et l'oxygénation du sang artériel.

La troisième séance a été réalisée pour tester la fidélité du modèle. La fidélité du modèle était décrite comme la mesure avec laquelle une expérience peut être répétée tout en générant le même résultat. Elle constitue une condition essentielle mais insuffisante à la validité.

Quatrième, cinquième et sixième séances

Une séance d'enregistrement consiste en 420 mesures à 1s d'intervalle, durant sept minutes. Pendant une minute le sujet respire l'air ambiant (21% O₂) ensuite pendant cinq minutes un mélange gazeux donnant une situation d'hypoxie (15% O₂), pour revenir à nouveau à l'air ambiant pendant la dernière minute.

Trois séances de mesures lors de journées différentes ont été prévues pour chaque sujet participant à cette étude : une journée pour les mesures sur le disque du nerf optique, une journée pour les mesures sur les artères et une autre pour les mesures sur les veines.

Ces séances ont été réalisées pour tester la sensibilité du modèle de détecter des variations de la concentration en oxyhémoglobine dans les artères, les capillaires et les veines de la rétine en fonction du taux d'oxygénation systémique.

5.6.1.2. Procédure expérimentale

Une fois le sujet arrivé au laboratoire, sa cornée est anesthésiée et sa pupille est dilatée avec les agents topiques appropriés hydrochlorure de proparacaine 0,5%, tropicamide 1% et hydrochlorure de phényléphrine 2,5%. Une période de 20 min était prévue pour la dilatation et pour l'adaptation du sujet à l'environnement du laboratoire. Durant ce temps, le sujet devait donner des renseignements sur des observations pertinentes qui pourraient influencer les résultats de la séance (température du corps, consommation d'alcool, de

cigarette, de café, de drogue, de médicaments, pratique de sports; et pour les sujets féminins une question sur leur cycle menstruel).

Une fois que la pupille de l'œil du sujet est dilatée, la collecte des données débutait.

Une séance d'expérimentations était composée d'un enregistrement continu de 420 secondes. Une première étape de 60 secondes, dans laquelle le sujet respire l'air ambiant suivie d'une deuxième étape de 300 secondes dans laquelle le sujet respire un mélange de gaz avec 15% O₂, et la dernière étape de 60 secondes dans laquelle le sujet est exposait une fois de plus à l'air ambiant.

Pendant toute la session expérimentale, le rythme cardiaque et l'oxygénation artérielle ont été enregistrés avec le sphyngmo-oxymètre au niveau du doigt (modèle Nomin 9600).

Le même site de mesures était ciblé pour tous les sujets et des photos de fond de l'œil ont été prises. Les mesures sur les vaisseaux sanguins de l'œil ont été réalisées avec le spectrorélectomètre multicanal. Les parties du signal mesuré susceptibles de représenter un clignement de la paupière ou un mouvement oculaire, ont été éliminées afin de minimiser les écarts types sur les moyennes de nos mesures.

À chaque visite, il y avait un enregistrement d'une seule séquence de mesures, soit dans le disque optique soit sur l'artère soit sur veine.

Le même protocole, décrit précédemment, a été adopté pour tous les sujets.

5.6.1.3. Résultantes et discussions

Séance 2 et séance 3

Des exemples d'enregistrements en continu, pendant 30 secondes, de la concentration d'oxyhémoglobine des capillaires de nerf optique, de l'artère et de la veine, sont présentés sur la Figure 50.

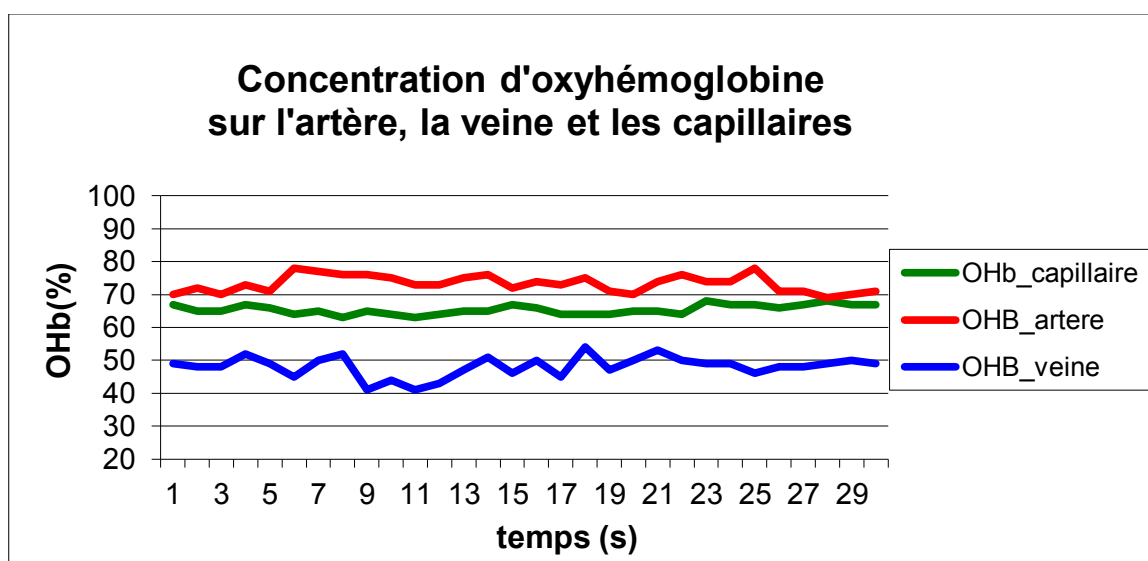


Figure 50. Enregistrement en continu de la concentration d'oxyhémoglobine de l'artère, des capillaires et de la veine pendant 30 secondes.

Le Tableau 1 montre les valeurs moyennes d'oxyhémoglobine, pour chaque sujet, obtenues pendant la deuxième et troisième séance. Pour chaque séance, représentant un enregistrement en continu de 30 secondes, les mesures ont été prises respectivement sur les capillaires, sur une artère et sur une veine.

	S1		S2		S3		S4	
	séance2	séance3	séance2	séance3	séance2	séance3	séance2	séance3
artère	72,55	70,65	67,65	66,80	70,55	68,30	69,40	71,75
<i>écart-type</i>	<i>3,19</i>	<i>4,15</i>	<i>3,93</i>	<i>2,19</i>	<i>2,14</i>	<i>3,97</i>	<i>3,76</i>	<i>3,06</i>
nerf optique	66,20	64,64	62,44	61,78	58,12	55,85	65,43	67,59
<i>écart-type</i>	<i>1,17</i>	<i>1,42</i>	<i>1,09</i>	<i>1,28</i>	<i>2,54</i>	<i>2,11</i>	<i>2,31</i>	<i>2,36</i>
veine	52,55	51,35	52,60	52,00	44,30	41,60	40,55	42,20
<i>écart-type</i>	<i>2,84</i>	<i>3,33</i>	<i>3,73</i>	<i>3,04</i>	<i>4,85</i>	<i>3,79</i>	<i>3,81</i>	<i>3,32</i>

	S5		S6		S7		S8	
	séance2	séance3	séance2	séance3	séance2	séance3	séance2	séance3
artère	72,85	69,95	69,80	71,55	69,00	67,55	71,60	71,80
<i>écart-type</i>	<i>4,55</i>	<i>2,89</i>	<i>5,43</i>	<i>2,63</i>	<i>6,00</i>	<i>2,80</i>	<i>2,23</i>	<i>3,29</i>
nerf optique	62,01	60,56	63,21	65,88	58,61	56,12	69,45	68,59
<i>écart-type</i>	<i>1,82</i>	<i>1,66</i>	<i>2,12</i>	<i>2,86</i>	<i>2,55</i>	<i>2,21</i>	<i>1,12</i>	<i>1,23</i>
veine	49,50	48,55	48,85	51,25	45,25	42,90	45,50	46,90
<i>écart-type</i>	<i>3,07</i>	<i>2,93</i>	<i>4,06</i>	<i>2,33</i>	<i>4,87</i>	<i>3,01</i>	<i>2,48</i>	<i>4,14</i>

Tableau 1. Valeurs moyennes des mesures d'oxygénation sur l'artère, les capillaires du nerf optique et la veine.

Les différences entre les paires de variables décrites dans le Tableau 1 ont été testées avec le test t bilatéraux pour échantillons appariés afin de déterminer la signification statistique. Les différences entre les paires étaient considérées comme statistiquement significatives lorsque le niveau de probabilité était inférieur à 0,05.

Paires des conditions comparées

L'oxyhémoglobine dans les capillaires - L'oxyhémoglobine dans l'artère

L'oxyhémoglobine dans l'artère - L'oxyhémoglobine dans la veine

L'oxyhémoglobine dans la veine - L'oxyhémoglobine dans les capillaires

L'oxyhémoglobine dans les capillaires (séance 2) - L'oxyhémoglobine dans les capillaires (séance 3)

L'oxyhémoglobine dans l'artère (séance 2) - L'oxyhémoglobine dans l'artère (séance 3)

L'oxyhémoglobine dans la veine (séance 2) - L'oxyhémoglobine dans la veine (séance 3)

Pour l'ensemble des sujets, la valeur moyenne d'oxyhémoglobine de l'artère était de $70,10 \pm 1,87$, celle des capillaires était de $62,90 \pm 4,24$ et celle de la veine était de $46,49 \pm 4,20$.

En comparant les valeurs moyennes pour l'artère et pour les capillaires, ces valeurs étaient significativement différentes ($t=7,879$; $df=17$; $p=4,4867 \times 10^{-7}$).

En comparant les valeurs moyennes pour les capillaires et pour la veine, ces valeurs étaient significativement différentes ($t=12,149$; $dl=17$; $p=8,3267^E-10$).

En comparant les valeurs moyennes pour l'artère et pour la veine, ces valeurs étaient significativement différentes ($t=20,226$; $dl=17$; $p=2,4867^E-13$).

Donc, les concentrations d'oxyhémoglobine obtenues à partir de mesures sur l'artère, les capillaires et la veine sont significativement différentes. Ce résultat n'est pas surprenant car l'oxygénation d'une artère est différente de celle d'une veine ou de celle d'un capillaire.

En conséquence, le modèle mathématique explique bien les fonctions spectrales de réflectométrie pour chaque zone spécifique et donne des taux d'oxyhémoglobine significativement différents pour l'artère, les capillaires et la veine.

La valeur moyenne d'oxyhémoglobine de l'artère pour l'ensemble des sujets était de $70,42 \pm 1,81$ pour séance 2 et de $69,79 \pm 1,99$ pour séance 3. Ces valeurs n'étaient pas significativement différentes ($t=0,938$; $dl=7$; $p=0,379$).

La valeur moyenne d'oxyhémoglobine des capillaires pour l'ensemble des sujets était de $63,18 \pm 3,81$ pour séance 2 et de $62,62 \pm 4,90$ pour séance 3. Ces valeurs n'étaient pas significativement différentes ($t=0,812$; $dl=7$; $p=0,443$).

La valeur moyenne d'oxyhémoglobine de la veine pour l'ensemble des sujets était de $47,38 \pm 4,22$ pour séance 2 et de $47,09 \pm 4,36$ pour séance 3. Ces valeurs n'étaient pas significativement différentes ($t=0,437$; $dl=7$; $p=0,675$).

Donc, les résultats obtenus pendant la troisième séance ne sont pas significativement différents par rapport aux résultats obtenus pendant la deuxième séance.

Les résultats suggèrent une certaine fiabilité du modèle mathématique et de la méthode de mesure.

Séances 4, 5 et 6

Trois exemples d'enregistrements continus sur la concentration en oxyhémoglobine sont illustrés dans la Figure 51, la Figure 52 et la Figure 53. Chaque enregistrement est réalisé dans une autre région de la rétine : sur l'artère, sur les capillaires du nerf optique et sur la veine.

Les variations d'oxyhémoglobine sont causées par les changements en concentration d'oxygène de gaz respiré par le sujet.

Tel que spécifié dans le protocole expérimental, un enregistrement continu de 420 secondes a commencé avec une première étape de 60 secondes, pendant laquelle le sujet respire l'air ambiant afin de déterminer le niveau d'oxygénation de base, suivi d'une deuxième étape de 300 secondes qui exposait le sujet à une condition d'hypo oxygénation (15% O₂). Enfin, durant les 60 dernières secondes de la séance d'enregistrement, le sujet respire de nouveau de l'air ambiant afin de revenir à la condition de base.

Le pourcentage du taux d'oxyhémoglobine artérielle ainsi que le pouls de chaque sujet, ont été également mesurés par le sphyngmo-oxymètre placé sur le doigt.

Le Tableau 2, le Tableau 3 et le Tableau 4 représentent les valeurs d'oxyhémoglobine mesurées sur l'artère, sur les capillaires et sur la veine, de

même que le taux d'oxyhémoglobine artérielle systémique ainsi que le pouls cardiaque, correspondants à chaque sujet.

Pour faire une analyse de données les valeurs moyennées et les écarts types ont été calculés. Les moyennes et les écarts types des premières 60 secondes d'enregistrement seront considérés comme le niveau d'oxygénation de base pour chaque session expérimentale. L'écart entre le niveau d'oxygénation de base et le niveau d'oxygénation pour une condition d'hypoxie permettra de déterminer la sensibilité du modèle de détecter des variations d'oxygénation induites par une situation d'hypoxie. Les périodes d'hypoxie sont caractérisées par une phase de transition de 60 à 80 secondes, durant laquelle le niveau d'oxygénation diminue en comparaison avec le niveau de base pour atteindre un niveau stationnaire. La moyenne des valeurs d'oxygénation du niveau stationnaire sera considérée comme le niveau d'oxygénation pendant la période d'hypoxie. Cette moyenne correspond à la moyenne de dernières 120 mesures enregistrées durant la période de 300 secondes où le sujet inspire un gaz hypoxique. Nous avons soustrait la période où l'état de l'oxygénation est transitoire. La dernière étape de 60 secondes est aussi une période transitoire. Cependant, la moyenne des valeurs d'oxygénation pour cette étape a été calculée seulement pour les 20 dernières mesures, même si la valeur d'oxyhémoglobine n'avait pas atteint la valeur de base.

Les résultats présentés dans le Tableau 2, le Tableau 3 et le Tableau 4 démontrent qu'une condition d'hypoxie, qui provoque une diminution du taux d'oxygénation du sang artériel systémique, entraîne une diminution

d'oxyhémoglobine dans l'artère, dans les capillaires du nerf optique et aussi dans la veine de la rétine. Il est intéressant de constater qu'une condition d'hypoxie créée par l'inhalation d'un gaz avec seulement 15% O₂, fait augmenter le rythme cardiaque pour tous les sujets.

Les différences entre les paires de variables décrites dans le Tableau 2, le Tableau 3 et le Tableau 4 ont été testées avec des tests *t* bilatéraux pour échantillons appariés afin d'établir la signification statistique. Les différences entre les paires étaient considérées comme statistiquement significatives lorsque le niveau de probabilité était inférieur à 0,05.

Variables testées	Conditions comparées	
L'oxyhémoglobine dans les capillaires	air ambiant	hypoxie
L'oxyhémoglobine dans l'artère	air ambiant	hypoxie
L'oxyhémoglobine dans la veine	air ambiant	hypoxie
Pouls (mesurés sur les capillaires)	air ambiant	hypoxie
Pouls (mesurés sur l'artère)	air ambiant	hypoxie
Pouls (mesurés sur la veine)	air ambiant	hypoxie

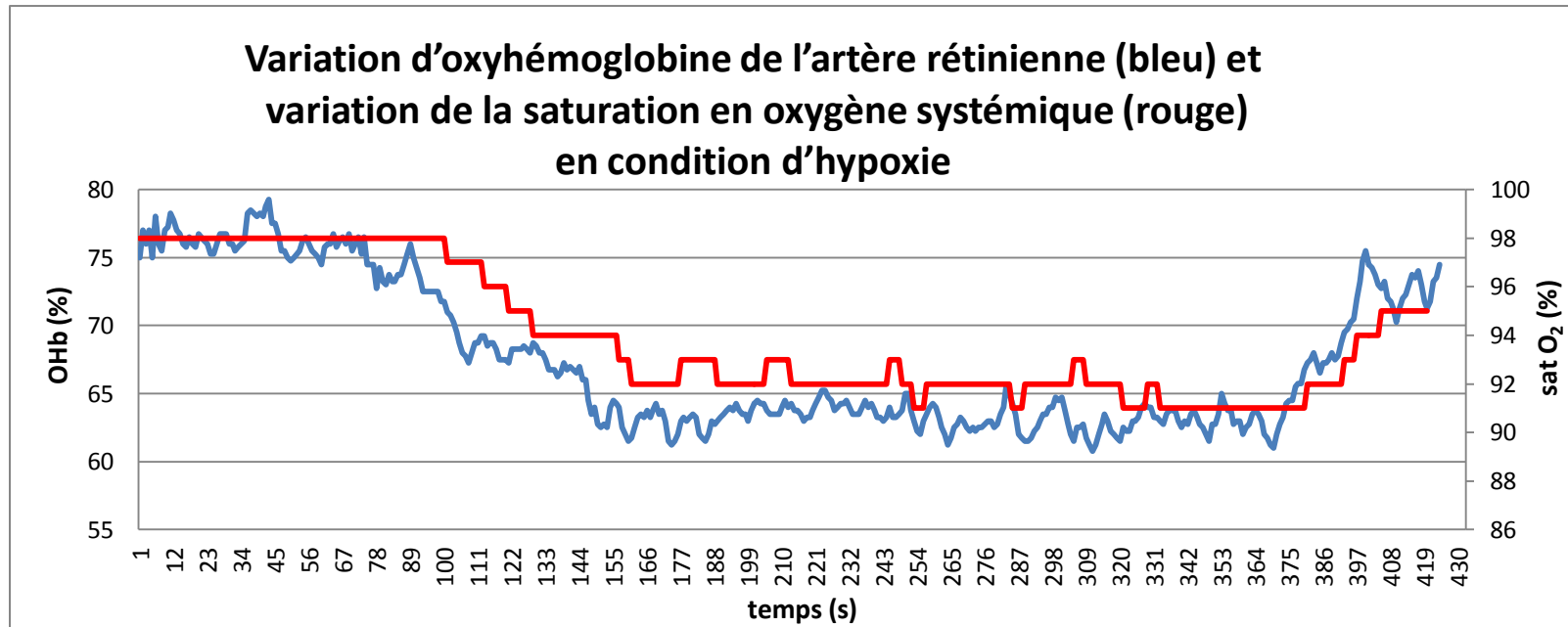


Figure 51. Exemple d'un enregistrement continu de la variation d'oxyhémoglobine, dans l'artère de la rétine, due au changement de la concentration d'oxygène du gaz respiré par le sujet :

Une minute d'enregistrement pendant que le sujet respire l'air ambiant, suivie de 5 minutes d'enregistrement pendant lesquelles le sujet respire un mélange de gaz comprenant 15% d'O₂ et d'une période de 1 minute pendant que le sujet respire encore de l'air ambiant.

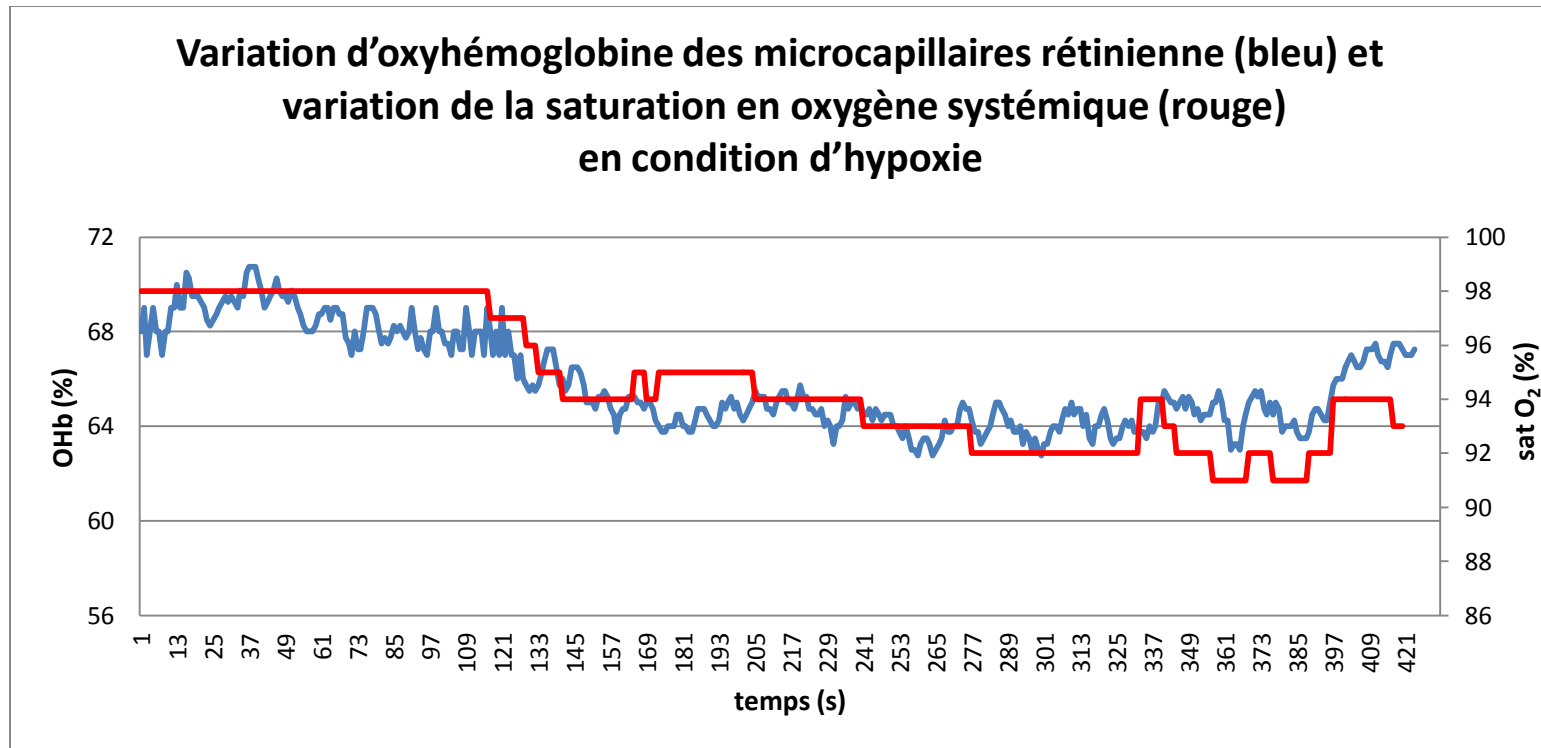


Figure 52. Exemple d'un enregistrement continu de la variation d'oxyhémoglobine, dans les capillaires de la région du nerf optique, due au changement de la concentration d'oxygène du gaz respiré par le sujet :

Une minute d'enregistrement pendant que le sujet respire l'air ambiant, suivie de 5 minutes d'enregistrement pendant lesquelles le sujet respire un mélange de gaz contenant 15% d'O₂ et d'une période de 1 minute pendant que le sujet respire encore de l'air ambiant.

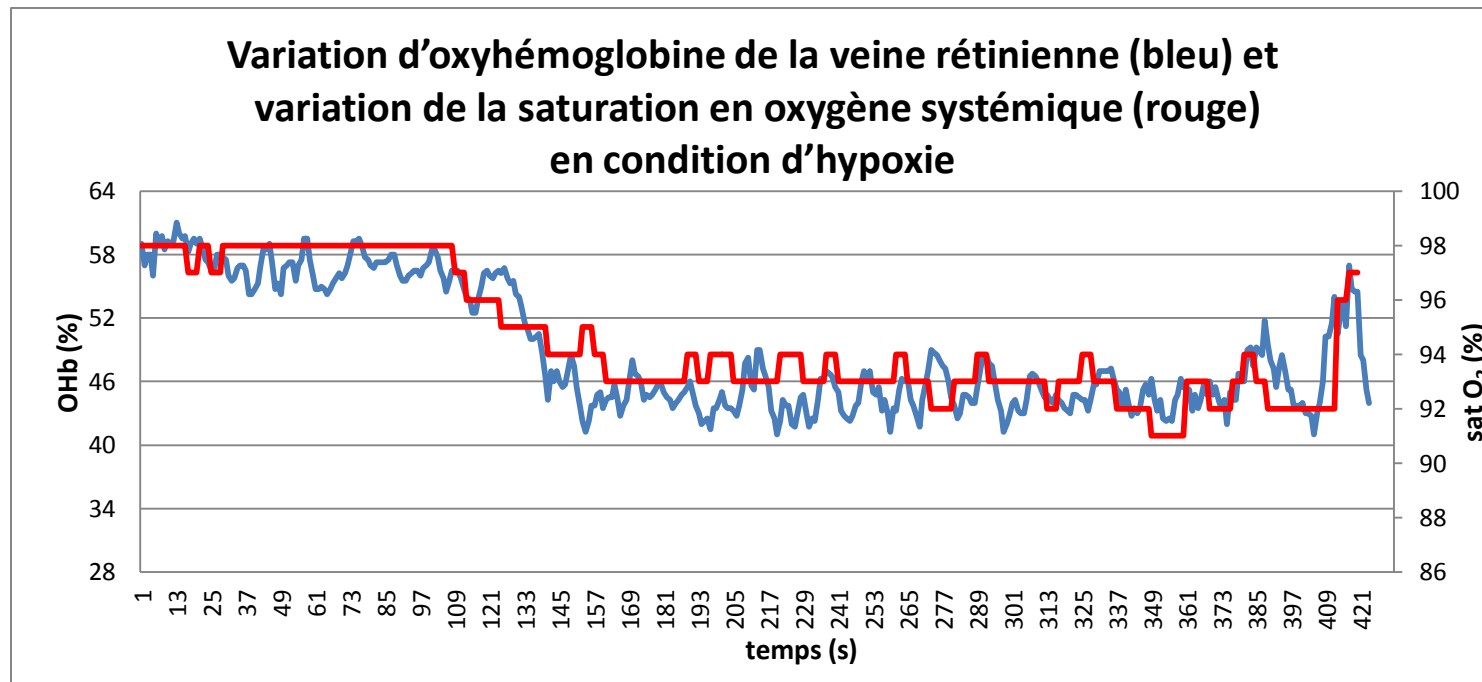


Figure 53. Exemple d'un enregistrement continu de la variation d'oxyhémoglobine, dans la veine de la rétine, due au changement de la concentration d'oxygène du gaz respiré par le sujet :

Une minute d'enregistrement pendant que le sujet respire l'air ambiant, suivie de 5 minutes d'enregistrement pendant lesquelles le sujet respire un mélange de gaz comprenant 15% d'O₂ et d'une période de 1 minute pendant que le sujet respire encore de l'air ambiant.

Condition	S1			S2			S3			S4		
	%OHb artère	%O2 systémique	pouls batt/min	%OHb artère	%O2 systémique	pouls batt/min	%OHb artère	%O2 systémique	pouls batt/min	%OHb artère	%O2 systémique	pouls batt/min
air ambiant (21%O2)	68,31	99	88	67,08	98	77	68,69	98	72	70,31	98	69
hypoxie (15%O2)	63,71	93	90	60,95	92	85	59,76	91	76	62,14	92	75
air ambiant (21%O2)	65,23	95	90	62,36	94	83	66,09	94	71	63,18	94	72

Condition	S1			S2			S3			S4		
	%OHb artère	%O2 systémique	pouls batt/min	%OHb artère	%O2 systémique	pouls batt/min	%OHb artère	%O2 systémique	pouls batt/min	%OHb artère	%O2 systémique	pouls batt/min
air ambiant (21%O2)	69,38	98	74	68,77	97	76	69,92	97	64	75,23	100	108
hypoxie (15%O2)	62,86	92	81	61,86	91	79	58,86	90	69	69,05	93	112
air ambiant (21%O2)	63,09	94	77	63,82	94	77	62,82	95	66	72,27	96	109

Tableau 2. Valeurs moyennes des mesures d'oxygénation dans l'artère de la rétine, valeurs moyennes des mesures d'oxygénation systémique et valeurs moyennes des mesures de rythme cardiaque, en condition d'hypoxie pour chaque sujet.

Condition	S1			S2			S3			S4		
	%OHb capillaires	%O2 systémique	pouls batt/min	%OHb capillaires	%O2 systémique	pouls batt/min	%OHb capillaires	%O2 systémique	pouls batt/min	%OHb capillaires	%O2 systémique	pouls batt/min
air ambiant (21%O2)	65,77	99	80	62,00	98	71	58,23	98	71	67,08	98	72
hypoxie (15%O2)	59,29	92	86	54,90	91	76	53,86	90	77	58,43	92	76
air ambiant (21%O2)	61,18	94	84	59,00	95	73	57,45	93	71	62,55	95	71

Condition	S1			S2			S3			S4		
	%OHb capillaires	%O2 systémique	pouls batt/min	%OHb capillaires	%O2 systémique	pouls batt/min	%OHb capillaires	%O2 systémique	pouls batt/min	%OHb capillaires	%O2 systémique	pouls batt/min
air ambiant (21%O2)	62,08	98	73	65,62	97	72	58,85	97	62	69,69	98	105
hypoxie (15%O2)	59,33	91	79	59,48	92	76	55,76	89	68	65,05	92	110
air ambiant (21%O2)	60,64	94	77	61,45	94	72	57,64	94	66	66,73	95	106

Tableau 3. Valeurs moyennes des mesures d'oxygénation des capillaires de la rétine, valeurs moyennes des mesures d'oxygénation systémique et valeurs moyennes des mesures de rythme cardiaque, en condition d'hypoxie pour chaque sujet.

Condition	S1			S2			S3			S4		
	%O ₂ veine	%O ₂ systémique	pouls batt/min	%O ₂ veine	%O ₂ systémique	pouls batt/min	%O ₂ veine	%O ₂ systémique	pouls batt/min	%O ₂ veine	%O ₂ systémique	pouls batt/min
air ambiant (21%O ₂)	52,85	98	80	52,92	98	72	43,08	98	71	43,54	97	75
hypoxie (15%O ₂)	46,48	92	85	47,33	92	76	40,05	90	74	36,81	89	79
air ambiant (21%O ₂)	50,64	95	81	51,27	95	72	41,55	93	72	37,09	93	76

Condition	S1			S2			S3			S4		
	%O ₂ veine	%O ₂ systémique	pouls batt/min	%O ₂ veine	%O ₂ systémique	pouls batt/min	%O ₂ veine	%O ₂ systémique	pouls batt/min	%O ₂ veine	%O ₂ systémique	pouls batt/min
air ambiant (21%O ₂)	50,69	98	72	46,46	98	73	48,08	97	62	49,54	99	105
hypoxie (15%O ₂)	43,52	91	79	41,86	91	77	40,33	89	69	45,95	92	113
air ambiant (21%O ₂)	49,36	95	71	44,27	94	74	42,09	94	65	47,91	95	106

Tableau 4. Valeurs moyennes des mesures d'oxygénation de la veine de la rétine, valeurs moyennes des mesures d'oxygénation systémique et valeurs moyennes des mesures de rythme cardiaque, en condition d'hypoxie pour chaque sujet.

La valeur moyenne d'oxyhémoglobine de l'artère pour l'ensemble des sujets diminuait de $69,71 \pm 2,44$ à $62,39 \pm 3,11$ quand on passe de l'air ambiant (gaz inspiré avec 21%O₂) à l'hypoxie (gaz inspiré avec 15%O₂). Ces valeurs étaient significativement différentes ($t=10,354$; $dl=7$; $p=0,000017$).

La valeur moyenne d'oxyhémoglobine des capillaires pour l'ensemble des sujets diminuait de $63,66 \pm 4,03$ à $58,26 \pm 3,51$ quand on passe de l'air ambiant (gaz inspiré avec 21%O₂) à l'hypoxie (gaz inspiré avec 15%O₂). Ces valeurs étaient significativement différentes ($t=7,485$; $dl=7$; $p=0,00013$).

La valeur moyenne d'oxyhémoglobine de la veine pour l'ensemble des sujets diminuait de $48,39 \pm 3,82$ à $42,79 \pm 3,68$ quand on passe de l'air ambiant (gaz inspiré avec 21%O₂) à l'hypoxie (gaz inspiré avec 15%O₂). Ces valeurs étaient significativement différentes ($t=9,277$; $dl=7$; $p=0,000035$).

La valeur moyenne du pouls, pour l'ensemble des sujets, pendant la mesure d'oxygénation sur l'artère s'élevait de $78,50 \pm 13,79$ à $83,38 \pm 13,21$ pulsation/minute quand on passe de la normoxie (gaz inspiré avec 21%O₂) à l'hypoxie (gaz inspiré avec 15%O₂). Ces valeurs étaient significativement différentes ($t=6,814$; $dl=7$; $p=0,00025$).

La valeur moyenne du pouls, pour l'ensemble des sujets, pendant la mesure d'oxygénation sur les capillaires du nerf optique s'élevait de $75,75 \pm 12,78$ à $81,00 \pm 12,71$ pulsation/minute quand on passe de la normoxie (gaz inspiré avec 21%O₂) à l'hypoxie (gaz inspiré avec 15%O₂). Ces valeurs étaient significativement différentes ($t=16,754$; $dl=7$; $p=0,00000066$).

La valeur moyenne du pouls, pour l'ensemble des sujets, pendant la mesure d'oxygénation sur la veine s'élevait de $76,25 \pm 12,65$ à $81,50 \pm 13,52$ pulsation/minute quand on passe de la normoxie (gaz inspiré avec $21\%O_2$) à l'hypoxie (gaz inspiré avec $15\%O_2$). Ces valeurs étaient significativement différentes ($t=8,118$; $dl=7$; $p=0,000083$).

Également, quand on passe de la condition d'hypoxie (étape 2) à la condition de normoxie (étape 3), la valeur moyennée d'oxyhémoglobine augmente, même si on est dans une condition transitoire (moins de 60 secondes). On l'appelé condition stationnaire car la valeur d'oxyhémoglobine ne est pas arrivée à la valeur de base.

La valeur moyenne d'oxyhémoglobine de l'artère pour l'ensemble des sujets augmentait de $62,39 \pm 3,11$ à $64,85 \pm 3,25$ quand on passe d'hypoxie (gaz inspiré avec $15\%O_2$) à l'air ambiant (gaz inspiré avec $21\%O_2$). Ces valeurs étaient significativement différentes ($t=3,522$; $dl=7$; $p=0,00946$).

La valeur moyenne d'oxyhémoglobine des capillaires pour l'ensemble des sujets augmentait de $58,26 \pm 3,51$ à $60,82 \pm 3,00$ quand on passe d'hypoxie (gaz inspiré avec $15\%O_2$) à l'air ambiant (gaz inspiré avec $21\%O_2$). Ces valeurs étaient significativement différentes ($t=6,260$; $dl=7$; $p=0,00042$).

La valeur moyenne d'oxyhémoglobine de la veine pour l'ensemble des sujets augmentait de $42,79 \pm 3,68$ à $45,52 \pm 5,06$ quand on passe d'hypoxie (gaz inspiré avec $15\%O_2$) à l'air ambiant (gaz inspiré avec $21\%O_2$). Ces valeurs étaient significativement différentes ($t=4,339$; $dl=7$; $p=0,00346$).

En conclusion, le modèle mathématique estime les valeurs d'oxyhémoglobine avec des différences significatives pour des conditions de normoxie et d'hypoxie, respectivement.

Le Tableau 5, la Figure 54, la Figure 55 et la Figure 56 présentent, pour chaque sujet, les valeurs moyennes et les écart-types des taux d'oxyhémoglobine mesurés sur l'artère, sur les capillaires du nerf optique et sur la veine.

Ces graphiques montrent la capacité du modèle mathématique à détecter de variations d'oxyhémoglobine des vaisseaux rétiniennes suite à une variation d'oxyhémoglobine systémique.

Un autre paramètre qui nécessiterait d'être étudié, serait le paramètre m_3 représentant la contribution de terme $(\lambda)^{-n}$ à la fonction spectrale de réflectométrie. Une corrélation entre l'absorption du milieu oculaire et l'âge du sujet a été remarquée mais celle-ci n'a pas été étudiée à cause du petit nombre de sujets et de leur âge relativement jeune. Le terme $(\lambda)^{-n}$, représentant l'absorption du milieu oculaire et la diffusion sur les structures du fond de l'œil, en plus de varier en fonction de l'âge, varie également en fonction des différentes maladies oculaires, de la pigmentation du fond de l'œil ou si le sujet est fumeur ou non-fumeur. Des études sur l'influence de ces paramètres sur l'absorption et la diffusion des milieux oculaires sont en cours dans les laboratoires de l'École d'Optométrie.

Conditions		S1			S2			S3			S4		
		artère	capillaires	veine	artère	capillaires	veine	artère	capillaires	veine	artère	capillaires	veine
air ambiant	Ohb(%)	68,31	65,77	52,85	67,08	62,00	52,92	68,69	58,23	43,08	70,31	67,08	43,54
(21%O2)	écart-type	3,42	1,74	2,32	2,01	1,61	2,27	2,37	2,56	2,72	2,53	1,71	2,98
hypoxie	Ohb(%)	63,71	59,29	46,48	60,95	54,90	47,33	59,76	53,86	40,05	62,14	58,43	36,81
(15%O2)	écart-type	3,04	2,24	4,15	4,03	1,87	5,10	3,49	3,18	3,88	3,34	1,66	2,07
air ambiant	Ohb(%)	65,23	61,18	50,64	62,36	59,00	51,27	66,09	57,45	41,55	63,18	62,55	37,09
(21%O2)	écart-type	4,51	1,70	4,29	3,95	3,10	2,80	3,86	2,20	2,20	3,55	1,81	4,17

Conditions		S5			S6			S7			S8		
		artère	capillaires	veine	artère	capillaires	veine	artère	capillaires	veine	artère	capillaires	veine
air ambiant	Ohb(%)	69,38	62,08	50,69	68,77	65,62	46,46	69,92	58,85	48,08	75,23	69,69	49,54
(21%O2)	écart-type	3,17	2,24	3,14	2,63	1,39	2,79	3,50	2,08	3,00	2,29	1,60	2,01
hypoxie	Ohb(%)	62,86	59,33	43,52	61,86	59,48	41,86	58,86	55,76	40,33	69,05	65,05	45,95
(15%O2)	écart-type	5,73	4,83	5,95	3,54	1,54	2,92	4,16	1,45	3,63	4,71	1,75	4,42
air ambiant	Ohb(%)	63,09	60,64	49,36	63,82	61,45	44,27	62,82	57,64	42,09	72,27	66,73	47,91
(21%O2)	écart-type	3,47	3,04	4,38	2,46	1,69	3,33	4,84	1,58	5,93	2,17	1,17	5,96

Tableau 5. Valeurs moyennes et écarts-types des mesures d'oxygénation dans l'artère, les capillaires et la veine de la rétine, en condition d'hypoxie pour chaque sujet.

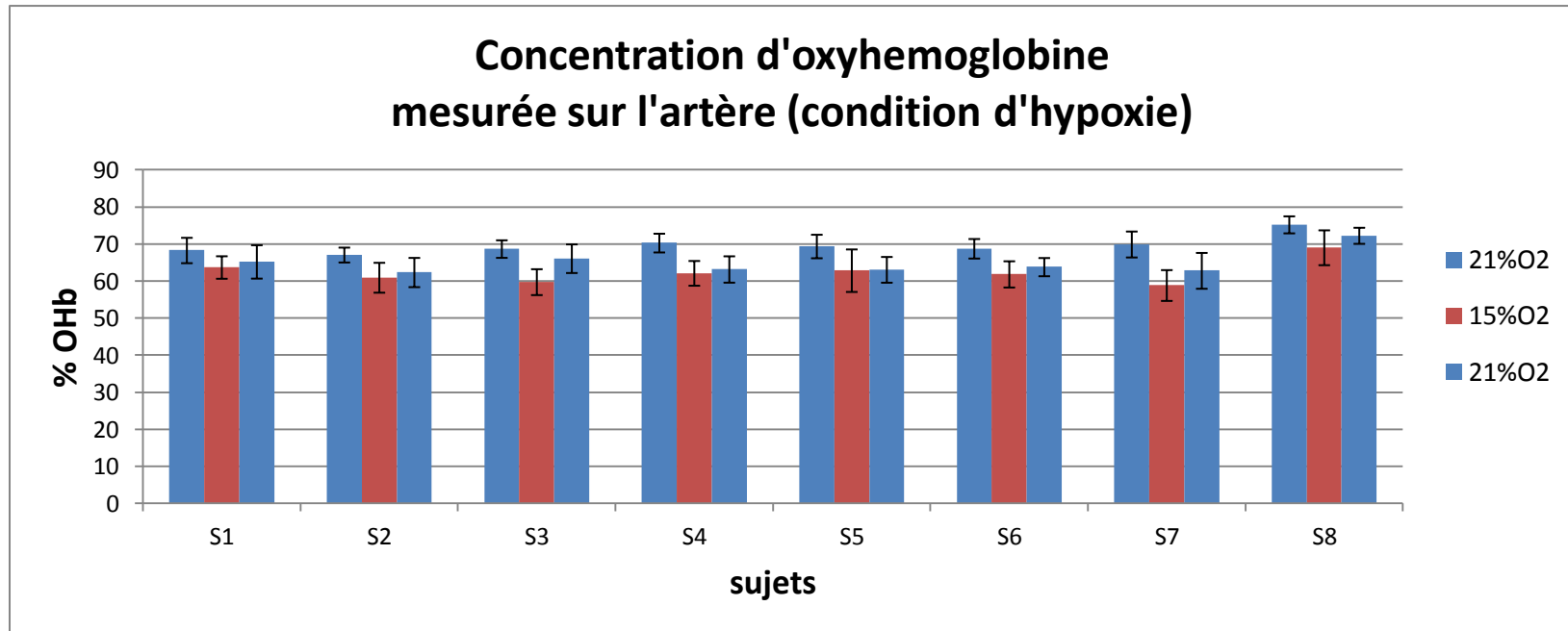


Figure 54. Oxygénation de l'artère de la rétine en condition d'hypoxie et de normoxie pour chaque sujet.

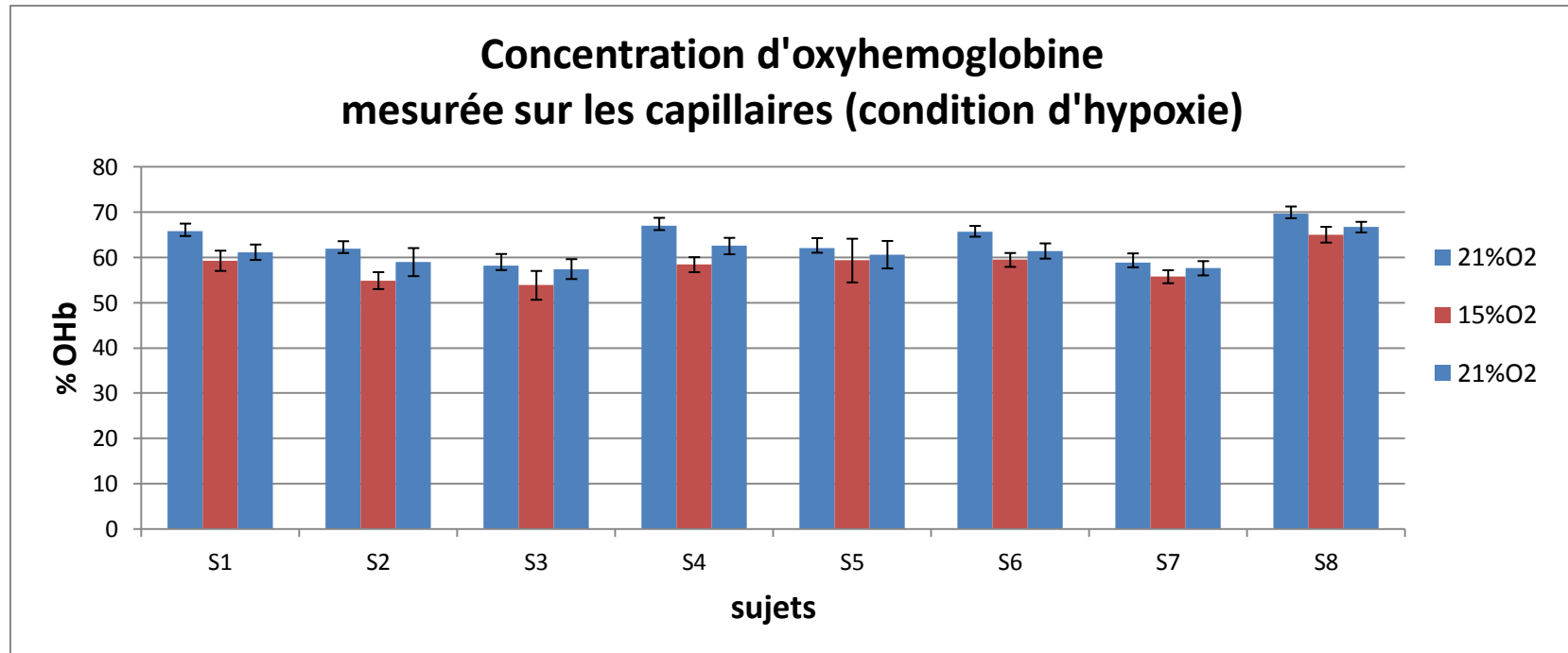


Figure 55. Oxygénation des capillaires du nerf optique en conditions d'hypoxie et de normoxie pour chaque sujet.

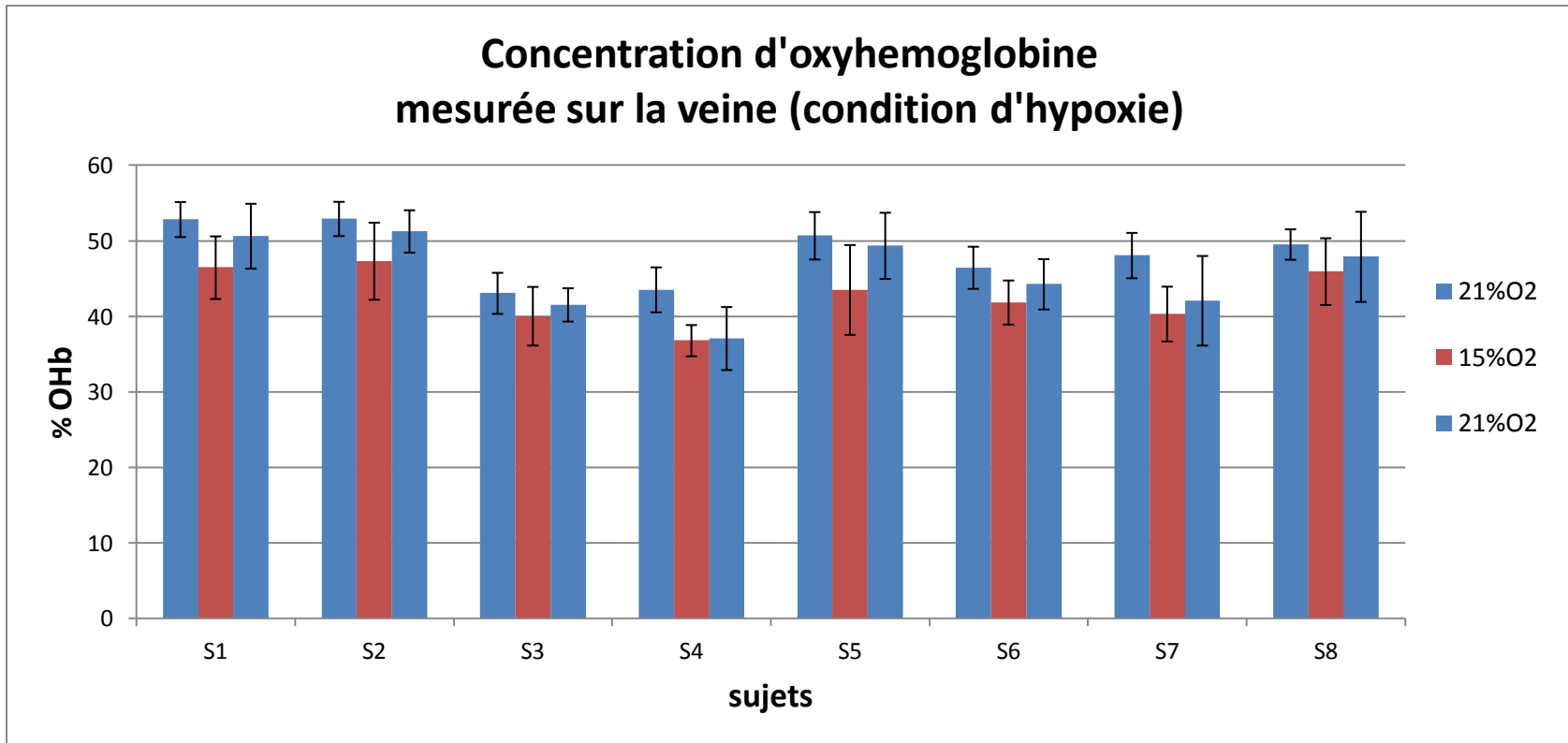


Figure 56. Oxygénation de la veine de la rétine en conditions d'hypoxie et de normoxie pour chaque sujet.

Ces expériences avaient pour but d'étudier la validité et la fidélité du modèle mathématique. Les résultats ont démontré clairement que les mesures peuvent être répétées tout en générant les mêmes résultats. La validité du modèle a été démontrée, plus exactement, le modèle mathématique explique la fonction spectrale de réflectométrie de l'œil et calcule la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine du sang dans les vaisseaux sanguins de l'œil, en conséquence il remplit ses objectifs. Ainsi, la validité interne du modèle mathématique, qui consiste à bien identifier la cause et l'effet, a été confirmée par ces dernières expériences effectuées dans les conditions de normoxie et hypoxie. Les variations d'oxygénations dans les vaisseaux rétiniens sont causées par la variation d'oxygénation systémique induite par le changement en concentration d'oxygène du gaz respiré. En ce qui concerne la validité externe du modèle, c'est-à-dire s'il est généralisable, on peut affirmer que le modèle explique les mesures sur l'artère, sur la veine et sur les capillaires du nerf optique, mais il sera incomplet pour expliquer la fonction de réflectométrie de la fovéa.

Les résultats, obtenus suite à ces expériences, seront complétés avec une analyse physiologique pour mieux comprendre les mécanismes d'autorégulation du flux sanguin des structures rétiniennes et feront l'objet de mon prochain article.

Chapitre 6. Article I : Blood oxygenation measurements by multichannel reflectometry on the venous and arterial structures of the retina.

Valentina Vucea, Pierre-Jean Bernard, Patrick Sauvageau and
Vasile Diaconu

Received 6 July 2011; revised 8 August 2011; accepted 8 August 2011;
posted 8 August 2011 (Doc. ID 150580); published 9 September 2011

Publié:

Applied Optics, 10 September 2011, Vol.50, No.26, pp. 5185-5191

L'article a été sélectionné pour être publié aussi dans :

The Virtual Journal for Biomedical Optics, 2 November 2011, Vol.6, No.10.

**Blood oxygenation measurements by multichannel reflectometry
on the venous and arterial structures of the retina**

Valentina Vucea², Pierre-Jean Bernard³, Patrick Sauvageau¹, and
Vasile Diaconu^{1,2}

¹School of Optometry, University of Montréal,
CP 6128 Succursale Centre-Ville, Montréal, Québec H3C 3J7, Canada

²Biomedical Engineering, University of Montréal,
CP 6128 Succursale Centre-Ville, Montréal, Québec H3C 3J7, Canada

³Biomedical Science, University of Montréal,
CP 6128 Succursale Centre-Ville, Montréal, Québec H3C 3J7, Canada

Abstract

The aim of the present study was to propose a model and a method to derive the oxyhemoglobin blood content in the retinal veins and arteries by full spectrum reflectometry measurements in the spectral zone from 430 to 680 nm. We proposed a mathematical equation expressed as a linear combination of two terms $S_{OHb}(\lambda)$ and $S_{Hb}(\lambda)$ representing the normalized spectral absorption functions of the hemoglobin and the oxyhemoglobin, one term λ^{-n} representing the ocular media absorption with scattering, and a family of multi-Gaussian functions, which usefully compensate for the noncompatibility of the model and the experimental data in the red spectral zone. The present paper suggests that the spectral reflection function in the area from 520 to 580nm is optimal in calculating the oxyhemoglobin concentration of the blood contained in the endothelial structures of retinal vessels. The model calculation needs a function $(1/\lambda)^{-n}$ that corrects for the ocular media absorption and light scattering on the vessels' structures. For the spectral area of lights with wavelength larger than 580 nm, the reflected light represents mainly the light scattering on the red blood cells.

1. Introduction

Alterations of retinal blood flow are the cause of the majority of ocular diseases. Blood flow and blood oxygenation represent the most important parameters to characterize the retinal metabolism. Presently, there is a large interest in measuring these parameters *in vivo* by noninvasive methods. While the methods proposed to estimate blood flow in retinal structures seem to be useful (Riva & Feke, 1981), (Feke & Riva, 1978), the existing methods utilized for the noninvasive blood oxygenation measurements in retinal vessels have inherent limitations, making a clinical application currently impracticable (Harris, et al., 2003).

Several technologies have been proposed to measure retinal blood oxygenation by photometric methods by using specific wavelengths from the visible or near-infrared spectrums (Pittman & Duling, 1975), (Beach, et al., 1999), (Beach, et al., 1999), (Hardarson, et al., 2006). These technologies are based on theoretical studies (Delori, 1988) that propose that, by using three specific wavelengths, it is possible to estimate the blood oxygenation in a sample of blood without calibration. However, the retinal vessels represent a heterogeneous medium in continuous motion. Thus, the measurements of retinal blood oxygenation by photometric methods using only a few specific wavelengths represent a rough estimation.

Recent developments in this field suggest estimating the retinal blood oxygenation by full spectrum reflectometry measurements using multichannel spectrometers that perform fast photometric measurements for a large range and

a high number of wavelengths (Schweitzer, et al., 2001), (Schweitzer, et al., 1999). It was demonstrated (Schweitzer, et al., 1995) that by increasing the number of wavelength measurements, the precision of the blood oxygenation evaluation increases with about the square root of the considered wavelength number.

Spectral reflectometry measurements using the multichannel technique have shown that the reflectometry function obtained from a retinal structure represents a combined complex of different scatter and absorption functions. So the overall reflection function contains the spectral absorption components of the blood mixed with the spectral absorption components of all eye structures, traversed by the light towards the retina and from back reflection towards the exit of the eye. Furthermore, the light scattered by the red blood cells and vessel structures represents an important contribution to the overall reflection function (Schweitzer, et al., 1999).

In fact, the reflectometry function in the visible spectral region from veins and arteries was not completely explained by any recent model (Schweitzer, et al., 1999). In consequence, Schweitzer et al. (Schweitzer, et al., 1999) proposed to derive the oxyhemoglobin blood content in veins and arteries by using the reflectometry data from the spectral zone of 510 to 586 nm. In this spectral zone, the blood absorption has a major contribution to the overall reflectometric function while the ocular media absorption and erythrocytes scattering are minimal. The same authors concluded that for wavelengths larger than 590 nm,

the spectral reflectometry data is largely affected by the light reflected by the red blood cells.

A particular condition was exposed by Diaconu (Diaconu, 2009), who discovered that the reflectometry function obtained from the optic nerve capillary structures involves the same spectral characteristics as the reflectometry function from a sheet of white paper tinted with blood. He proposed a linear mathematical model that fully explains the reflectometry functions from the capillary structures of the optic nerve area in the visible spectral zone from 430 to 680 nm. The proposed procedure consists of applying the mathematical model to only one wavelength zone of the reflectometry function and to use the results to explain the other wavelength zone of the reflectometry function. By using this procedure, it can be verified if the model results represent a valid solution for all the experimental data that contain noise.

The aim of the present study was to derive the oxyhemoglobin blood content in the retinal veins and arteries by reflectometry measurements in the spectral zone from 430 to 680 nm using the model and method proposed by Diaconu (Diaconu, 2009) for the optic nerve capillary structures.

In fact, we consider that the structural composition of the limiting membrane of the blood vessel and its diameter represent the principal physiological characteristics that change the optical reflection properties on the different vessel types. By examining the retina using a simple ophthalmoscope, it is evident that the light reflected from an artery or a vein is of less intensity compared to the light reflected from the microcapillaries' structures.

The veins and the arteries have relatively large diameters that allow a more important blood volume in a deeper path to be exposed to the illumination. In fact, under white light retinal illumination, the veins and arteries appear red (light red for the arteries and dark red for the veins), whereas the coloring of the capillaries' structures from the optical nerve zone appear more of a reddish white, demonstrating that the long wavelengths are relatively more reflected by the veins' and arteries' structures when compared to the zone containing the capillaries' structures.

2. Methods

The reflectometry spectral function was continuously recorded by the multichannel technique, as shown in Fig. 1 (800 wavelengths from 430 to 680nm for each 500 ms), on arteries, veins, and the optic nerve capillary zone, during 20 s at 0.5 s integrals for a steady state intensity of a white light retinal illumination from six healthy subjects. More details on a similar apparatus and the measurement technique were presented previously (Diaconu, 2009). In the actual apparatus, the coupling between the fundus camera, the CCD video camera, and the spectrograph was accomplished using a pinhole mirror that reflects the whole image of the retina to the video camera except for the axial zone, where a pinhole 0.5 mm in diameter lets the light enter through to the spectrograph. The electron multiplication CCD camera for spectroscopy has been programmed in a special horizontal binding mode where four horizontal

elements are grouped together. This horizontal binding mode reduces the measured wavelength number from 1600 to 800 and improves the signal–noise ratio.

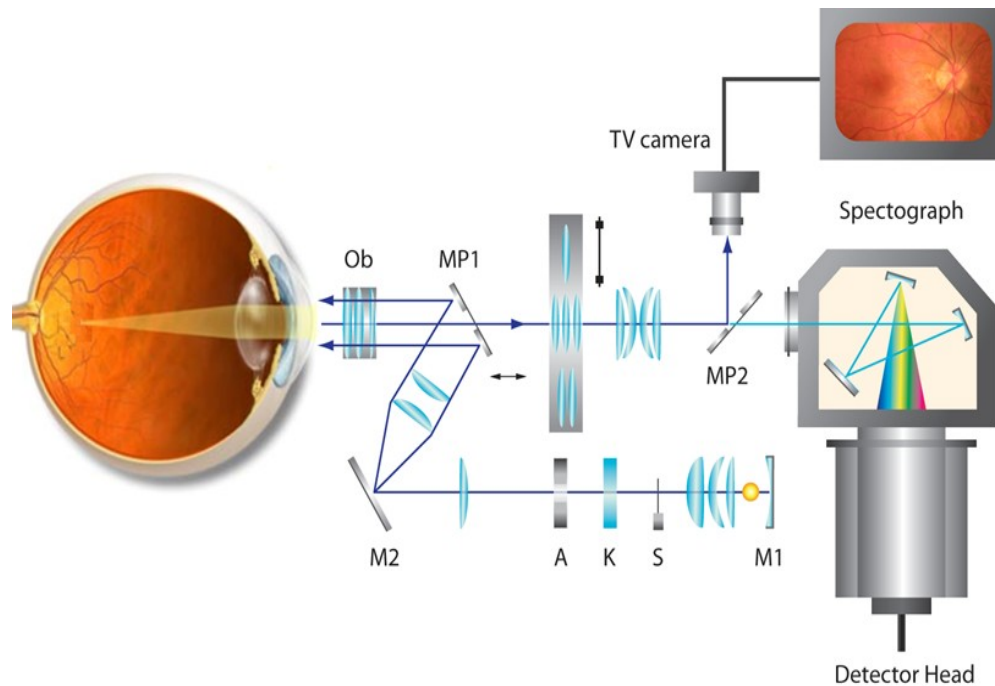


Fig. 1. Schematic view of the multichannel reflectometry system for the eye. Ob, lens; MP1, mirror pinhole 1; MP2, mirror pinhole 2; M1, mirror 1; M2, mirror 2; A, aperture; K, neutral filter; S, shutter.

Three different measurement sessions were obtained from each subject at 1 h intervals. Before and after each measurement session, the spectral intensity of the incident light was measured using an artificial eye with a matte surface of BaSO₄ considered as a neutral reflector at the site of the retinal fundus.

The incident spectral light and the reflected light from the retinal structures were corrected for the dark signal.

3. Model

The mathematical equation used to derive the hemoglobin and the oxyhemoglobin contribution spectra to the overall reflectometry absorption function $A(\lambda)$ from the optic nerve, veins, and arteries, was expressed as a linear combination of two terms, $S_{OHb}(\lambda)$ and $S_{Hb}(\lambda)$, representing the normalized spectral absorption functions of the hemoglobin and the oxyhemoglobin and one term λ^{-n} representing the ocular media absorption with scattering. One constant factor k was also included in the model,

$$A(\lambda) = m_1 * S_{Hb}(\lambda) + m_2 * S_{OHb}(\lambda) + m_3 * \lambda^{-n} + m_4 * k \quad (1)$$

The m_1, \dots, m_4 parameters represent the contribution of each term from Eq. (1) to the overall reflectometry absorption function $A(\lambda)$. Oxyhemoglobin concentration has been calculated using the formula $OHb\% = m_2 / (m_1 + m_2)$. The model has been applied to only one wavelength zone of the reflectometry spectral function, and the results of the model have been used to explain the other wavelength zone of the reflectometry function.

In the second model, we include in a multi-Gaussian function to compensate for the noncompatibility of the model and the experimental data in the red spectral zone,

$$A(\lambda) = m_1 * S_{Hb}(\lambda) + m_2 * S_{OHb}(\lambda) + m_3 * \lambda^{-n} + m_4 * k + \sum_{i=1}^n m_{4+i} * N(\mu_i, \sigma^2) \quad (2)$$

The role of the multi-Gaussian function was to subtract the noise from the overall reflectometry function and to protect the model for any given interfering signal. The noise may be created by the light scattered or absorbed on any given structure not predicted by the model.

The laboratory simulations showed that such a model predicts a null multi-Gaussian function when the model is applied to the spectral data without noise or additional interfering signal. However, the multi-Gaussian functions can reconstitute and separate any given spectral signal induced into the data formerly not predicted by the model.

In the present study, μ represented a vector of 18 equidistant elements on the wavelength scale from 580 to 670nm with an interval of $\sigma = 5\text{nm}$.

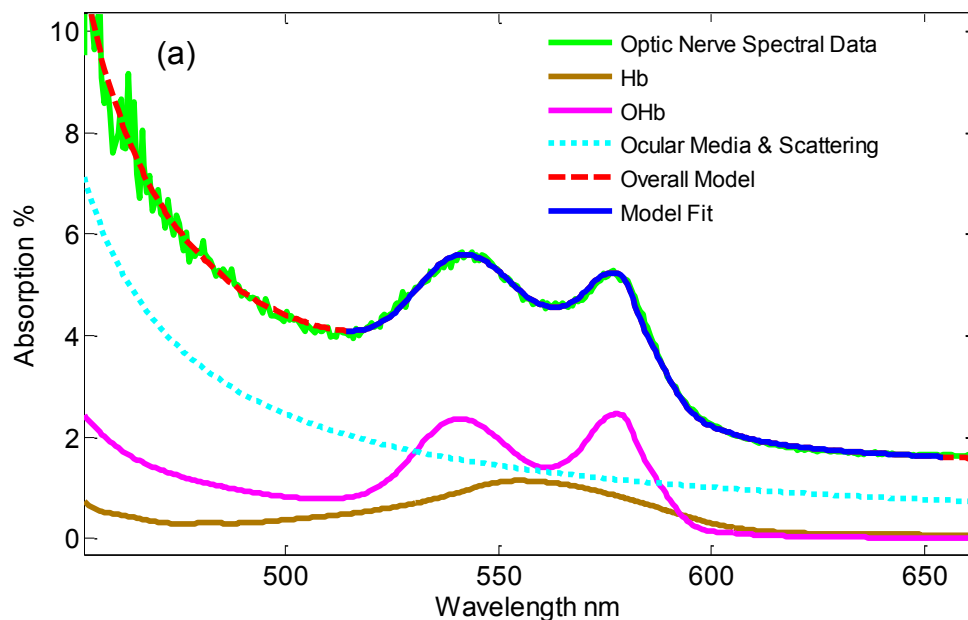
Then, $\mu = [580\text{nm}:5\text{nm}:670\text{nm}]$ and $n = \text{length}(\mu) = 18$.

4. Results and Discussions

Figure 2 shows an example of reflectivity absorption function (430 to 640 nm) from the optic nerve, vein, and artery, as well as the model fit contributions predicted by the Eq. (1) system applied to the spectral data from 530 to 590 nm.

Fig. 2 also illustrates the contributions of the hemoglobin, the oxyhemoglobin, and the ocular medium absorption with light scattering predicted by the model to explain the overall reflectivity absorption function.

The results shown in Fig. 2 reveal that the model results represented by Eq. (1) applied for the spectral data from 530 to 590 nm can well explain the entire reflectometry function (430 to 640 nm) from the optic nerve structures (Diaconu, 2009). However, the model results cannot explain the reflectivity function on the veins and arteries in the red spectral zone.



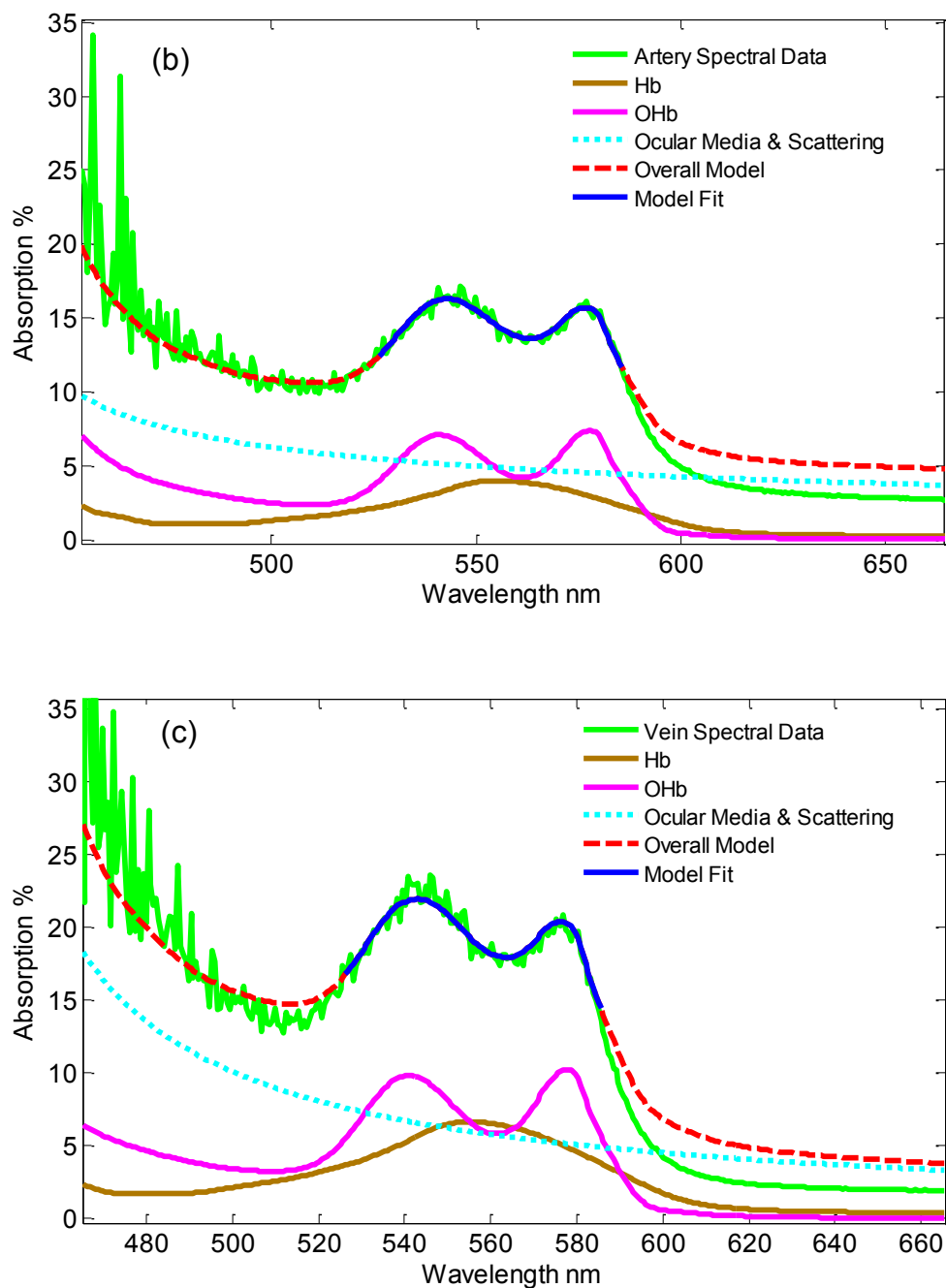


Fig. 2. Graphical representation of the model fit applied to the experimental data obtained from (a) optic nerve capillaries, (b) arteries, and (c) veins. The contributions of hemoglobin, oxyhemoglobin, and optical medium absorption including the scatterings are shown.

From the model results presented in Fig. 2, we understand that the reflectometry spectral data from veins and arteries include two reflectivity mechanisms. One mechanism is evident in the spectral zone from 430 to 590 nm where the light reflection on the veins and arteries is similar with the reflection mechanism on the microcapillary structures. A linear model can explain the reflectometry function in this spectral zone. A distinct reflection mechanism is evident in the red spectral zone where the absorption function is reduced when compared with the model prediction applied to the spectral data from the 430 to 590 nm zone. In fact, the model predicts that there are relatively more red light reflections on the veins and arteries than on the capillary structures.

This result confirms the Schweitzer et al. (Schweitzer, et al., 1999) proposal, so that in the red spectral zone, the light scattering the red blood cells is important and depends on the blood volume exposed to the light path.

To explain the mechanisms involved in light reflection and absorption on veins and arteries, we propose a hypothetical model represented by Eq. (3), where the reflected light from the blood vessels represent two different scattering and absorption mechanisms:

$$I_S(\lambda) = I_{S1}(\lambda) + I_{S2}(\lambda) \quad (3)$$

One mechanism is represented by the light scattered and absorbed on the frontal structure of the blood vessels in which a very small fraction of the incident light is absorbed by a very thin film of the blood contained in endothelial

structures [Eq. (4)]. This mechanism is similar to the model suggested by Diaconu (Diaconu, 2009) to explain the light scattering and absorption of the microcapillaries structures.

$$I_{S1}(\lambda) = K * I_0(\lambda) * [m_1 * S_{Hb}^{-1}(\lambda) + m_2 * S_{OHb}^{-1}(\lambda)] \quad (4)$$

where K represents the fraction of incident light (I_0) scattered on the endothelial structures, m_1 and m_2 represent the coefficients for the hemoglobin and oxyhemoglobin blood content, and $S_{HB}(\lambda)$ and $S_{OHb}(\lambda)$ represent the hemoglobin and oxyhemoglobin spectral absorption functions.

In the second mechanism, a very large fraction of the incident light penetrates the blood vessels' volume. This light will be partially backscattered on the red blood cells found inside the blood vessel (Schweitzer, et al., 1999) and partially absorbed by the erythrocytes while crossing twice the blood volume, following a reflection on the structures of the eye behind the vessel.

$$I_{S2}(\lambda) = K_s * [I_0(\lambda) - I_{S1}(\lambda)] * \{1 - 10exp\{-2 * d_v * [m_1 * S_{Hb}(\lambda) + m_2 * S_{OHb}(\lambda)]\}\} \quad (5)$$

where d_v represents the vessel diameter and K_s represents the scattering and reflection fraction.

Equation (5) expresses the mechanism where a fraction of the light is scattered on the red blood cells and another fraction is absorbed by erythrocytes

traveling twice the blood volume $2 * d_v$ following a reflection on the structures of the eye behind the vessel (Hammer, et al., 2001).

The model results for the two mechanisms of scattering and absorption represented by Eq. (3) are illustrated in Fig. 3.

From Fig. 3, we notice that in the spectral area from 400 to 580 nm, the reflectometry function results mainly from the diffusion on the frontal endothelial structure of the blood vessels. In other words, the light, which will have to cross the blood vessel volume, is strongly absorbed by it. The contribution of this light to the reflectometry function is negligible in the spectral zone from 400 to 580nm. However, the light of wavelengths larger than 590nm is less absorbed by the blood, making the blood almost transparent to this light. The data represented in Fig. 3 show that in the spectral area for wavelengths larger than 590 nm, the light that is scattered on the red blood cells or reflected on the retina structures behind the blood vessels could be dominant compared to the light scattered on the frontal structure of the blood vessels.

The model represented by Eq. (2) was proposed to regulate for noncompatibility between the Eq. (1) model and the reflectometry experimental data in the red spectral zone. The multi-Gaussian functions can predict the amount of the light scattered on the red blood cells that depend on the blood vessel diameter.

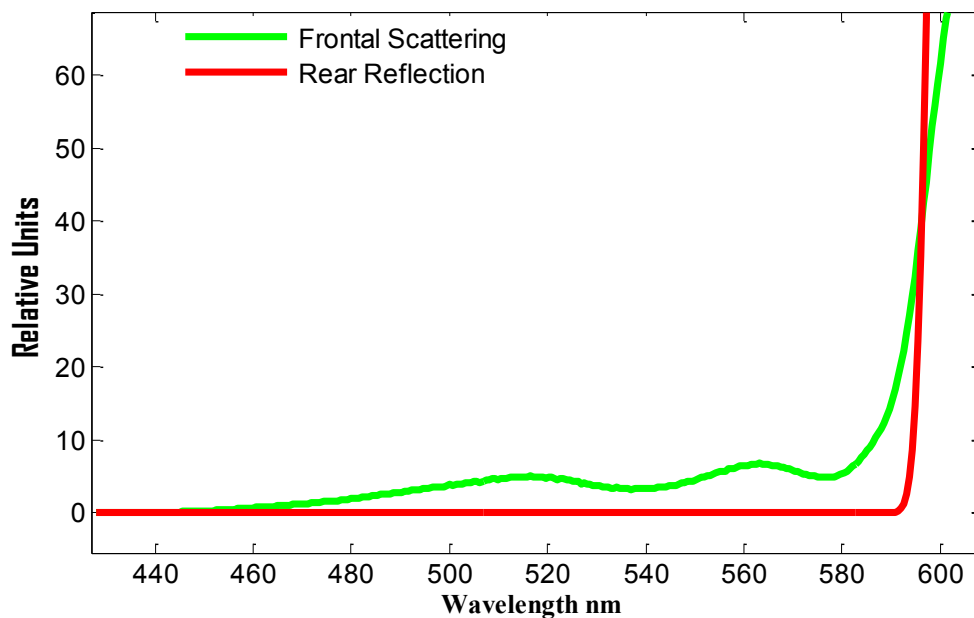
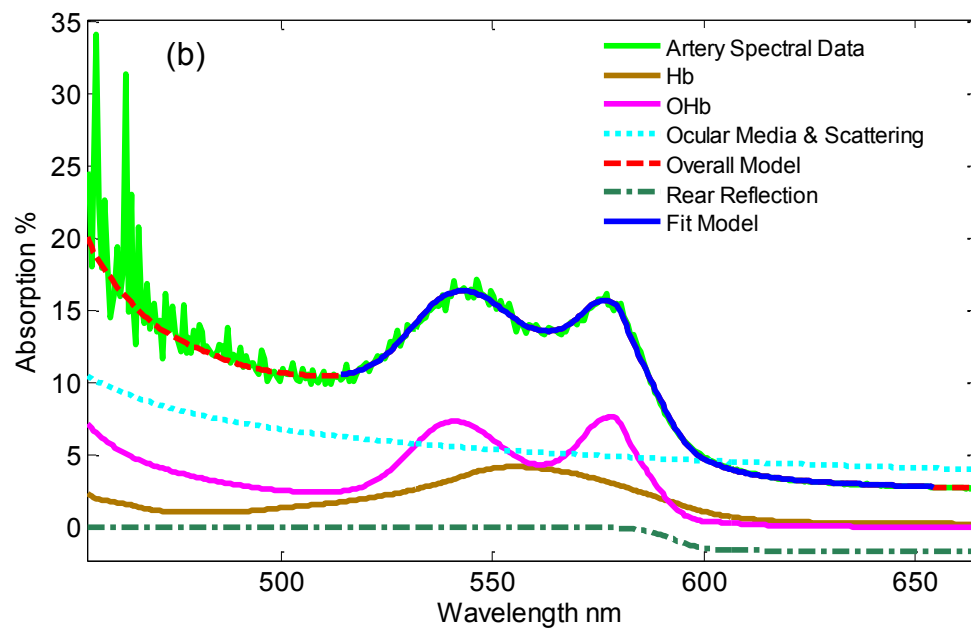
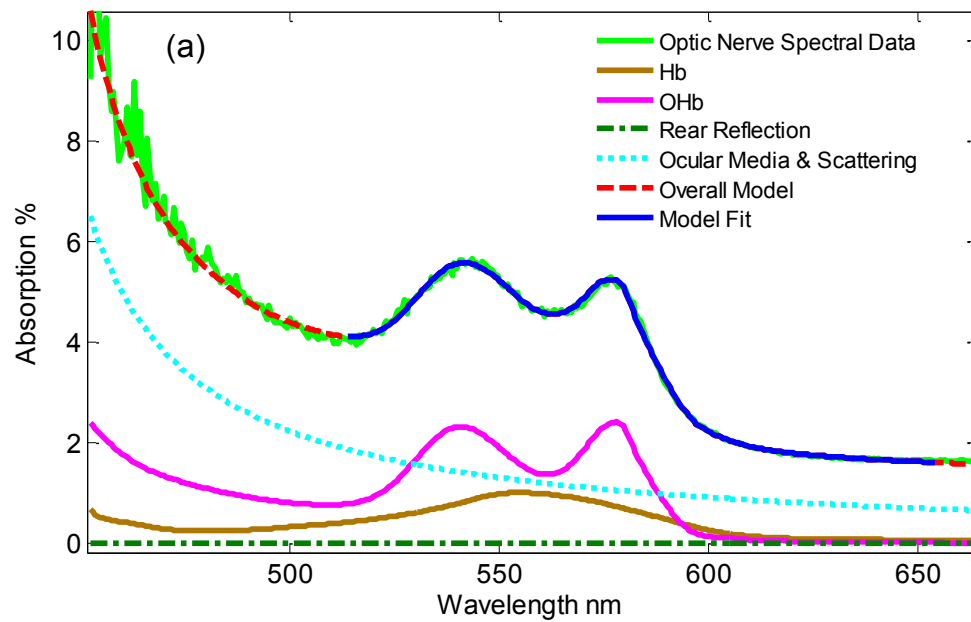


Fig. 3. Graphical representation for the two mechanisms representing the frontal scattering on the endothelial structure of blood vessels and the rear reflection with scattering on the hematocrits [Eq. (3)].

In Fig. 4 are shown examples of diverse spectral reflectometry absorption functions for the optic nerve, vein, and artery alongside the model fit predicted by the system of Eq. (2) applied for the reflectometry data from the 530 to 680 nm spectral zone.

The results shown in Fig. 4 demonstrate that the system of Eq. (2) can well explain the overall spectral reflectometry function measured from the optic nerve head capillaries', veins', and arteries' structures. The multi-Gaussian functions illustrate the amount of light scattered on the red blood cells, an amount relatively significant for both veins and arteries.



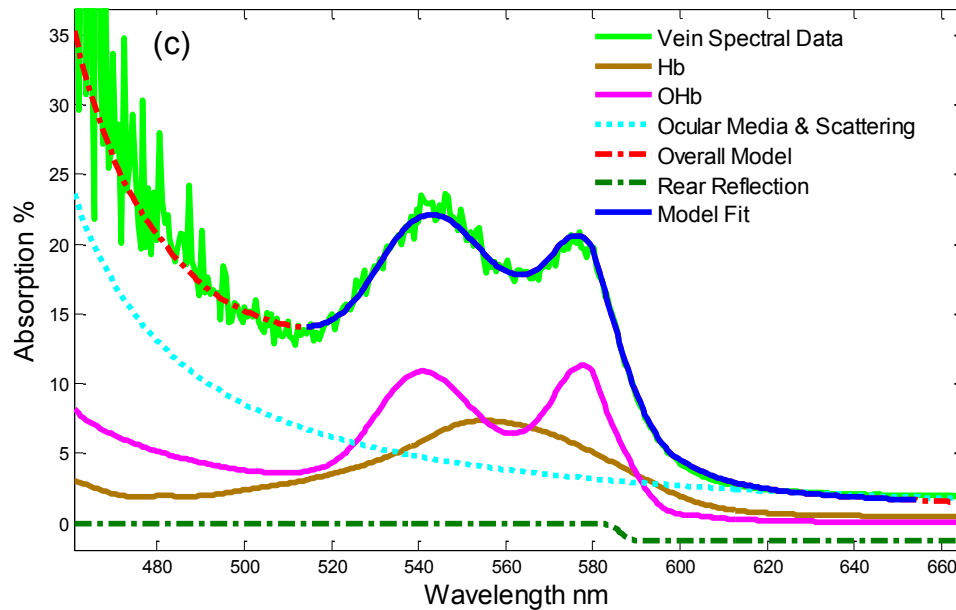
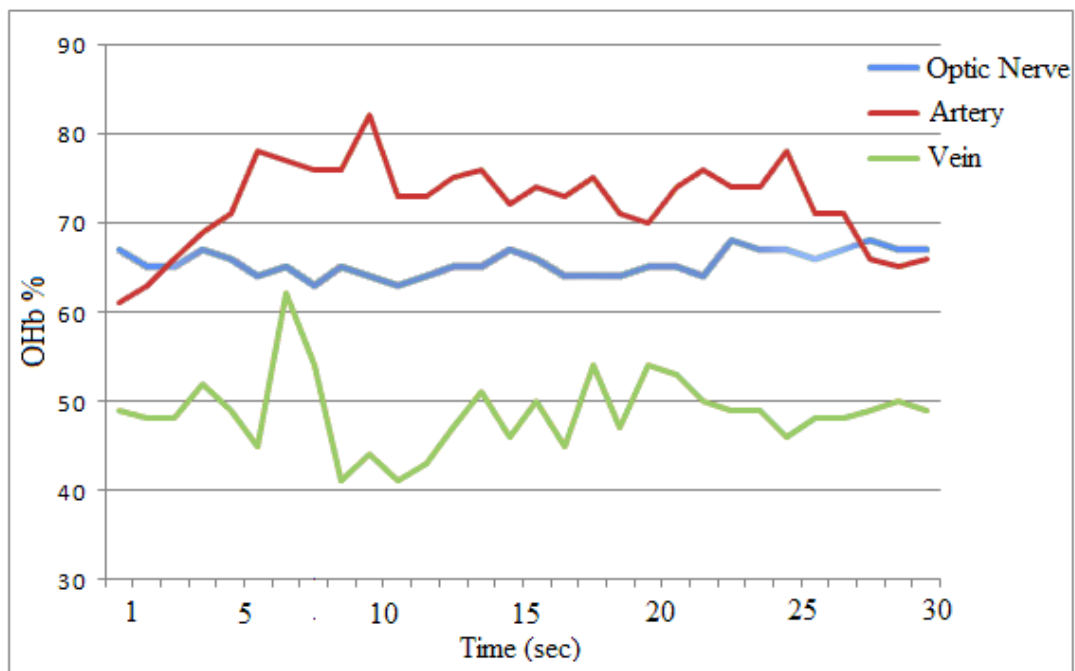


Fig. 4. (a) Graphical representation for the calculated fitting curve by the second model [Eq. (2)] applied to the experimental data obtained from the (a) optic nerve, (b) arteries, and (c) veins. The contributions of hemoglobin, oxyhemoglobin, and optical medium absorption including the scatterings are shown. The rear reflection (red scattering light) estimated by the multi- Gaussian function is also represented in the figure.

Figure 5 shows an example of the blood oxygenation values derived with the second model applied for 30 consecutive reflectometry measurements on the artery, vein, and optic nerve capillaries of a subject. The results from Fig. 5 can be grouped into three ranges of blood oxygenation values with average values of about 75% for arteries, 50% for veins, and 65% for optic nerve capillaries.

The range of blood oxygenation values in arteries is greater than the oxygenation values found in capillary structures. On the other hand, the venous oxygenation values are always lower than those of capillary structures. It should also be noted that the blood oxygenation values derived from venous and arterial structures present a wide variability compared to the blood oxygenation values derived from capillary structures.



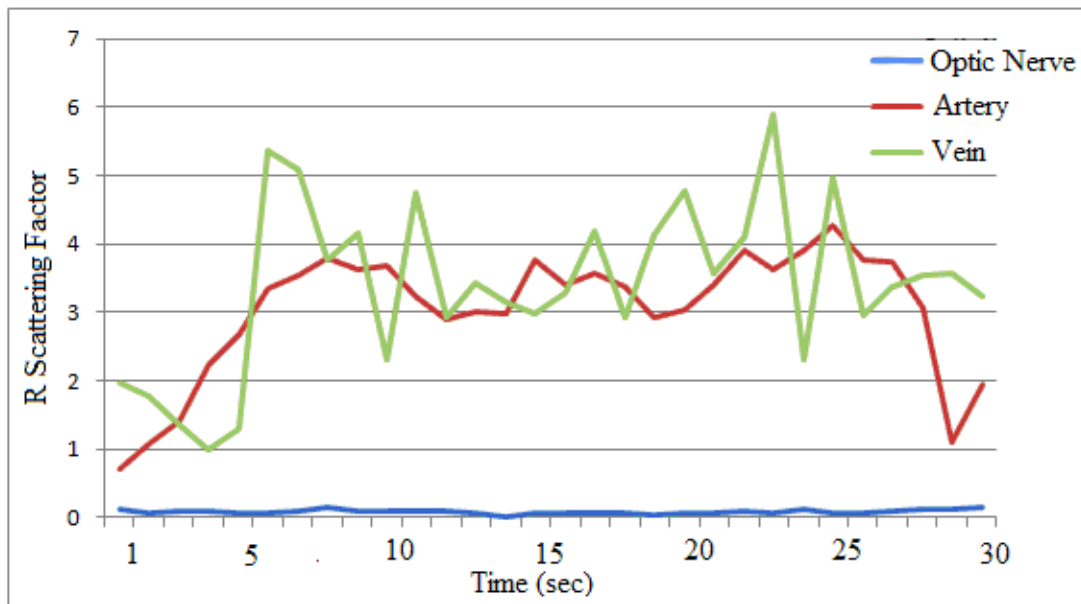


Fig. 5. (a) Example of blood oxygenation values derived with the second model and (b) intensity of the light scattered in the red wavelength zone (R scattering factor) of the reflectometry function derived by the multi-Gaussian function from the second model applied for 30 consecutive reflectometry measurements on the arteries, veins, and optic nerve capillaries from one subject.

The eye motion represents the primary cause of the variability of blood oxygenation estimation by reflectometry measurements. The optic nerve zone represents the best area in the eye for reflectometry measurements compared to veins and arteries because of its high reflectivity factor and relatively large and homogeneous area.

The veins and arteries present a curved reflectivity surface. The detection of the light reflected from artery or vein depends greatly on the relative position of the sensor direction to the blood vessel axis. In consequence, the eye motion plays a significant role in the variability of the reflectometry measurements on the veins and arteries and implicitly on the derivative values of blood oxygenation.

Figure 5(b) shows the intensity of light scattered in the red wavelength zone (R scattering factor) derived by the multi-Gaussian function from the second model. The data presented in Fig. 5(b) confirm that the R scattering factor values are in direct correlation with the blood vessel diameter. It is noticeable that for reflectometry measurements from the optic nerve zone, the R scattering factor shows very low values that are consistent with the small diameter of capillaries.

Figure 6 shows possible correlations between the oxygenation values and the R scattering factor derived from 30 consecutive measurements from an artery, a vein, and an optic nerve capillary zone of a subject. From Fig. 6 we understand that the R scattering factor can be in direct correlation with the arterial blood oxygenation values and in inverse correlation with the venous blood oxygenation values. The correlation between the blood oxygenation values and the R scattering factor from the optic nerve capillaries is low, which is consistent with the homogeneity of the optic nerve zone. From the correlation of the results shown in Fig. 6, we understand that it is possible to select the blood oxygenation values corresponding to the axial position of the sensor direction relative to the blood vessel axis, considering that the maximum values of the R

scattering factor are obtained when the sensor's direction is aimed at the blood vessel axis.

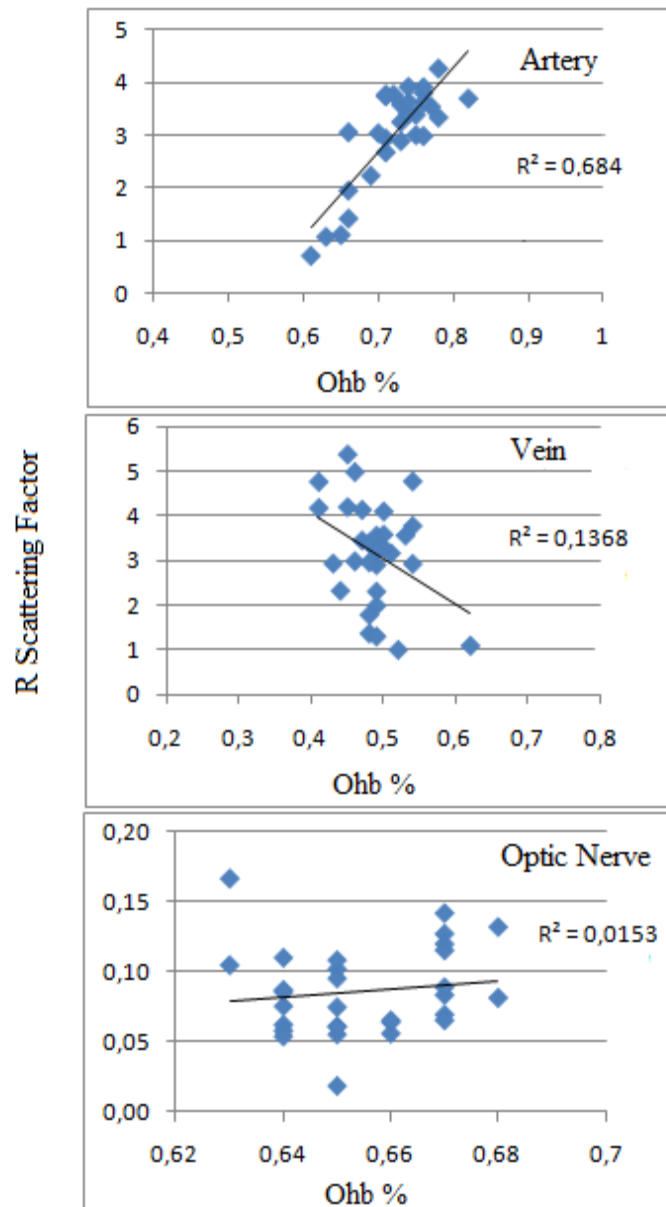


Fig. 6. Correlation between the oxygenation values and the R scattering factor for the results from artery, vein, and optic nerve capillaries.

In this case, the R scattering factor values will be useful to reduce the variability of blood oxygenation values corresponding to eye motion. However, the data represented in Fig. 6 show that the reflectometry measurements corresponding to the axial position of the sensor's direction relative to the blood vessel axis grant maximum oxygenation values for measurements from the arteries and minimum oxygenation values for measurements from the veins (Schweitzer, et al., 1999). We suggest that the sensor positions outside of the blood vessel axis will allow the capture of a stray light scattered from the adjacent structures of the vessel that are reflected on the wall vessel. Generally, the blood oxygenation of the capillary structures beside the large retinal vessel is lower than the arterial blood oxygenation and elevated more than the venous blood oxygenation. Then the stray light scattered from the adjacent structures of a vessel contributes to reducing the blood oxygenation estimation in arteries while increasing the estimated value of the blood oxygenation in veins.

Figure 7 shows the results for oxyhemoglobin blood content (percent) measured from arteries', veins', and optic nerve capillaries' zones in 12 subjects.

Similar to the results presented in Fig. 5 from one subject, the results presented in Fig. 7 can be grouped into three ranges of blood oxygenation with average values of about 73% for arteries, 47% for veins, and 63% for optic nerve capillaries.

It is notable that the arterial blood oxygenation values derived by this model are 10% lower than the arterial blood oxygenation values reported by Schweitzer et al. (Schweitzer, et al., 1999).

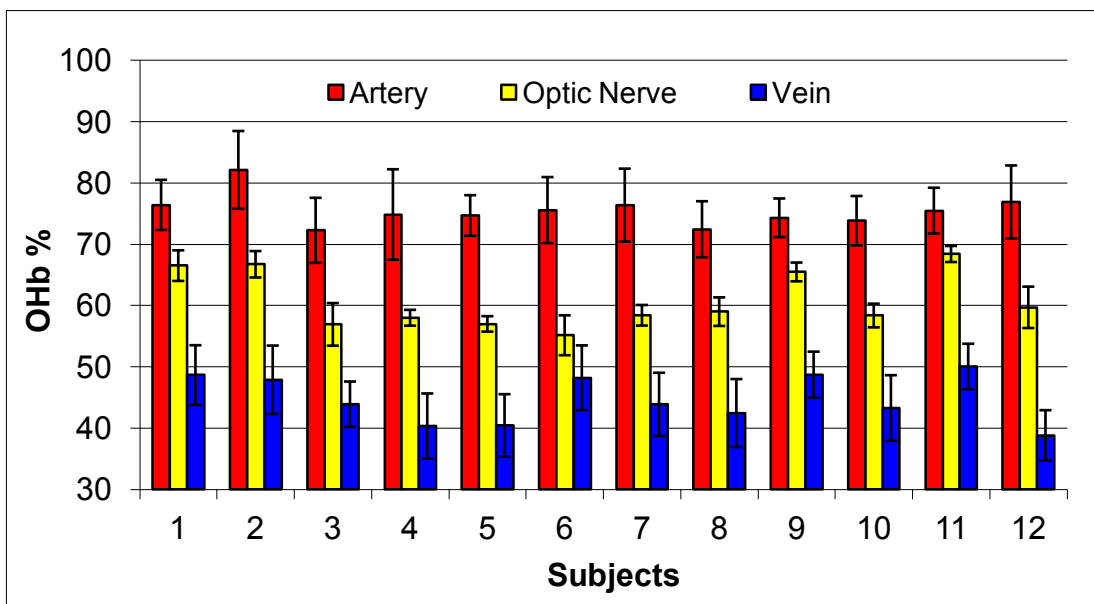


Fig. 7. Mean values for oxyhemoglobin blood content (percent) measured from arteries', veins', and optic nerve capillaries' zones in 12 subjects.

This difference could have two causes.

i. The technique of the reflectometry signal measurement could cause it because if the reflectometry signal is collected from a larger area of the artery, more diffused light from the adjacent zone of the vessel is collected, which induces a decrease of the derived blood oxygenation values.

ii. The model for oxyhemoglobin derivation contains the function λ^{-n} , which corrects the reflectometry data for the ocular media absorption and the diffusion of the light on the blood vessel. Without this correction, the derived blood oxygenation values would be higher.

However, the variability of the arterial blood oxygenation values between the various subjects is relatively low compared to that of the venous blood oxygenation variability. One explanation may be that the retinal arterial blood oxygenation depends on the systemic arterial blood oxygenation, which is a uniform parameter for people in good health. The venous blood oxygenation of the retina depends on the arterial blood oxygenation, but also on the retinal metabolism and blood flow. Our results on the venous blood oxygenation suggest that the retinal metabolism or retinal blood flow can be specific to each subject, even if the same quantity of light were employed to illuminate the retina during the measurements (Birol, et al., 2007), (Riva, et al., 1983).

5. Conclusions

The results of the model revealed that the retinal spectral reflectometry signal is complex, containing scattering, reflection, and absorption lights, each type of light presenting a specific predominance in the different spectral zones of the retinal reflectometry function.

i. The spectral absorption function of the blood is dominant in the spectral zone from 520 to 580 nm.

ii. The ocular media spectral absorption function and the light scattering on the blood vessels' structures are dominant in the spectral zone with wavelengths shorter than 520 nm.

iii. In the spectral zone of wavelengths larger than 590 nm, the light scattering on the red blood cells and the light reflection from the eye structures behind the vessel is dominant.

The present paper suggests that the spectral reflection function in the area from 520 to 580nm is optimal in calculating the oxyhemoglobin concentration of the blood contained in the endothelial structures of retinal vessels. The model calculation needs a function $(1/\lambda)^{-n}$ that corrects for the ocular media absorption and light scattering on the vessels' structures. The $(1/\lambda)^{-n}$ function must be modeled so that the model results from the spectral zone of 520 to 580 nm are also a solution for the reflectometry function in the 430 to 520nm spectral zone (Diaconu, 2009). For the spectral area of lights with wavelengths larger than 580 nm, the reflected light mainly represents the light scattering on the red blood cells.

The quantity of this light (R scattering factor) may be derived using a multi-Gaussian function. The R scattering factor representing the amount of the scattered light in the red wavelength zone may be a useful parameter to estimate the relative variation in retinal vessel diameter and can also be helpful in correcting the errors in blood oxygenation estimation caused by eye motion.

6.1. Contribution

Ce projet de recherche m'a été suggéré par mon superviseur Dr. Vasile Diaconu, mais l'orientation théorique et méthodologique ont été le résultat de nombreuses discussions entre le Dr. Vasile Diaconu et moi. La gestion de l'organisation du projet, afin de réaliser les objectifs proposés, a été réalisée par moi. Chaque expérience, décrite dans le chapitre 5 « Méthodologie » et dans ce premier article, a été conçue et menée par moi. Pendant les séances d'expériences, j'ai reçu l'aide de deux optométristes, Pierre Jean Bernard et Patrick Sauvageau, pour la collecte de certaines données et pour effectuer des tests afin de confirmer que les structures rétiniennes des sujets participants à l'étude sont en bonne santé. Ce premier article, y compris les tableaux et les figures, a été écrit par moi. L'idée d'introduire une fonction multigaussienne dans le modèle mathématique a été proposée par moi et approuvée par Dr. Vasile Diaconu. L'analyse et l'interprétation des résultats ont été réalisées par moi et la révision du contenu intellectuel d'article par Dr. Vasile Diaconu.

**Chapitre 7. Article II: Optic Nerve Head Capillaries Blood
Oxygenation Following Dynamic Exercise in Human**

Patrick Sauvageau, Valentina Vucea and Vasile Diaconu

Cet article sera soumis pour publication dans la revue Investigative
Ophthalmology & Visual Science

Optic Nerve Head Capillaries Blood Oxygenation Following Dynamic Exercise in Human

Patrick Sauvageau¹, Valentina Vucea² and Vasile Diaconu^{1,2}

¹School of Optometry, University of Montréal,
CP 6128 Succursale Centre-Ville, Montréal, Québec H3C 3J7, Canada

²Biomedical Engineering, University of Montréal,
CP 6128 Succursale Centre-Ville, Montréal, Québec H3C 3J7, Canada

Abstract

Purpose: It is generally suggested that the blood flow in the human eye retinal vessels can be regulated to satisfy the metabolic requirements. This physiological process called auto-regulation is engaged to maintain a relatively constant ocular blood flow to compensate for changes in the ocular perfusion pressure. The goal of the present study was to investigate the blood oxygenation of the optical nerve capillaries, in function of the ocular perfusion pressure changes, after dynamic exercise.

Methods: Six healthy non-smoking men have participated in the study. A high level physical effort has been generated by using the computerized stationary bicycle. The pulse rate (PR) of 160 beats per minute has been always reached after a session of 15 minutes of exercise for each subject. The blood oxygenation of the optic nerve's capillaries (BOONH) has been derived by the multichannel spectroscopy technique. The BOONH, brachial blood pressure (Bp), intraocular pressure (IOP) and systemic arterial blood oxygenation have been evaluated in each subject before and after the exercise session.

Results: The results demonstrate the correlations between the IOP and BOONH variations for each subject. These correlations indicate that following an intense physical exercise the subjects who have demonstrated an important reduction in IOP also have experienced an important reduction in BOONH.

Conclusions: The results of the present study are in agreement with previous studies which explain that the optic nerve's blood oxygenation is regulated by the IOP, the mean arterial blood pressure and the retinal blood vessels resistance.

List of abbreviation

BO _{ONH}	blood oxygenation in the optic nerve head capillary
BP	blood pressure
BPd	diastolic blood pressure
BPm	mean arterial blood pressure
BPs	systolic blood pressure
Bvol	capillary blood volume
IOP	intraocular pressure
OBF	ocular blood flow
OD	right eye
OPP	ocular perfusion pressure
PR	pulse rate
RSF	red scattering factor

Introduction

It is generally accepted that blood supply to the human eye can be regulated, by a physiological process called autoregulation. The role of this mechanism would be to maintain a relatively constant ocular blood flow (OBF) despite changes that may occur in ocular perfusion pressure (OPP). The blood flow regulation would be achieved by continuous adjustments to the vascular tone of the blood vessels (Hayreh, 2001), (Pournaras, et al., 2008). It was shown that blood flow regulation could occur at the ophthalmic artery level (Michelson, et al., 1994), at the retinal circulation level (Harris, et al., 1996) and at the optic nerve head level (Movaffaghy, et al., 1998), (Pillunat, et al., 1985), (Riva, et al., 1997). However, there is a limit to which the blood vessels can contract or dilate. As a consequence, the OBF regulation mechanism cannot regulate the OBF under all conditions (Hayreh, 2001). Many studies tried to determine the limits of the OBF regulation mechanism in healthy subjects by evaluating the effect of OPP variations on the OBF. In these experiments, the OPP was modified — either by increasing the intraocular pressure (IOP) using a suction cup (Riva, et al., 1997), (Riva & Feke, 1981), (Grunwald, et al., 1982), (Findl, et al., 1997) or by isometric (Dumskyi, et al., 1996), (Movaffaghy, et al., 1998), (Robinson, et al., 1986) or dynamic (Harris, et al., 1996), (Okuno, et al., 2006), (Michelson, et al., 1994), (Kozobolis, et al., 2008), (Nemeth, et al., 2002), (Iester, et al., 2007) exercises.

The OBF was then measured using laser Doppler flowmetry (Riva, et al., 1997), (Movaffaghy, et al., 1998), scanning laser Doppler flowmetry (Okuno, et al.,

2006), (Iester, et al., 2007), color Doppler imaging (Kozobolis, et al., 2008), (Nemeth, et al., 2002) or video fluorescein angiography (Harris, et al., 1996).

The contradictory conclusions of these studies suggest that the technologies used to evaluate the blood flow in the structures of the retina are not reliable compared with the normal biological variability of blood flow in retinal vessels (Flammer, et al., 2002). Thus, many important physiological aspects of ocular circulation remain to be clarified (Pournaras, et al., 2008).

The recent developments in non-invasive techniques for ocular blood flow parameters investigation propose a method and instrument capable of performing in real-time, and on line blood oxygenation measurements in the optic nerve head capillary structures (BO_{ONH}) under moderate and constant retinal lighting conditions with 2% accuracy (Diaconu, 2009). The goal of the present study was to investigate the effect of dynamic exercise on the BO_{ONH} by a multichannel method and model for retinal blood oxygenation evaluation. A dynamic physical effort increases the heart rate and the systemic blood pressure (BP) (Marieb, 2005), activates the sympathetic nervous system which in turn active contractility.

A dynamic physical effort leads to a decrease in IOP (Harris, et al., 1992), (Lempert, et al., 1967), (Marcus, et al., 1970) and, change the OPP. Many studies focusing to investigate on the ocular blood flow autoregulation in humans have used dynamic physical exercise as a modulator of the OPP (Michelson, et al., 1994), (Robinson, et al., 1986), (Nemeth, et al., 2002), (Prince, et al., 2003),

(Forcier, et al., 1998), (Okuno, et al., 2006), (Harris, et al., 1996), (Kozobolis, et al., 2008). A similar approach was also preferred for the present study.

Methods

Subjects

Six non-smoking healthy men (mean age: 22; range: 20-25 years) participated in the study. Subjects were university students familiar with the procedures. They presented no systemic disease and took no medication. For all subjects, ophthalmic examination — including slit lamp biomicroscopy, measurement of visual acuity, objective refraction, Goldmann tonometry and funduscopy examination — produced normal findings. Only subjects with excellent target fixation were accepted into the study. Exclusion criteria were ocular disease, acute infection, known diabetes mellitus, epilepsy, history of systemic hypertension or abnormal clinical optic disc appearance. The baseline mean arterial blood pressure (BPm) among the subjects ranged from 67,67 to 100,00 mm Hg while the baseline IOP ranged from 13 to 20 mm Hg. All subjects were asked to refrain from consuming alcohol and caffeine for at least 6 hours before the experiment. Subjects were required to fast for at least 2 hours before the experiment and exercise was prohibited for 1 hour before the experiment. The protocol of the study followed the ethics guidelines of the Montreal University.

Dynamic exercise

In order to standardize the physical effort yielded, a computerized stationary bicycle was used (860Rb, DiamondBack, Kent, USA). An integrated microprocessor allowed automatic adjustment of the effort intensity via handle sensors. This ensured that a high level of exercise corresponding to a pulse rate (PR) of 160 beats per minute was always reached after a session of 15 minutes of exercise.

When the targeted PR was reached, the cycling pace and/or the resistance of the pedals were adjusted to maintain a constant PR. Similar protocols have been conducted to evaluate the effect of dynamic exercise on OBF in another studies (Michelson, et al., 1994), (Robinson, et al., 1986), (Nemeth, et al., 2002), (Prince, et al., 2003), (Forcier, et al., 1998), (Okuno, et al., 2006), (Harris, et al., 1996), (Kozobolis, et al., 2008).

Blood oxygenation measurement

BO_{ONH} was derived from the full spectrum of reflectometry measurements using a multichannel spectroscopy technique showed in Figure 1 (800 wavelengths from 420 nm to 660 nm for each 500 ms integration time). More details on the apparatus and the measurement technique were previously published (Diaconu, 2009), (Vucea, et al., 2011).

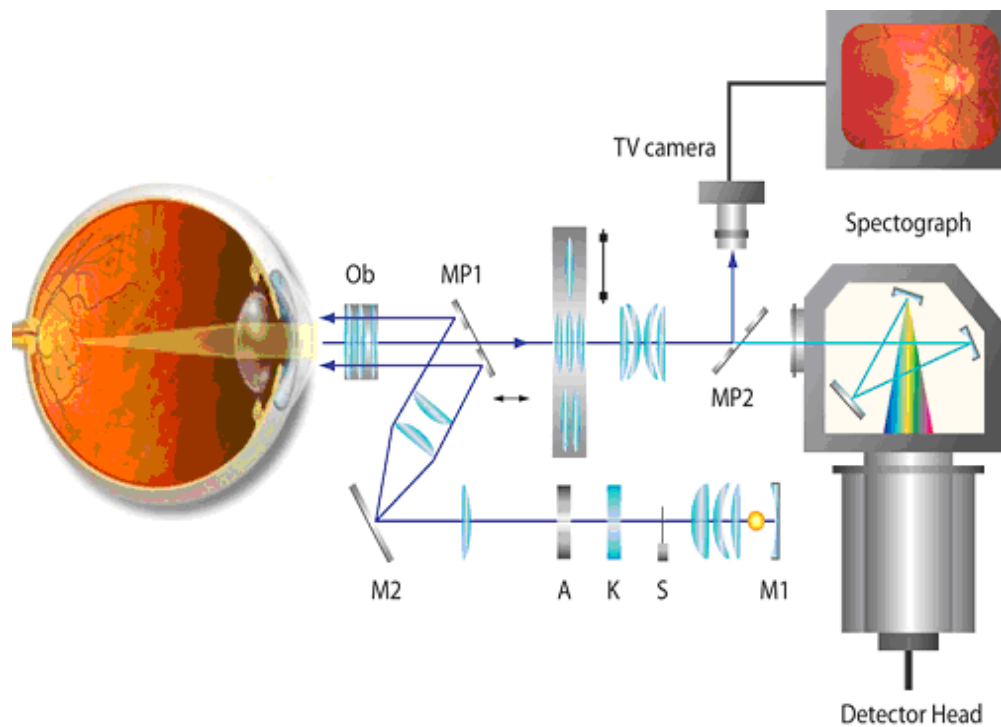


Figure 1: The multichannel reflectometry technique which propose a coupling between a multichannel spectroscopy system and an eye fundus camera.

Model for the blood oxygenation calculation

The mathematical equation that derives blood oxygenation from the spectral reflectometry measurements was expressed as a linear combination of several terms of $S_i(\lambda)$, representing the spectral signature functions of haemoglobin and oxy-haemoglobin as well as several terms representing ocular media, melanin and scattering (Diaconu, 2009). A multi-Gaussian function was also included in

the model to compensate for the non-compatibility of the model and the experimental data in the red spectral area (Vucea, et al., 2011).

$$A(\lambda) = m_1 * S_{Hb}(\lambda) + m_2 * S_{OHb}(\lambda) + m_3 * \lambda^{-n} + m_4 * k - \sum_{i=1} m_{4+i} * N(\mu_i, \sigma^2) \quad \text{Eq. (1)}$$

The role of the multi-Gaussian function was to subtract the light scattered in the red wavelengths zone from the overall reflectometry function and to protect the model from this interfering signal.

However the multi-Gaussian functions from Eq. (1) quantify the intensity of light scattered in the red wavelengths zone (Red Scattering Factor). Red Scattering Factor represents a parameter related to the total blood volume in the observed optical patch (0,5mm diameter circular capillaries area) correlated with the capillaries blood content or change in capillaries diameter. En increasing of the Red Scattering Factor (RSF) value predicts a vasodilatation (Vucea, et al., 2011). This model expresses the reflectometry function from the eye structures as an absorption factor:

$$A(\lambda) \% = \text{Incident light } (\lambda) / \text{Reflected light } (\lambda) \quad \text{Eq. (2)}$$

An algorithm for the system of equations (1) was established in C⁺⁺. The **m**, **n** and **k** parameters were thus calculated from the system of equations (1) by using 600 values of the absorption function (A(λ)) corresponding to the spectral zone from 530 nm to 640 nm. The results obtained from the parameters **m**, **n** and **k**

were used to verify the $A(\lambda)$ values corresponding to the subsequent spectral zone from 420 nm to 530 nm. The oxyhemoglobin percentages were derived using the m_1 and m_2 parameters that weight the Hb and Ohb contributions to the model fit represented by Eq. 1 in the following formula:

$$\text{OHb\%} = m_2 / (m_1 + m_2) \quad \text{Eq. (3)}$$

Experimental Protocol

Once the subject arrived on our premises, his right eye (OD) was dilated using tropicamide 1% and phenylephrine 2.5%. A 20 minute acclimation period followed, where the subject was to remain seated in a silent room at 25 degrees Celsius. The baseline measurements could then be obtained.

Then, an exercise session of 15 minutes where the PR of the subject was progressively increased to reach a target value of 160 beats per minute followed. A second measurement of the BO_{ONH} of the OD for a period of 120 seconds followed. After each BO_{ONH} measurement session, the BP as well as the IOP was measured. Finally, 15 minutes after the end of the exercise session, the BP and the IOP were measured again. The PR and the blood oxygen saturation (SpO_2) were monitored throughout the experiment using a finger pulse oximeter (Escort M10, Invivo, Orlando, USA). The instruments were positioned and adjusted in such a way to allow quick data collection.

The BPm was calculated using the systolic pressure (BPs) and the diastolic pressure (BPd) in the following equation:

$$\text{BPm} = \text{BPd} + 1/3(\text{BPs} - \text{BPd}) \quad \text{Eq. (4)}$$

The OPP was calculated using the BPm and the IOP in the following equation:

$$\text{OPP} = 2/3 \text{BPm} - \text{IOP} \quad \text{Eq. (5)}$$

The BO_{ONH} was measured in a specific temporal inferior zone of the neuroretinal rim. Previous results on blood flow had already been collected in this specific area (Riva, et al., 2001), (Fuchsjager-Mayrl, et al., 2004), (Riva, et al., 2004), (Findl, et al., 1997). Special care was taken in order to target the same area of the neuroretinal rim zone for each subject. In order to minimize interpretation errors, the signals of winks and ocular movements were eliminated. The above procedure was respected for each subject.

Results and Discussion

In the present study, a 15 minute high intensity exercise leading to a PR of 160 beats per minute was performed to observe its impact on the blood flow regulation and blood oxygenation in the capillaries of the OD of young male subjects. It is noticeable that, during the experiment session the systemic arterial

blood oxygenation remained uniform for all the subjects. However the exercise session affects other physiological parameters:

- i) a significant decrease in IOP, ranging from 8% to 53%, was observed for all subjects;
- ii) an increase in the BPm (up to 36%) was observed for all but one subjects;
- iii) the BO_{ONH} decreased by as much as 25%;
- iv) the capillary blood volume (BVol) increased for subjects who showed weak variation in BO_{ONH} and decreased for subjects that showed a decrease in capillaries blood oxygenation.

Following the exercise session, all but one subjects showed a typical increase in their BPs and BPd. For the other subject (S5), the exercise session caused a slight increase in the BPs but a decrease in the BPd. For all subjects, the exercise session caused a reduction of the IOP ($32,0\% \pm 16,2\%$).

The Figure 2 shows an example of the online recording of BO_{ONH} for one subject (S1) before and after exercise. The RSF derivatives values, proposed as an estimator for the capillary blood volume (Bvol) or diameter (Vucea, et al., 2011), are also shown. The RSF parameter was derived using the multi-Gaussian functions to compensate the non-compatibility between the spectral reflectometry function from the capillaries and a typical absorption function model of the hemoglobin and oxyhemoglobin in the red spectral zone.

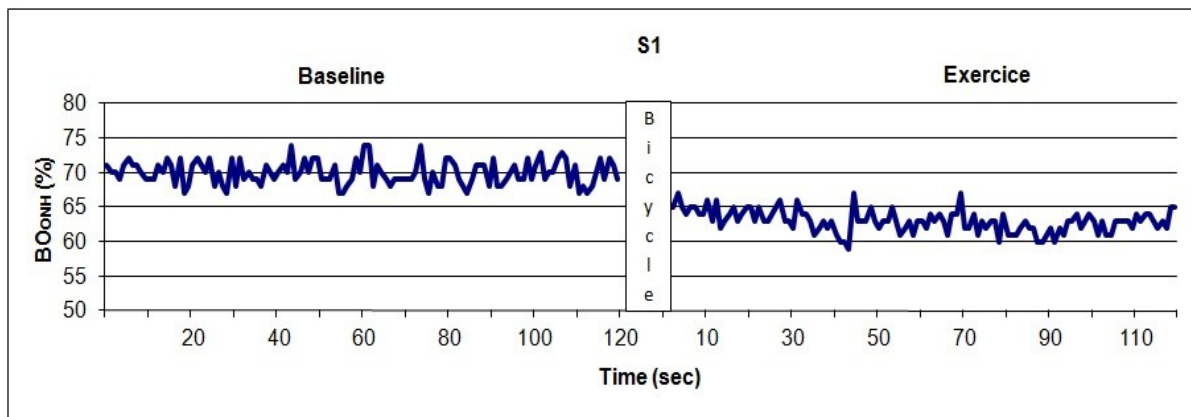


Figure 2(a): Example of the online recording of BO_{ONH} during two experimental sessions - before and after exercise.

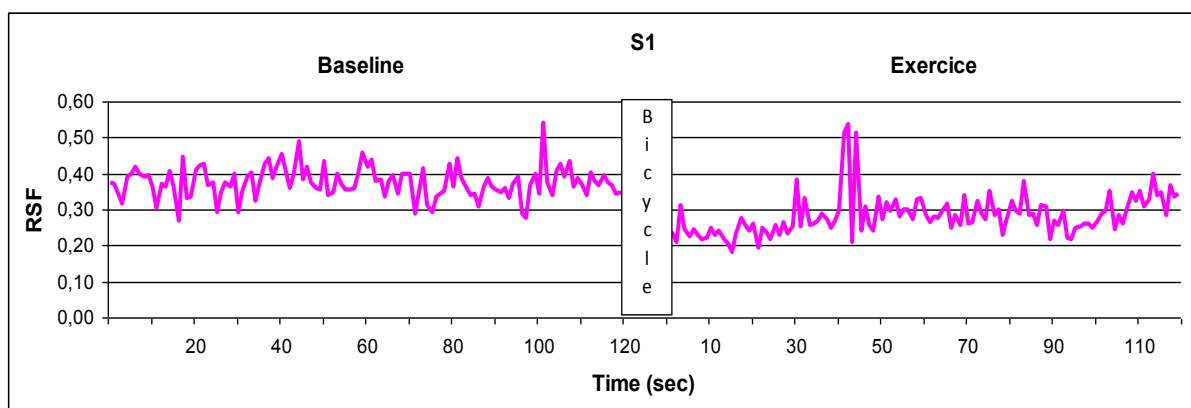


Figure 2(b) : Example of the online recording of RSF values proposed as an estimator for $BVol$ during two experimental sessions – before and after exercise.

A previous study by Schweitzer (Schweitzer, et al., 1999) also suggested that in the red spectral zone, the diffusion of light on the red cells depends on the blood volume exposed in the light's path. In fact, Vucea (Vucea, et al., 2011) have proposed a method to quantify the blood volume in the light's path by introducing a multi-gaussian function in the linear model proposed by Diaconu (Diaconu, 2009) to derive the blood oxygenation. The results from the present study show that following dynamic exercise, both the BO_{ONH} and the $Bvol$ decreased.

These effects varied depending on the subject.

Figure 3 shows the average values of BO_{ONH} and $Bvol$ for each subject, measured before and after exercise. It can be seen that, following exercise, the BO_{ONH} tends to decrease, except for subject S6. For three subjects (S1, S4 and S5), the exercise session caused an important reduction of the BO_{ONH} ; 25%, 10,3% and respectively 9,9%. In the present study, the arterial systemic SpO_2 remained constant throughout the experiment for all subjects. This suggests that the changes in BO_{ONH} following exercise must be a consequence of the changes in the capillaries blood flow. The results of RSF presented in Figure 3 reveal that there is no obvious relationship between BO_{ONH} and $Bvol$.

In four subjects (S2, S3, S4, S6), the $Bvol$ increased or remained unchanged following exercise. For two of these (S2 and S3), the exercise session caused an increase in the $Bvol$ and a significant reduction in BO_{ONH} . In two subjects (S1, S5), both BO_{ONH} and $Bvol$ decreased following exercise.

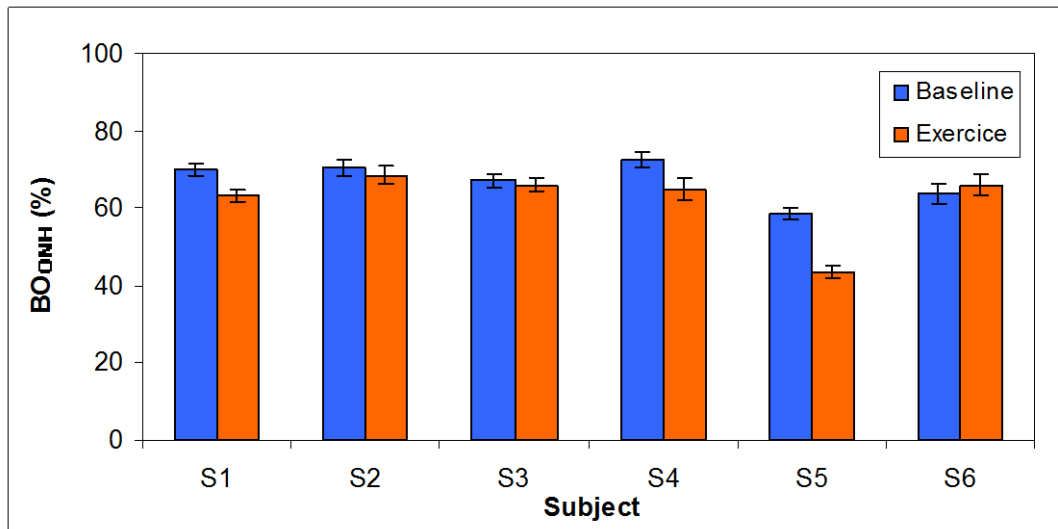


Figure 3(a) : The average values of BO_{ONH} for each subject measured before and after exercise

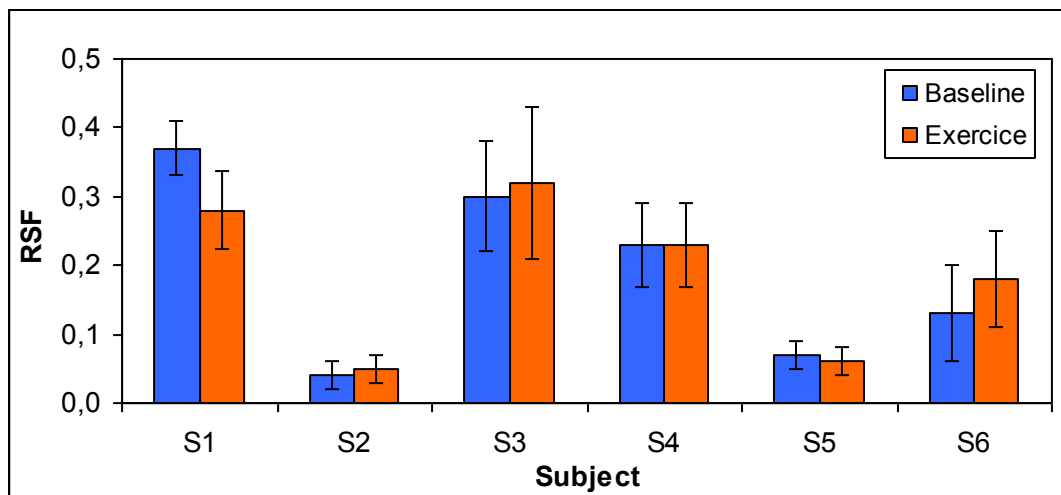


Figure 3(b): The average values of RSF for each subject measured before and after exercise

Table 1 presents, for each subject, the mean values of BO_{ONH} , RSF – proposed as an estimator for $Bvol -$, BPm, IOP, OPP and arterial systemic SpO_2 measured before and after the exercise session. Table 1 also presents the variation, expressed in percentage, for all the parameters reported. From the results presented in Table 1 it can be noted that exercise did affect the BO_{ONH} . This suggests that exercise induces changes in the blood flow of the optic nerve head capillaries.

	BL	AE		BL	AE		BL	AE		BL	AE		BL	AE	
	BO_{ONH}	BO_{ONH}	var%	RSF	RSF	var%	BPm	BPm	var%	IOP	IOP	var%	OPP	OPP	var%
S1	70	63	-10	0,37	0,28	-24,32	93	107	14	18	10	-44	50	64	28
S2	71	69	-3	0,04	0,05	25,00	86	97	12	16	12	-25	47	56	20
S3	67	66	-2	0,30	0,32	6,67	85	105	23	21	16	-24	43	60	38
S4	73	65	-10	0,23	0,23	0,00	100	119	19	13	8	-38	58	74	27
S5	59	44	-25	0,07	0,06	-17,65	81	71	-12	19	9	-53	41	42	1
S6	64	66	4	0,13	0,18	38,46	76	103	36	13	12	-8	42	60	45

Table 1: The mean values of BO_{ONH} , RSF -proposed as an estimator for $Bvol -$, BPm, IOP, OPP and SpO_2 measured before and after exercise for each subject.

The results from Table 1 also indicate that a decrease in IOP after exercise ranged from 8 % to 53%. Several previous studies have confirmed that the IOP decreases after a dynamic exercise in human (Harris, et al., 1992), (Lempert, et al., 1967), (Marcus, et al., 1970). However, the underlying mechanism of

reduction in IOP following dynamic exercise has not been fully defined (Risner, et al., 2009).

Furthermore, following a dynamic exercise, both IOP and BO_{ONH} were specifically affected in each subject. Finally, after reaching a PR of 160 beats per minute, the BPM of five subjects showed an increase from 12% to 36%. The other subject (S5) experienced a decrease of BPM following the exercise session.

Figure 4 shows the correlations between the variations in IOP and BO_{ONH} for each subject. A quadratic function was used to model these correlations.

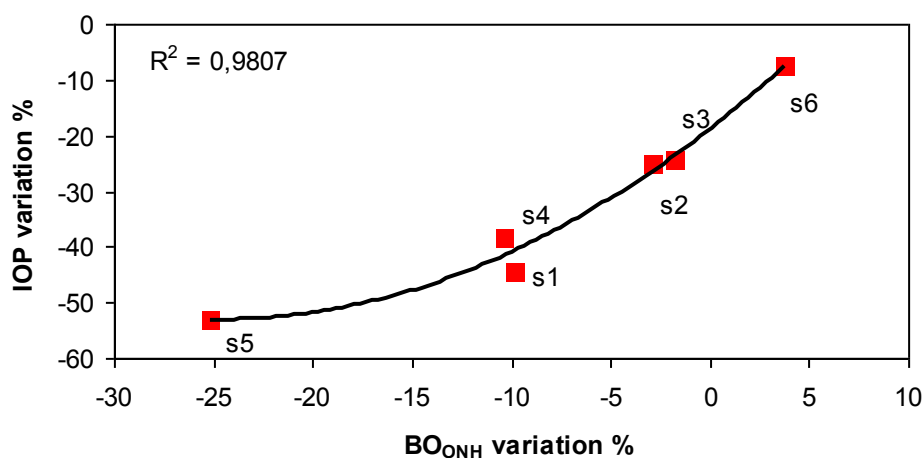


Figure 4: The correlations between the variations in IOP and BO_{ONH} for each subject

The correlations shown in Figure 4 suggest that following an intense dynamic exercise the subjects who demonstrated an important reduction in IOP also experienced an important reduction in BO_{ONH} (i.e. blood flow). Several studies showed that the IOP variations might affect the retinal blood flow. Using animal models, it has been clearly demonstrated that increases in IOP trigger a

reduction in blood oxygenation in the optic nerve structures (Stefansson, et al., 2005). From the correlations found in Figure 4, one could wonder if there is a direct relationship between the changes in IOP and blood flow due to exercise or if they are affected independently caused by specific systemic physiological changes. Many authors observed a sympathetic mechanism that reduces the blood flow in the uvea of some animals (cat, rabbit and monkey) following an increase in systemic arterial perfusion pressure.

It was suggested that the physiological aim of this mechanism was to control the OBF in order to prevent eye over-perfusion and breakdown of the blood-aqueous barrier when arterial BP increases (Michelson, et al., 1994), (Alm, 1977), (Bill & Linder, 1976).

Studies in humans reported an elevation of vascular resistance of the ophthalmic artery in reaction to increases in systemic arterial BP following physical exercise (Michelson, et al., 1994), (Robinson, et al., 1986). The increase in ocular vascular resistance in reaction to an increase in systemic arterial BP seems to be a reasonable explanation for the results observed here, which indicate that the OBF is reduced when the systemic arterial BP increases. However, previous investigations did not associate the reduction in IOP that followed physical exercises to changes in the outflow facility or the episcleral venous pressure. Previous studies proposed that the decrease in IOP may rather be related to an increase in lactate concentration in the blood, in plasma osmolarity and to a decrease in blood pH (Marcus, et al., 1970).

Figure 5 shows correlations between variations in IOP and BPm, as well as correlations between variations in IOP and OPP in different subjects.

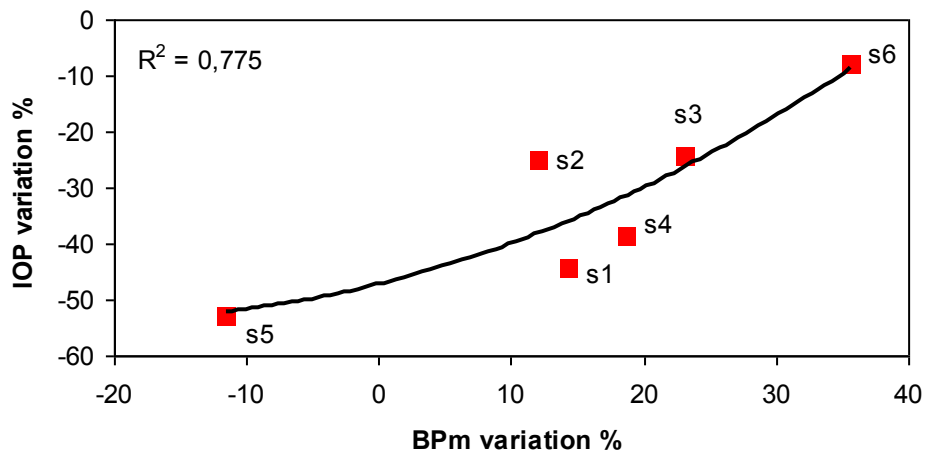


Figure 5(a): The correlations between variations in IOP and BPm for each subject

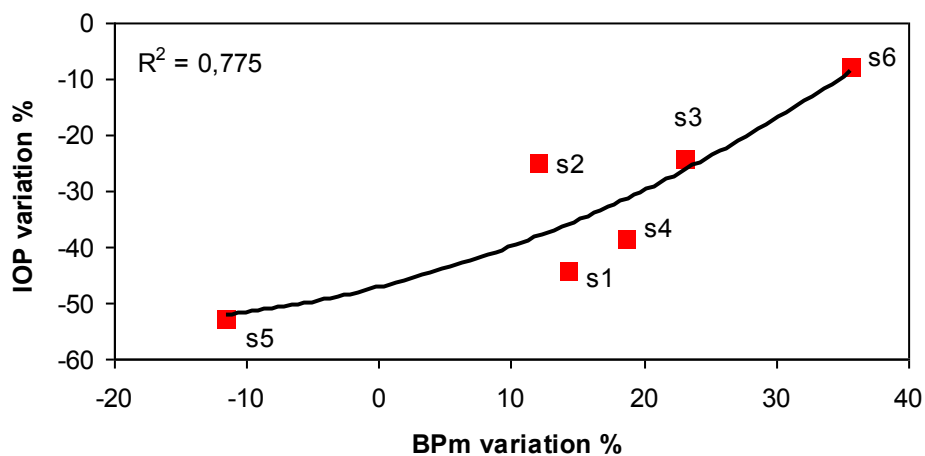


Figure 5(b): The correlations between variations in IOP and OPP for each subject

The correlations shown in Figures 4 and Figures 5 suggest that after an intense dynamic exercise, the subjects who exhibited a large increase in BPm and OPP (S3, S6), had maintained their levels of IOP and of BO_{ONH} (i.e. blood flow). On the other hand, the subjects who demonstrated small increases in BPm at a high PR (S1, S2, S4), exhibited large IOP reductions – which correlated with more important decreases in BO_{ONH} (i.e. blood flow). These results suggest that the variations in BO_{ONH} are indirectly correlated with variations in OPP and BPm.

Thus, the increase in vascular resistance would not be triggered by increases in OPP or BPm. It seems that the sympathetic nerve mechanism, which manages vascular resistance, may be activated by the increase in PR rather than by BP or OPP. This suggestion is supported by the fact that, in our experimental protocol, the PR was constant for all the subjects and thus the sympathetic nerve mechanism (i.e. vascular resistance) would be uniformly activated for all the subjects.

Under such conditions, subjects who developed a BPm significantly high enough would be able to maintain a high OPP, compensating for the increase in the ocular vascular resistance and maintaining a consistent ocular blood supply (Michelson, et al., 1994). The increases in BPs and in PR represent a natural consequence to an intense dynamic exercise. However, it is well known that, following an intense physical exercise, subjects present a typical BPs response in relation with the increase in PR. After exercise, the BPd is supposed to remain unchanged; a consequence of metabolic vasodilatation in peripheral vessels (Franz, 1985). A rise in BPd has been reported in normotensive subjects,

suggesting an increased peripheral vascular resistance and a reduced capacity for exercise-induced metabolic vasodilatation (Wilson, et al., 1990). Studies have reported that during intense physical exercise an endurance-trained person is more likely to exhibit significantly greater increase in BPs than an untrained person. It has been proposed that to determine abnormal ranges of BP response during exercise – in relation to PR increase –, the gender, age, and physical fitness must be taken into consideration (Tanaka, et al., 1996), (Steinhaus, et al., 1988).

The results of the variation of BO_{ONH} according to the dynamic exercise presented here could then represent the capacity of each subject to manage an intense dynamic exercise.

To verify this hypothesis, a second set of experiments was arranged one month later with four subjects taking part in the first experimental session (S3, S4, S5, S6). Two subjects (S4, S5) who showed an important reduction in BO_{ONH} in the first experimental testing session and two subjects (S3, S6) who showed the capacity to maintain capillaries blood oxygenation in small variations were asked back. The results obtained from the second experimental session show the same trends to those obtained for each subject during the first experimental session (data not shown).

These results confirmed that after intense dynamic exercise the regulation of OBF was representative for each subject and could depend on each subject's capacity to maintain a raised systemic BP at an elevated PR.

In accord with previous studies on this topic (Marcus, et al., 1970), the decrease in IOP may be related to changes in metabolic composition of blood induced by physical effort (increase in lactate concentration in blood, in plasma osmolarity or decrease in blood pH). The variation in systemic BP during exercise may be related to similar metabolic changes that induce vasodilatation in systemic peripheral vessels (Franz, 1985). Therefore, it can be suggested that the metabolic changes in blood induced by physical effort – which are typical for each subject – can represent the connection between IOP and variations in systemic BP. This in turn could explain the correlations shown in Figure 5. On the other hand, the variations in systemic BP affect the subject OPP and implicitly the OBF and BO_{ONH} . Consequently the metabolic changes in blood induced by physical effort could represent the common cause for the variations in IOP and in the BO_{ONH} – which could explain the correlations shown in Figure 4.

Figure 6 shows the correlations between the variations in IOP and the diameter of the optic nerve head capillaries for each subject.

From Figure 6 it is noted that, following intense physical exercise, there could be an increase in the capillaries diameter for the subjects who exhibit relatively small decreases in IOP and BO_{ONH} and a significant increase of BP. For these subjects it seems probable that a local regulation mechanism acts to increase the Bvol and to prevent the BO_{ONH} from decreasing.

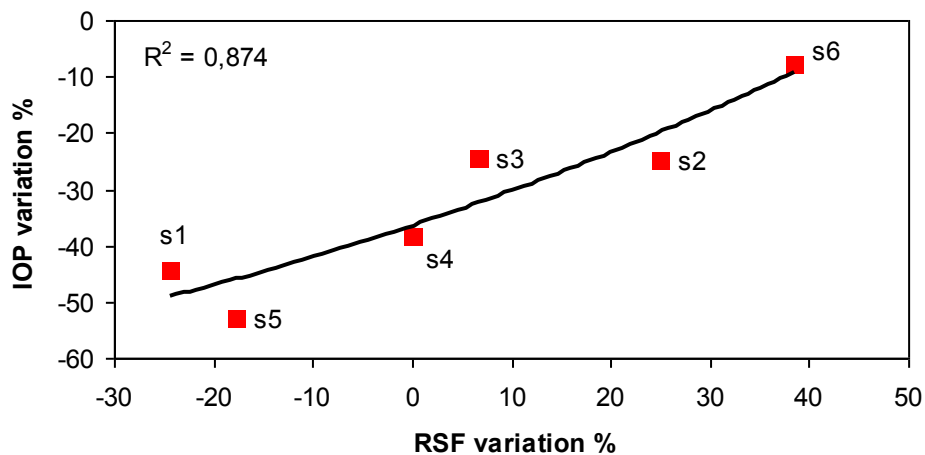


Figure 6: The correlations between the variations in IOP and RSF for each subject

However, this mechanism, which acts to increase the Bvol after an intense physical effort, is directly correlated with the BP and is inversely correlated with the IOP. Therefore, the existence of a mechanism which acts to increase the Bvol and to prevent the decrease in BO_{ONH} remains, for the moment, only a hypothesis.

A previous study (Stefansson, et al., 2005) suggests that optic nerve blood oxygenation is regulated by IOP, systemic BP, retinal blood vessel resistance and local oxygen consumption. Based on the results of the present study, it could be added that the variation in capillary diameter is linked to local factors, like the BP inside the capillary. This pressure relies on venous BP being in equilibrium with IOP and on the retinal arterial BP. It is suggested that, for subjects who maintain relatively high levels of IOP and show a significant increase in the BPm following physical effort, the widening of these structures is the result of an over-

pressure inside the capillary vessel. On the other hand, the data presented in Figure 6 suggest that there could be a decrease in the capillaries diameter for the subjects who exhibit a large IOP decrease and a small BPm increase after exercise. For these subjects who undergo the most important blood oxygenation reductions, it seems that an undefined mechanism acts in order to reduce the BVol. It is thought that the reduction in BVol could be the result of a decrease in BP inside of the capillary.

Therefore, after an intense dynamic exercise, there may be a decrease in the BVol for subjects who show a major IOP reduction and modest increase in the retinal arterial BP. Results from subjects S1 and S5 show that a notable reduction in IOP following an intense dynamic exercise could have a major effect not only on the reduction of blood flow (major reduction of the capillaries blood oxygenation) but also on the blood volume contained in the vascular structures of the retina.

Previous studies did not associate the reduction in IOP that followed physical exercise to the change in the outflow facility, but the results on subjects S1 and S5 indicate that the reduction in IOP at a high PR could lead to emptying the eye from the blood as long as the BP is not sufficiently high to compensate for the vascular resistance increase.

The variability of these parameters is specific to each subject and could reflect the capacity of each subject to manage intense physical activity. The correlations shown in Figures 4, 5 and 6 between the variations in IOP, BO_{ONH} , BPm and BVol are in agreement with some previous studies (Stefansson, et al., 2005)

suggesting that the optic nerve blood oxygenation is regulated by the IOP, the BPm and the retinal blood vessels resistance.

Increases in IOP trigger a reduction in blood oxygenation in the optic nerve structures (Stefansson, et al., 2005) which suggest that to improve the ocular blood flow the IOP should be decreased. The present study shows how a decrease in IOP might not be always favorable for the eye metabolism. The eye should maintain a certain tonicity. Therefore, the IOP should remain at a reasonably elevated value to prevent the loss of blood volume in the vascular structures of the eye and to maintain a sufficient BP inside the ocular vessel. The retinal blood vessel resistance plays an important role for maintaining ocular tonicity.

An important suggestion from the present study is that the sympathetic mechanism which regulates vascular resistance may be activated by the increase in the PR rather than by the BPm or OPP.

7.1. Contribution

Ce projet de recherche a été suggéré par mon superviseur Dr. Vasile Diaconu. Cet article fait aussi parti de la mémoire de maîtrise de Patrick Sauvageau. L'organisation du projet a été réalisée par Patrick Sauvageau. La demande d'approbation d'éthique de ce projet a été réalisée par moi. J'ai eu une contribution substantielle dans la conception du protocole expérimental et dans l'acquisition des résultats, étant la seule à savoir utiliser l'appareil. Les résultats sont obtenus en utilisant le modèle mathématique développé par moi. Toutes les figures et les tableaux de cet article ont été exécutés par moi. L'analyse des résultats a été réalisée par moi et leurs interprétations par Patrick Sauvageau et moi, après de nombreuses discussions. J'ai participé à la rédaction de cet article et je le réviserai pour l'envoyer à la revue pour publication.

Par mon travail personnel, j'ai apporté une contribution essentielle au travail de recherche de ce projet lors de sa planification, de sa réalisation, de son interprétation et de son contrôle.

D'autres expériences

Le spectrorélectromètre multicanal munie du nouveau modèle mathématique a été aussi utilisé pour d'autres expériences qui font l'objet de la mémoire de maîtrise de trois étudiants. Pour tous ces projets, qui sont nommés seulement à titre informatif, j'ai eu une contribution essentielle dans la conception du protocole expérimental, l'acquisition et l'analyse des résultats.

Projet : Les mécanismes d'oxygénation sanguine de l'œil en corrélation avec le système respiratoire. Mémoire de maîtrise de Mohamed Hammade (Hammade, 2010).

Projet : Étude sur l'oxygénation des capillaires du disque optique au cours du cycle menstruel chez les femmes. Mémoire de maîtrise de Jessy Hilal (Hilal, 2011).

Projet : L'évaluation du taux d'oxygénation des vaisseaux sanguins de la rétine d'une population glaucomateuse. Mémoire de maîtrise de Van Loc Tran (Tran, en cours).

Chapitre 8. Conclusion et perspectives

L'objectif principal de cette thèse a été de développer un modèle mathématique pour calculer l'oxygénation sanguine des vaisseaux rétiniens à partir de mesures spectrales de réflectométrie multicanaux. Les résultats obtenus par la réalisation de ce projet ont fait l'objet d'un article.

L'article a présenté une méthode et un modèle mathématique capables d'expliquer la fonction spectrale de réflectométrie des vaisseaux sanguins de l'œil. La méthodologie utilisée a été présentée dans le chapitre 5. Le modèle mathématique linéaire développé par Diaconu a été à la base de nos démarches pour comprendre la fonction spectrale de réflectométrie de l'artère et de la veine. Des écarts entre ces fonctions spectrales de réflectométrie et le modèle mathématique linéaire ont été obtenus. Cet écart d'ajustement, entre le modèle initial et la mesure sur une artère ou sur une veine, suggère que le signal d'absorption est plus complexe et il ne peut pas être expliqué par ce modèle initial.

Ces résultats, confrontés avec les études de Schweitzer (Hammer, et al., 2001), nous ont mené à supposer que l'écart a été induit par la dimension et la structure des gros vaisseaux sanguins, plus précisément par la diffusion de la lumière sur les globules rouges contenus dans le volume du sang du vaisseau et par l'absorption-réflexion sur les parois des vaisseaux.

Ces expériences nous ont donné un aperçu de la dépendance spectrale de la diffusion de la lumière sur les gros vaisseaux sanguins. Pour des longueurs d'onde plus grandes que 590nm la diffusion de la lumière sur les globules rouges

est très importante et ce phénomène doit être pris en compte dans le modèle de réflexion du fond de l'œil.

À partir des essais sur un signal théorique, nous avons conclu que le modèle mathématique pourrait être amélioré afin de détecter et de récupérer un signal supplémentaire systématique de diffusion, d'absorption ou de réflexion. L'influence de cette contribution supplémentaire sur le signal de base a été étudiée. La ressemblance entre le nouveau modèle mathématique et le signal théorique a été examinée pour identifier l'intervalle de définition du signal supplémentaire de réflexion et si cette réflexion a un impact sur le calcul de la concentration en oxygène.

Notre signal supplémentaire a été défini et étudié pour la zone spectrale de 590 nm à 650 nm et sa forme spectrale est différente de celle de l'hémoglobine, de l'oxyhémoglobine ou du milieu oculaire. Pourtant, le modèle aura des difficultés à expliquer correctement la fonction spectrale de réflectométrie de l'œil, si ce signal supplémentaire a une forme semblable aux spectres d'absorption d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine.

Le modèle mathématique a été amélioré par l'introduction d'une fonction multi-gaussienne afin de récupérer ce signal supplémentaire. Cette étape nous a permis de confirmer la capacité de ce nouveau modèle mathématique de détecter, dans le signal mesuré, un bruit supplémentaire qui a une forme spectrale différente d'un bruit blanc. De plus, un tel modèle mathématique, pourrait avertir l'expérimentateur sur la présence d'une composante spectrale

supplémentaire, capable d'entacher les valeurs calculées de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine

Le modèle initial et le nouveau modèle ont été appliqués sur des mesures expérimentales. La qualité d'ajustement a été déterminée en calculant la valeur de chi-deux et le coefficient de corrélation entre le modèle et le signal mesuré. A été remarqué que ces paramètres ne sont pas de bons prédicteurs pour valider la concentration en oxygène. Des erreurs dans le calcul de la concentration d'hémoglobine et d'oxyhémoglobine obtenues avec le modèle initial, ont été remarquées lorsque la valeur du coefficient de corrélation et la valeur du chi-deux ont resté approximativement les mêmes pour les deux modèles. Finalement, la qualité de l'ajustement du modèle aux données expérimentales, a été déterminée sur une analyse visuelle et sur le calcul des résidus.

Les résultats du chapitre 5 et de l'article démontrent que la technologie de spectrophotométrie multicanaux permet d'utiliser des algorithmes de calculs complexes afin d'analyser la fonction spectrale de spectroreflectometrie de l'œil pour plus des composantes que le model initial. Cet avantage est crucial pour les mesures spectrales dans l'œil étant donné l'hétérogénéité des structures rétiniennes ainsi que la variabilité de paramètres optique de l'œil de chaque individu.

Dans le chapitre 5, plusieurs expériences ont été réalisées afin de démontrer la fiabilité et la validité du modèle. Également, la fiabilité et la sensibilité du modèle ont été démontrées suite à des expériences dans des situations d'hypoxie.

Le chapitre 7, représentant le deuxième article considéré pour ma thèse, a démontré la fidélité et la sensibilité du modèle pour détecter des changements d'oxygénation sanguine au niveau de l'œil suite à une activité physique.

Les résultats obtenus ont démontré des changements notables et répétables de l'oxygénation sanguine rétinienne chez des sujets humains en condition d'hypoxie et en réponse à une activité physique. De plus, la mesure *in vivo* de l'oxygénation sanguine des vaisseaux rétiniens permet de détecter si un mécanisme d'autorégulation est présent durant un enregistrement en continu.

Ce projet doctoral a finalement permis de confirmer la pertinence de l'utilisation de la technologie spectroreflectométrie multicanal, dotée d'un bon modèle mathématique, comme approche novatrice dans l'évaluation de la concentration d'oxygène de vaisseaux sanguins rétiniens. Également, les résultats de ce projet laissent croire que cette méthode représente un potentiel intéressant dans l'étude et éventuellement le diagnostic de pathologies oculaires causées par une mauvaise régulation de l'oxygène.

Nouvelle avenue

Dans la perspective d'améliorer la méthode actuelle, d'appuyer les résultats de ce projet et aussi dans un optique de projets futurs, je propose d'élargir la bande spectrale du spectroréfectomètre afin de prendre des mesures dans la zone spectrale de l'infrarouge proche.

Sur des principes similaires à ceux de la technologie développée dans le domaine du spectre visible, l'élaboration d'une nouvelle technologie de

réflectométrie dans le domaine spectral de l'infrarouge proche sera nécessaire pour certaines zones de la rétine comme la fovéa. Le principal avantage de cette nouvelle technologie sera que le rayonnement infrarouge n'est pas absorbé par certaines structures de la rétine (photo-pigment, épithélium pigmentaire, etc).

Par conséquent, la technique de réflectométrie infrarouge permettrait d'augmenter le rapport signal bruit et implicitement, la précision pour estimer l'oxygénation du sang de certaines zones de la rétine comme la choroïde d'où seulement 7,9 % de la lumière incidente de longueur d'onde de 550 nm retourne au capteur (van de Kraats & van Norren, 2008).

Notre modèle, proposé pour mesurer l'oxygénation du sang des veines et artères, a révélé que pour le domaine spectral du visible la lumière réfléchi sur les vaisseaux ne pénètre pas au delà de la zone endothéliale du vaisseau et de ce fait, en utilisant la lumière du visible il est impossible de mesurer l'oxygénation sanguine représentative pour le volume entier du vaisseau. Par contre, le rayonnement infrarouge traverse le vaisseau et le rayonnement réfléchi par celui-ci contiendra l'empreinte spectrale du volume du sang total du vaisseau et non pas seulement celle du sang contenu dans la zone endothéliale.

Un autre avantage serait que les mesures de réflectométrie dans le domaine spectral infrarouge permettront d'obtenir des informations sur l'oxygénation sanguine des structures de la rétine sans modification du métabolisme rétinien par l'activation du photo-pigment. Une étude récente d'Abromoff (Abromoff, et al., 2006), a mis en évidence, en proche infrarouge, des variations de la réflexion du fond d'œil, induites par des stimulations avec la lumière visible. Également,

d'autres publications ont documenté des changements de la réflexion rétinienne suite à un éclairage, (Riva, et al., 2005).

Les mesures préliminaires dans notre laboratoire montrent que la fonction de réflectométrie dans la bande spectrale du proche infrarouge n'est pas compatible avec le modèle linéaire proposé par Diaconu (Diaconu, 2009) pour le spectre de la lumière visible. Pourtant, le modèle classique, basé sur une absorption de type Beer-Lambert, ne semble satisfaire non plus. Dans la zone spectrale de la lumière rouge, mon modèle prédit qu'une grande quantité de lumière est dispersée sur les hémocrites (Vucea, et al., 2011), ce qui compliquera l'équation du modèle.

Par conséquent, le modèle mathématique doit être modifié en concordance avec la nouvelle bande spectrale et avec les nouvelles caractéristiques d'absorption spectrale de tous les composants de l'œil.

Bibliographie

Abromoff, M. et al., 2006. Visual stimulus-induced changes in human near-infrared fundus reflectance. *Investigative ophthalmology and visual science*, Issue 47, pp. 715-721.

Alm, A., 1977. The effect of sympathetic stimulation on blood flow through the uvea, retina and optic nerve in monkeys (*Macacca irus*). *Exp Eye Res*, Issue 25, pp. 19-24.

Bali, E., Huyghe, P. & Libert, J., 2012. *Brussels retina specialists association*. Available at: www.brusselsretina.be.

Beach, J., Ning, J. & Khoobehi, B., 2006. Hyperspectral algorithm for mapping tissue oxygen saturation. *Signal Processing Symposium, Proceedings of the 7th Nordic*, pp. 142-145.

Beach, J. et al., 1999. Oximetry of retinal vessels by dual-wavelength imaging: calibration and influence of pigmentation. *J Appl Physiol* 86(2), pp. 748-758.

Beach, J., Tiedeman, J., Hopkins, M. & Sabharwal, Y., 1999. Multi-spectral fundus imaging for early detection of diabetic retinopathy. *Proc. SPIE Vol. 3603, Systems and Technologies for Clinical Diagnostics and Drug Discovery II*, pp. 114-121.

Berendschot, T., DeLint, P. & van Norren, D., 2003. Fundus reflectance: historical and present ideas. *Progress in Retinal and Eye Research* 22, pp. 171-200.

- Beslimane, A., 2010. Anatomie de l'oeil et de l'orbite.
- Bill, A. & Linder, J., 1976. Sympathetic control of cerebral blood flow in acute arterial hypertension. *Acta Physiol Scand*, Issue 96, pp. 114-121.
- Bill, A. & Sperber, G., 1990. Control of retinal and choroidal blood flow. *Eye*, 4(2), pp. 319-25.
- Birol, G. et al., 2007. Oxygen distribution and consumption in the macaque retina. *Am. J. Physiol.*, Issue 293, pp. 1696-1704.
- Braun, R. & Linsenmeier, R., 1995. Retinal oxygen tension and the electroretinogram during arterial occlusion in the cat. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 36(3), pp. 523-541.
- Cohen, A. & Laing, R., 1976. Multiple scattering analysis of retinal blood oximetry. *IEEE Trans Biomed Eng.* 23, pp. 391-400.
- Cringle, S., Yu, D., Alder, V. & Su, E., 1999. Light and choroidal PO₂ modulation of intraretinal oxygen levels in an avascular retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 40, pp. 2307-13.
- Delaey, C. & Van de Voorde, J., 2000. Regulatory mechanisms in the retinal and choroidal circulation. *Ophthalmic Res*, Volume 32, pp. 249-56.
- Delori, F., 1988. Noninvasive technique for oxymetry of blood in retinal vessels. *Appl. Opt.*, Issue 27, pp. 1113-1125.

Delori, F. & Pflibsen, K., 1989. Reflectance properties of the optic disc. Noninvasive assessment of the visual system. *OSA Tech. Dig.* 7, pp. 154-157.

Delori, F. & Pflibsen, K., 1989. Spectral reflectance of the human ocular fundus. *Appl. Opt.* 28, pp. 1061-1077.

Delori, F., Sebag, J., Feke, G. & Weiter, J., 1986. Oxygen saturation of retinal vessels in optic atrophy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 27, p. 221.

Delori, F., Webb, R. & Sliney, D., 2007. Maximum permissible exposures for ocular safety (ANSI2000), with emphasis on ophthalmic devices. *J. Opt. Soc. Am.*, 24(5).

Delpy, D. et al., 1988. Estimation of optical pathlength through tissue from direct time of flight measurement. *Phys. Med. Biol.*, 33(12), pp. 1433-42.

Diaconu, V., 2009. Multichannel spectroreflectometry: a noninvasive method for assessment of on-line hemoglobin derivatives. *Applied Optics*, 48(10), pp. 52-61.

Dumskyi, M., Eriksen, J., Dore, C. & Kohner, E., 1996. Autoregulation in the retinal circulation: assessment using isometric exercise, laser Doppler velocimetry, and computer assisted image analysis. *Microvascular Research*, Issue 51, pp. 378-392.

Faubert, J. & Diaconu, V., 1999. On-line and real-time spectroreflectometry measurement of oxygenation in a patient's eye. *U.S. patent 5,919,132*.

Feke, G. & Riva, C., 1978. Laser Doppler measurements of blood velocity in human retina vessels. *J. Opt. Soc. Am*, Issue 68, pp. 526-531.

Findl, O., Strenn, K., Wolzt, M. & al., e., 1997. Effects of changes in intraocular pressure on human ocular haemodynamics. *Curr Eye Res.*, Issue 16, pp. 1024-1029.

Fine, I. & Weinred, A., 1993. Multiple-scattering effects in transmission oximetry. *Medical and Biological Engineering and Computing*, Issue 31, pp. 615-522.

Flammer, J., Orgul, S., Costa, V. & al., e., 2002. The impact of ocular blood flow in glaucoma. *Prog Retin Eye Res*, Issue 21, pp. 359-393.

Forcier, P., Kergoat, H. & Lovasik, J., 1998. Macular hemodynamic responses to short-term acute exercise in young healthy adults. *Vision res*, Volume 38, pp. 181-6.

Franz, I., 1985. Ergometry in the assessment of arterial hypertension. *Cardiology*, Issue 72, pp. 147-159.

Friedman, E., 1970. Choroidal blood flow. Pressure-flow relationships. *Arch Ophthalmol*, Volume 83, pp. 95-9.

Fuchsjager-Mayrl, G., Wally, B., Georgopoulos, M. & al., e., 2004. Ocular blood flow and systemic blood pressure in patients with primary open-angle glaucoma and ocular hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Issue 45, pp. 834-839.

Garhofer, G. et al., 2002. Influence of diffuse luminance flicker on choroidal and optic nerve head blood flow. *Curr Eye res*, Volume 24, pp. 109-13.

Garhofer, G. et al., 2004. Diffuse luminance flicker increases blood flow in major retinal arteries and veins. *Vision Res*, Volume 44, pp. 833-8.

Garhofer, G. et al., 2003. Effect of intravenous administration of sodium-lactate on retinal blood flow in healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 44, pp. 3972-6.

Geiser, M. et al., 2000. Response of choroidal blood flow in the foveal region to hyperoxia and hyperoxia-hypercapnia. *Curr Eye Res*, Volume 21, pp. 669-76.

Grunwald, J., Sinclair, S. & CE, R., 1982. Autoregulation of the retinal circulation in response to decrease of intraocular pressure below normal. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Issue 23, pp. 124-127.

Hammade, M., 2010. Les mecanismes d'oxygenation sanguine de l'oeil en correlation avec le systeme respiratoire. Montreal: Universite de Montreal.

Hammer, M. et al., 1997. Monte-Carlo simulation of retinal vessel profiles for the interpretation of in vivo oxymetric measurements by imaging fundus reflectometry. *SPIE Series 3192*, pp. 211-218.

Hammer, M., Leistritz, S., Leistritz, L. & Schweitzer, D., 2001. Light paths in retinal vessel oxymetry. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 48, pp. 592-598.

Hammer, M., Roggan, A., Schweitzer, D. & Muller, G., 1995. Optical properties of ocular fundus tissues an in vitro study using the double-integrating-sphere technique and inverse Monte Carlo simulation. *Phys. Med. Biol.* 40, pp. 963-978.

Hammer, M. & Schweitzer, D., 2002. Quantitative reflection spectroscopy at the human ocular fundus. *Phys. Med. Biol.* 47, pp. 179-191.

Hammer, M. et al., 1997. Imaging spectroscopy of the human ocular fundus in vivo. *J. Biomed. Opt.* 2, pp. 418-425.

Hammer, M., Thamm, E. & Schweitzer, D., 2002. A simple algorithm for in vivo ocular fundus oximetry compensating for non-haemoglobin absorption and scattering. *Physics in Medicine and Biology*, Issue 47, pp. 233-238.

Hardarson, S. et al., 2006. Automatic retinal oximetry. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 47, pp. 5011-5016.

Harris, A. et al., 1996. Retinal blood flow during dynamic exercise. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, Issue 234, pp. 440-444.

Harris, A., Dinn, R., Kagemann, L. & Rechtman, E., 2003. A review of methods for human retinal oximetry. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*, Volume 34, pp. 152-64.

Harris, A. et al., 1992. Isocapnia blocks exercise induced reductions in ocular tension. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Issue 33, pp. 2229-2232.

Hayreh, S., 2001. Blood flow in the optic nerve head and factors that may influence it. *progress in Retinal and Eye Research*, Issue 20, pp. 595-624.

Hickam, J. & Frayser, R., 1959. Photographic measurement of retinal venous blood oxygen. *Randolph air force base, TX: U.S.Air Force; School of aviation medicine, project report*, pp. 58-155.

Hickam, J. & Frayser, R., 1966. Studies of the retinal circulation in man: observations on vessel diameter, arterio venous oxygen difference, and mean circulation time. *Circulation*. 33, pp. 302-316.

Hickam, J., Frayser, R. & Ross, J., 1963. A study of retinal venous blood oxygen saturation in human subjects by photographic means. *Circulation*, pp. 375-383.

Hilal, J., 2011. Etude sur l'oxygénation des capillaires du disque optique au cours du cycle menstruel chez les femmes. Montreal: Université de Montreal.

Horecker, B., 1943. The absorption spectra of haemoglobin and its derivatives in the visible and near infra-red regions. *J Biol Chem*, pp. 148-173.

Huemer, K. et al., 2007. Role of nitric oxide in choroidal blood flow regulation during light/dark transitions. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 48, pp. 4215-9.

lester, M. et al., 2007. Retinal blood flow autoregulation after dynamic exercise in healthy young subjects. *Ophthalmologica*, Issue 221, pp. 180-185.

Jean-Louis, S., Lovasik, J. & Kergoat, H., 2005. Systemic hyperoxia and retinal vasomotor responses. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 46, pp. 1714-20.

Johnson, W. et al., 2007. Snapshot hyperspectral imaging in ophthalmology. *J Biomed Opt*, 12(1), pp. 14-36.

Joussen, A., Gardner, T., Kirchhof, B. & Ryan, S., 2007. Retinal vascular disease. *Springer*.

Kergoat, H. & Durand, M., 1996. Correlating increased ocular and systemic blood pressure with neuroretinal fonction. *Aviat Spece Environ Med*, Volume 67, pp. 1174-8.

Kergoat, H. & Faucher, C., 1999. Effects of oxygen and carbogen breathing on choroidal hemodynamics in humans. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 40, pp. 2906-11.

Kergoat, H., Herard, M. & Lemay, M., 2006. RGC sensitivity to mild systemic hypoxia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 47, pp. 5423-7.

Kergoat, H. & Lovasik, J., 1995. Response of parapapillary retinal vessel to exercise. *Optom Vis Sci*, Volume 72, pp. 249-57.

Kergoat, H., Marinier, J. & Lovasik, J., 2005. Effects of transient mild systemic hypoxia on the pulsatile choroidal blood flow in healthy young human adults. *Curr Eye Res*, Volume 30, pp. 465-70.

Kergoat, H. & Tinjust, D., 2004. Neuroretinal function during systemic hyperoxia and hypercapnia in humans. *Optom Vis Sci*, Volume 81, pp. 214-20.

Khoobehi, B., Beach, J. & Kawano, H., 2004. Hyperspectral imaging for measurement of oxygen saturation in the optic nerve head. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45(5), pp. 1464-1472.

Kiel, J. & Shepherd, A., 1992. Autoregulation of choroidal blood flow in the rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 33, pp. 2399-410.

Kiss, B. et al., 2001. Ocular hemodynamics during isometric exercise. *Microvasc Res*, Volume 61, pp. 1-13.

Kortum, G., 1969. Reflectance spectroscopy. *Springer, New York*.

Kozobolis, V. et al., 2008. Retrobulbar blood flow and ophthalmic perfusion in maximum dynamic exercise. *Clin Experiment Ophthalmol*, Issue 36, pp. 123-29.

Laing, R., Cohen, A. & Friedman, E., 1975. Photographic measurements of retinal blood oxygen saturation: falling saturation rabbit experiments. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 14, pp. 606-610.

Lekhal, H. & P, E., 2002. Available at: <http://www.bioinformatics.org>

Lempert, P., Cooper, K., Culver, J. & Tredici, T., 1967. The effect of exercise on intraocular pressure. *Am J Ophthalmol*, Issue 63, pp. 1673-1676.

Levin, R., 2005. *Recommended practice for photobiological safety for lamps and lamp systems - General requirements*. RP-27.1-05: American National Standards Institute.

Liem, A., Keunen, J. & van Norren, D., 1996. Clinical applications of fundus reflection densitometry. *Surv.Ophthalmol.* 41, pp. 37-50.

Lompado, A., Smith, M., Hillman, L. & Denninghoff, K., 2000. Multispectral confocal scanning laser ophthalmoscope for retinal vessel oximetry. *Spectral Imaging:Instruments, Applications, and Analysis: Proceedings of the International Society for Optical Engineering (SPIE)3920*, pp. 67-72.

Longo, A., Geiser, M. & CE, R., 2000. Subfoveal choroidal blood flow in response to light-dark exposure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 41, pp. 2678-83.

Longo, A., Geiser, M. & Riva, C., 2004. Posture changer and subfoveal choroidal blood flow. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 45, pp. 546-51.

Lovasik, J., Kergoat, H. & Wajszilber, M., 2005. Bleu flicker modifies the subfoveal choroidal blood flow in the human eye. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, Volume 289, pp. 683-91.

Lutien-Drecoll, E., 2006. Choroidal innervation in primate eyes. *Exp Eye Res*, Volume 82, pp. 357-61.

Marboeuf, P., 2008. *L'anatomie de l'oeil*. Available at: www.maladiesoeil.com.

Marcus, D., Krupin, T., Podos, S. & Becker, B., 1970. The effect of exercise on intraocular pressure (Rabbits. *Invest Ophthalmol*, Issue 9, pp. 753-757.

Marieb, E., 2005. *Anatomie et physiologie humaine*. s.l.:ERPI.

Michelson, G., Groh, M. & Grundler, A., 1994. Regulation of ocular blood flow during increases of arterial blood pressure. *Br J Ophthalmol*, Issue 78, pp. 461-465.

Movaffaghy, A., Chamot, S., Petrig, B. & Riva, C., 1998. Blood flow in the human optic nerve head during isometric exercise. *Exp Eye Res*, Issue 67, pp. 561-568.

Nemeth, J. et al., 2002. Different autoregulation response to dynamic exercise in ophthalmic and central retinal arteries: a color Doppler study in healthy subjects. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, Issue 240, pp. 835-840.

Okuno, T. et al., 2006. Ocular blood flow changes after dynamic exercise in humans. *Eye*, Issue 20, pp. 796-800.

Pellerin, L. & Magistretti, P., 1994. Glutamate uptake into astrocytes simulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci USA*, Volume 91, pp. 10625-9.

Pillunat, L., Stodtmeister, R. & Wilmanns, I., 1985. Autoregulation of ocular blood flow during changes in intraocular pressure. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, Issue 223, pp. 219-223.

Pittman, R. & Duling, B., 1975. Measurement of percent oxyhemoglobin in the microvasculature. *J Appl Physiol*. 38, pp. 321-327.

Pittman, R. & Duling, B., 1975. A new method for the measurement of percent hemoglobin. *J. Appl. Physiol*. 38, pp. 315-320.

Polska, E. et al., 2007. Regulation of choroidal blood flow during combined changes in intraocular pressure and arterial blood pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 48, pp. 3768-74.

Pournaras, C. et al., 2008. Regulation of retinal blood flow in health and disease. *Prog Retin Eye Res*, Issue 27, pp. 284-330.

Prahl, S., 2001. *Optical properties spectra*. Available at: <http://omlc.ogi.edu>.

Prince, E. et al., 2003. Effect of exercise on intraocular pressure and pulsatile ocular blood flow in a young normal population. *Opt Vis Sci*, Issue 80, pp.460-66.

Pulido, J., 2005. *Rétine, choroïde, vitré. Elsevier Masson, Paris.*

Ramella-Roman, J. & Mathews, S., 2007. Spectroscopic measurements of oxygen saturation in the retina. *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics* 13(6), pp. 1697-1703.

Resch, H. et al., 2005. Inhaled carbon monoxide increases retinal and choroidal blood flow in healthy humans. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 46, pp. 4275-80.

Risner, D. et al., 2009. Effects of exercise on intraocular pressure and ocular blood flow. *J Glaucoma*, Issue 18, pp. 429-436.

Riva, C., Falsini, B. & Logean, E., 2001. Flicker evoked responses of human optic nerve head blood flow: luminance versus chromatic modulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Issue 42, pp. 756-762.

Riva, C. & Feke, G., 1981. Laser Doppler velocimetry in the measurement of retinal blood flow. *The biomedical Laser: Technology and Clinical Applications New York*, pp. 135-161.

Riva, C., Grunwald, J. & Petrig, B., 1986. Autoregulation of human retinal blood flow. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 27, pp. 1706-12.

Riva, C., Grunwald, J. & Petring, B., 1983. Reactivity of the human retinal circulation to darkness: a laser Doppler velocimetry study. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci*, Issue 24, pp. 737-740.

Riva, C., Hero, M., Titze, P. & Petrig, B., 1997. Autoregulation of human optic nerve head blood flow in response to acute changes in ocular perfusion pressure. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, Issue 235, pp. 618-626.

Riva, C., Logean, E. & Falsini, B., 2004. Temporal dynamics and magnitude of the blood flow response at the optic disk in normal subjects during functional retinal flicker-stimulation. *Neurosci lett*, Issue 356, pp. 75-78.

Riva, C., Logean, E. & Falsini, B., 2005. Visually evoked hemodynamical response and assessment of neurovascular coupling in the optic nerve and retina. *Prog Retina Eye Res*, Volume 24, pp. 183-215.

Riva, C., Sinclair, S. & Grunwald, J., 1981. Autoregulation of retinal circulation in response to decrease of perfusion pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Issue 21, pp. 34-38.

Robinson, F. et al., 1986. Retinal blood flow autoregulation in response to an acute increase in blood pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 27, pp. 722-26.

Rodieck, R., 2003. La vision. *De Boeck*.

Scheiner, A., Riva, C., Kazahava, K. & Petring, B., 1994. Effect of flicker on macular blood flow assessed by the blue field simulation technique. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 35, pp. 3436-41.

Scholfield, C., McGeown, J. & Curtis, T., 2007. Cellular physiology of retinal and choroidal arteriolar smooth muscle cells. *Microcirculation*, Volume 14, pp. 11-24.

Schweitzer, D., Guenther, S., Scibor, M. & Hammer, M., 1992. Spectrometric investigations in ocular hypertension and early stages of primary open angle glaucoma and of low tension glaucoma multisubstance analysis. *Int. Ophthalmol.* 16, pp. 251-257.

Schweitzer, D. et al., 1999. In vivo measurement of the oxygen saturation of retinal vessels in healthy volunteers. *IEEE Trans Biomed Eng*, Issue 46, pp. 1454-1465.

Schweitzer, D., Hammer, M. & Scibor, M., 1996. Imaging spectrometry in ophthalmology: principle and applications in microcirculation and in investigation of pigments. *Ophthalmic Res.*28 (Suppl. 2), pp. 37-44.

Schweitzer, D. et al., 1995. Calibration-free measurement of the oxygen saturation in retinal vessels of men. *Proceedings of the International Society for Optical Engineering (SPIE) 2393*, pp. 210-218.

Schweitzer, D. et al., 1985. Reflectance spectrophotometry in the human ocular fundus. *Graef. Arch.Clin.Exp. Ophthalmol.* 223, pp. 207-210.

Schweitzer, D., Thamm, E., Hammer, M. & Kraft, J., 2001. A new method for the measurement of oxygen saturation at the human ocular fundus. *Int Ophthalmol* 23, pp. 347-353.

Smith, M., 1999. Optimum wavelength combinations for retinal vessel oximetry. *Appl Opt*, 38(1), pp. 258-267.

Smith, M., Denninghoff, K., Hillman, L. & Chipman, R., 1998. Oxygen saturation measurements of blood in retinal vessels during blood loss. *J Biomed Opt* 3, pp. 296-303.

Smith, M., Denninghoff, K., Lompado, A. & Hillman, L., 2000. Effect of multiple light paths on retinal vessel oximetry. *Applied Optics* 29, pp. 1183-1193.

Smith, M., Denninghoff, K., Lompado, A. & Hillman, L., 2000. Retinal vessel oximetry: toward absolute calibration. *Ophthalmic Technologies X: Proceedings of the International Society for Optical Engineering (SPIE) 3908*, pp. 217-226.

Smith, N., 2004. Anatomie et refraction. *Elsevier Masson, Paris*.

Stefansson, E., Landers, M. & Wolbarsht, M., 1983. Oxygenation and vasodilatation in relation to diabetic and other proliferative retinopathies. *Ophthalmic Surgery* 14, pp. 209-226.

Stefansson, E. et al., 1992. Retinal oxygenation and laser treatment in patients with diabetic retinopathy. *American Journal of Ophthalmology* 113(1), pp. 36-38.

Stefansson, E., Pedersen, D., Jensen, P. & al., e., 2005. Optic nerve oxygenation. *Prog Retin Eye Res*, Issue 24, pp. 307-332.

Steinhaus, L., Dustman, R., Ruhling, R. & al., e., 1988. Cardio-respiratory fitness of young and older active and sedentary men. *Br J Sports Med*, Issue 22, pp. 163-166.

Suner, S., 2008. Non-invasive pulse CO-oximetry screening in the emergency department identifies occult carbon monoxide toxicity. *J. Emerg. Med*, Issue 34, pp. 441-450.

Tanaka, H., Bassett, D. J. & Turner, M., 1996. Exaggerated blood pressure response to maximal exercise in endurance-trained individuals. *Am J Hypertens*, Issue 9, pp. 1099-1103.

Thamm, E., Schweitzer, D. & Hammer, M., 1998. A data reduction scheme for improving the accuracy of oxygen saturation calculations from spectrometric in vivo measurements. *Phys. Med. Biol.* 43, pp. 1401-1411.

Tiedeman, J., Kirk, S., Srinivas, S. & Beach, J., 1998. Retinal oxygen consumption during hyperglycemia in patients with diabetes without retinopathy. *Ophthalmology* 105, pp. 31-36.

Tran, V., en cours. L'évaluation du taux d'oxygénation des vaisseaux sanguins de la rétine d'une population glaucomateuse. Montreal: Université de Montreal.

van Assendelft, O., 1970. Spectrophotometry of haemoglobin derivatives.. Assen, The Netherlands: Royal Vangorcum Ltd.

van de Kraats, J., Berendschot, T. & van Norren, D., 1996. The pathways of light measured in fundus reflectometry. *Vision Res.* 36, pp. 2229-2247.

van de Kraats, J. & van Norren, D., 2008. Directional and nondirectional spectral reflection from the human fovea. *Journal of Biomedical Optics*, Issue 13.

van Norren, D. & Tiemeijer, L., 1986. Spectral reflectance of the human eye. *Vision Res.* 26, pp. 313-320.

van Norren, D. & van de Kraats, J., 1989. Retinal densitometer with the size of a fundus camera. *Vision Res.* 29, pp. 369-374.

Vucea, V., Bernard, P., Sauvageau, P. & Diaconu, V., 2011. Blood oxygenation measurement by multichannel reflectometry on the venous and arterial structures of the retina. *Applied Optics*, 50(26), pp. 5185-91.

Wangsa-Wirawan, N. & Linsenmeier, R., 2003. Retinal oxygen: Fundamental and clinical aspects. *Arch. Ophthalmol.* 121, pp. 547-557.

Widmair, E., Raff, H. & Strang, K., 2006. *Vander's Human physiology:the mechanisms of body function*. s.l.:McGraw-Hill higher Education.

Wilson, M. S. B., Pincomb, G. & Lovallo, W., 1990. Exaggerated pressure response to exercise in men at risk for systemic hypertension. *Am J Cardiol*, Issue 66, pp. 731-736.

Winkler, B. & Giblin, F., 1983. Glutathione oxidation in retina: effects on biochemical and electrical activities. *Exp Eye Res*, Volume 36, pp. 287-97.

Yamamoto, F. & Steinberg, R., 1992. Effects of systemic hypoxia on PH outside rod photoreceptors in the cat retina. *Exp Eye Res*, Volume 54, pp. 699-709.

Yancey, C. & Linsenmeier, R., 1989. Oxygen distribution and consumption in the cat retina at increased intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, Volume 30, pp. 600-11.

Yoneya, S. et al., 2002. Retinal oxygen saturation levels in patients with central retinal vein occlusion. *Ophthalmology 109(8)*, pp. 1521-1526.

Yu, D. & Cringle, S., 2005. Retinal degeneration and local oxygen metabolism. *Exp Eye Res*, Volume 80, pp. 745-51.