

Structures hiérarchiques multi-échelles pour l'analyse d'images histologiques

—
Présenté par Romain PERRIN

—
Au laboratoire ICube, salle A301, le 23 septembre 2024

—
Devant le jury composé de :

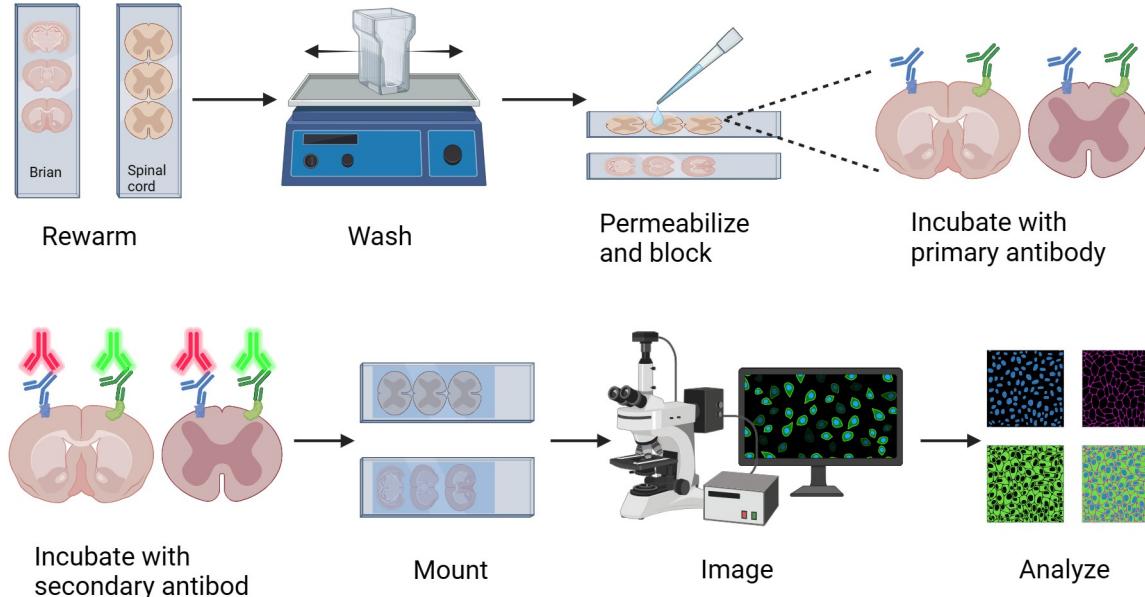
M.	WEMMERT Cédric	PR, Université de Strasbourg
M.	NAEGEL Benoît	PR, Université de Strasbourg
M ^{me}	LEBORGNE Aurélie	MCF, Université de Strasbourg
M ^{me}	MARCOTEGUI Béatriz	PR, Mines Paristech
M.	KURTZ Camille	PR, Université Paris Cité
M.	PASSAT Nicolas	PR, Université de Reims Champagne Ardenne
M ^{me}	BRICQ Stéphanie	MCF HDR, Université de Bourgogne
M.	NOBLET Vincent	IR HDR, Université de Strasbourg

Sommaire

- I. Introduction et contextualisation
- II. Structures hiérarchiques et arbre des coupes multi-échelles (MSCT)
- III. Traitement d'images histologiques avec le MSCT
- IV. Conclusions et perspectives

I – Contexte : cancer et histologie

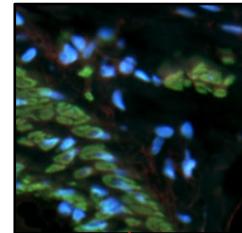
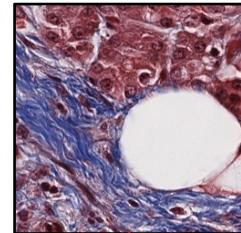
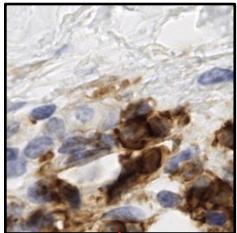
- En France, le cancer est la **première** cause de **mortalité** chez l'homme et la **seconde** chez la femme.
- Le diagnostic s'appuie notamment sur l'**histologie** (et l'imagerie histologique).
- L'histologie utilise l'**immunomarquage** basé sur le principe de réaction entre couples d'**anticorps** et d'**antigènes**.



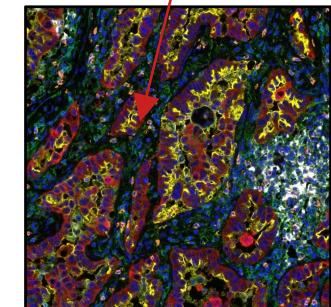
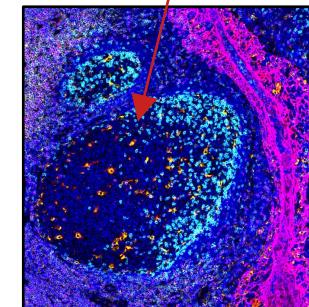
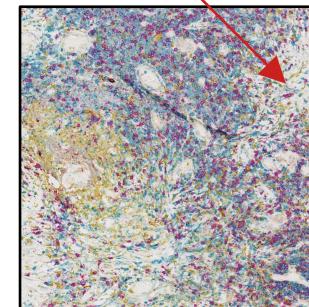
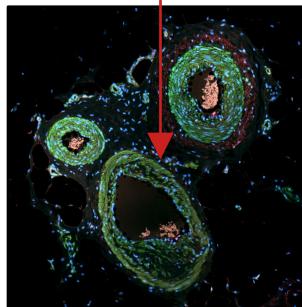
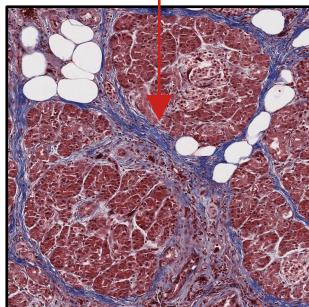
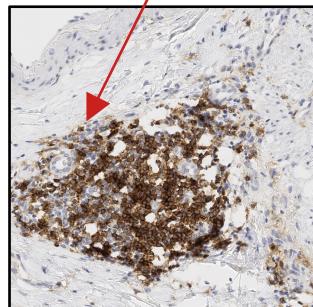
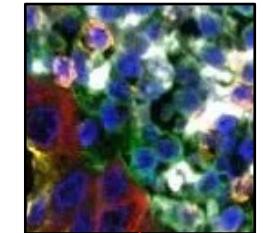
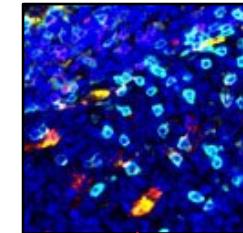
I – Contexte : cancer et histologie

- En France, le cancer est la **première** cause de **mortalité** chez l'homme et la **seconde** chez la femme.
- Le diagnostic s'appuie notamment sur l'**histologie** (et l'imagerie histologique).
- L'histologie utilise l'**immunomarquage** basé sur le principe de réaction entre couples d'**anticorps** et d'**antigènes**.
- **Multiplexing** : mise en évidence de **2+** marqueurs sur un même tissu **simultanément**.

Immunohistochimie (IHC)/immunofluorescence (IF)

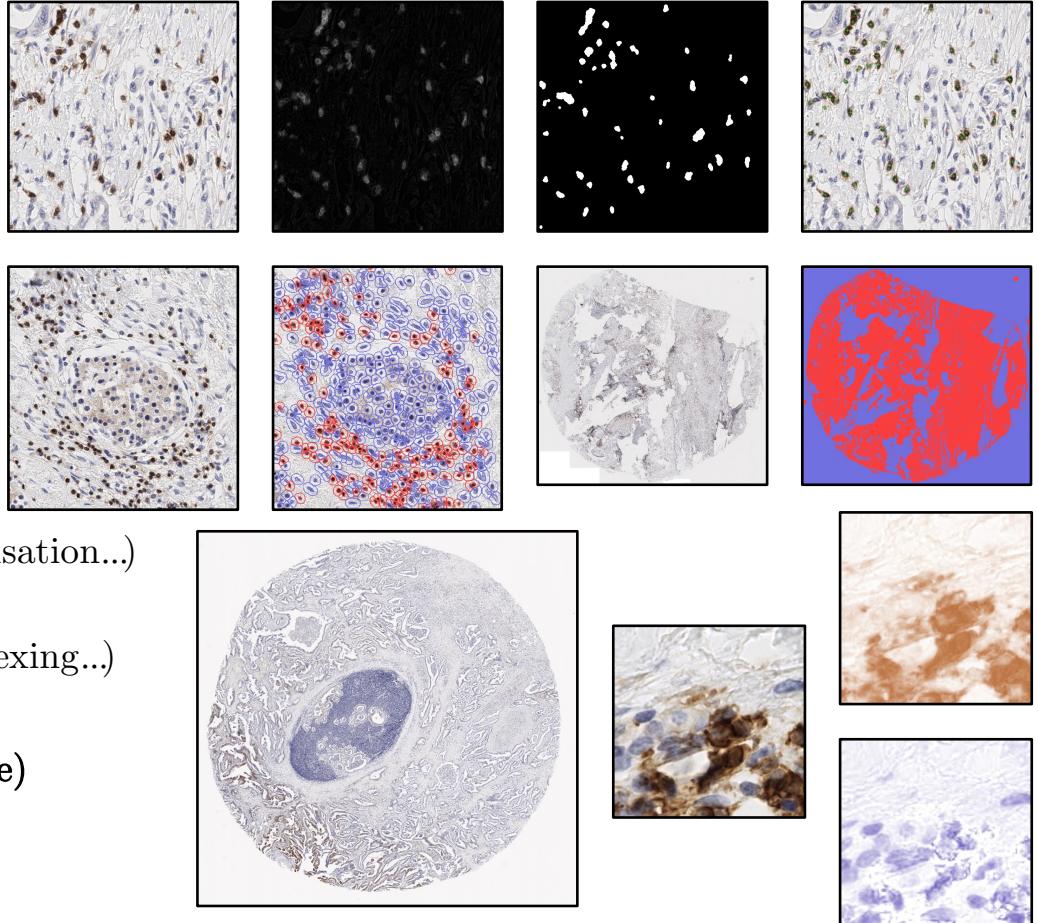


Multiplexing (mIHC/mIF)



I – Contexte : génèse du projet

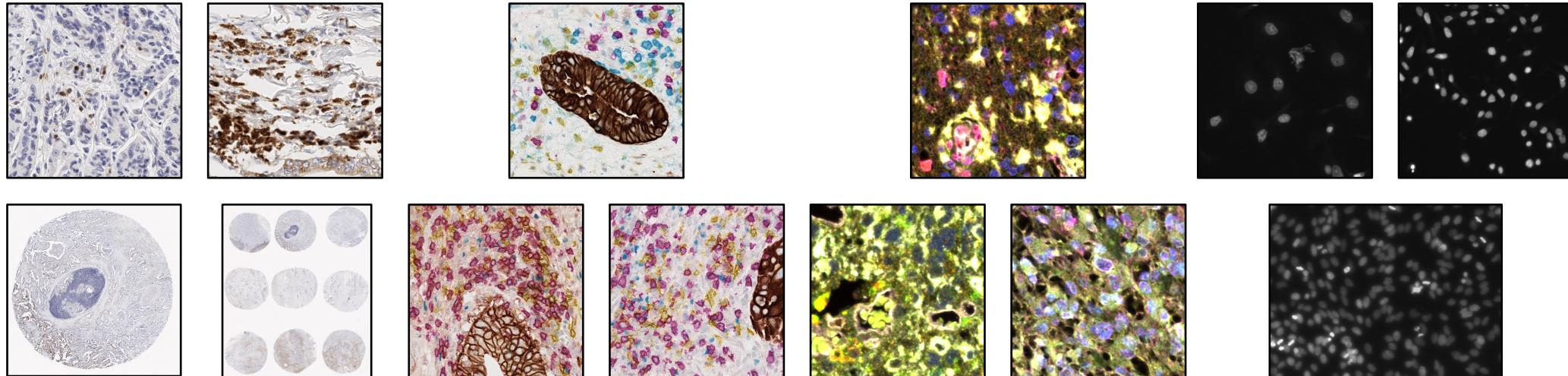
- Émulation du travail du pathologiste
 - **Quantification** cellulaire
 - **Immunoscore** morphologique/QuPath [1]
- Segmentation cellulaire et images multiplex
 - Méthodes d'**apprentissage** (annotations, généralisation...)
 - **Limites** (grandes images, complexité du multiplexing...)
- => Intérêt des **structures hiérarchiques** (morphologie)



[1] Bankhead, P. et al. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Scientific Reports* (2017). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17204-5>

I – Contexte : jeux de données

Jeu de données	HUS	ROCHE	MI*EDGE	KAGGLE
Images	279/marqueur	4	64	546
Mode	Couleur	Couleur	Couleur (composite + 9 canaux)	Niveaux de gris
Immunomarquage	IHC	mIHC	mIF	IHC
Marqueurs	12 marqueurs (séparés)	5+1 marqueurs	9 marqueurs	1 marqueur
Contenu	Tissue Micro-Array (TMA) 9 ou 12 punchs de 6mm	Whole Slide Image (WSI) contenant 1 punch	Patchs de 1860x1396 pixels	Patchs de tailles variables

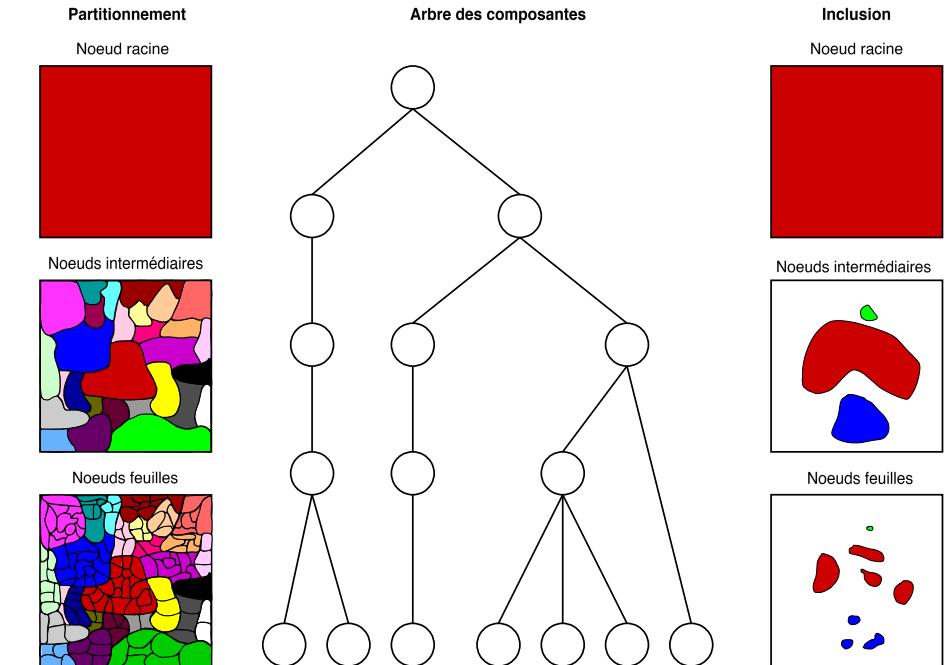


II – La morphologie mathématique

- Morphologie mathématique
 - France, 1964 (G. Matheron, J. Serra)
 - Recherches **actives** (algorithmes efficaces, traitements de très grandes images, images multivaluées...)
 - Morphologie **ensembliste** → morphologie **fonctionnelle** (morphologie **plate**)
- Cadre d'analyse
 - Image = ~~matrice de pixels, fréquences sinusoïdales~~ → ensemble d'**objets** constitués d'ensembles de **pixels**
 - Objets définis par leurs **formes géométriques** et/ou leurs **profils d'intensité**
 - Analyse des **relations spatiales** entre ces objets

II – Les structures hiérarchiques

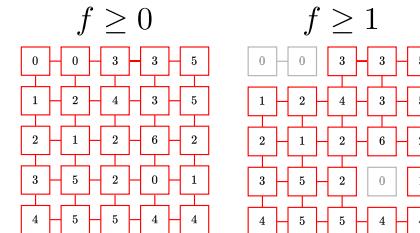
- Familles de représentations de l'image
 - ✓ À base de **pixels**
 - ✓ À base de **blocs**
 - ✓ Par **compression de domaine/fréquence**
 - ✓ À base de **régions**
 - ✓ **Hiérarchiques**



II – Les structures hiérarchiques

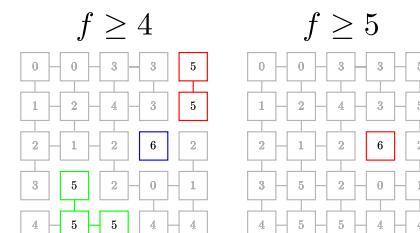
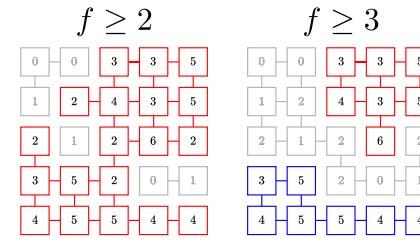
- Structures hiérarchiques monovaluées

- Arbre des coupes (*component-tree* : *min-tree* et *max-tree*)
- Arbre des formes ou ToS (*Tree of Shapes*)
- Arbre des partitionnement binaire ou BPT (*Binary Partition Tree*)
- α -arbre
- (ω) -arbre



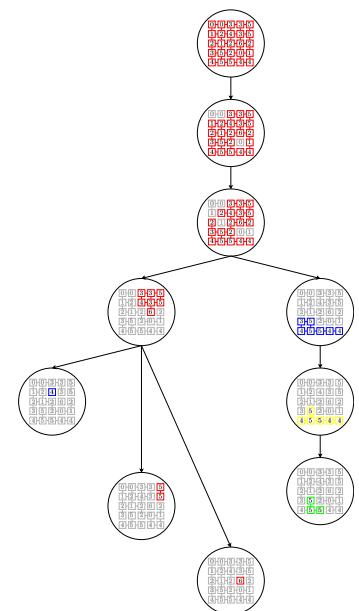
- Structures hiérarchiques multivaluées

- Graphe des coupes (*component-graph*)
- Arbre des coupes multivalué (*multivalued component-tree*)
- Arbres des formes multivalué ou MToS (*Multivariate Tree of Shapes*)



<i>I</i>				
0	0	3	3	5
1	2	4	3	5
2	1	2	6	2
3	5	2	0	1
4	5	5	4	4

max-tree



II – Vers une nouvelle structure hiérarchique

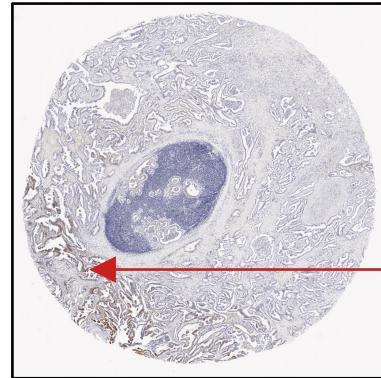
- **Structures hiérarchiques**

- Représentations **riches** (encodage complet et sans perte)
- Préservation de l'information de **contours**
- Décomposition **multi-échelles** des objets

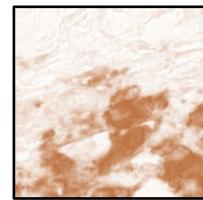
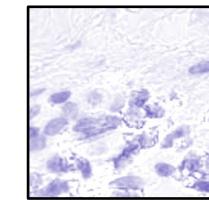
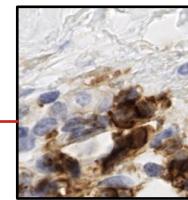
- Pas de modélisation de la **nature multi-échelles** de l'image

- Distinction entre les **pixels** de l'image (fine résolution pour les régions d'intérêt)
- Concept le plus proche : **hyperarbre des coupes** (notion d'échelle au niveau topologique)
- => Définition de l'**arbre des coupes multi-échelles** ou **MSCT** (*Multi-Scale Component-Tree*)

Tous les noyaux (positifs et négatifs) $\leq 25\%$ de l'image



Noyaux positifs = sous-ensemble des noyaux

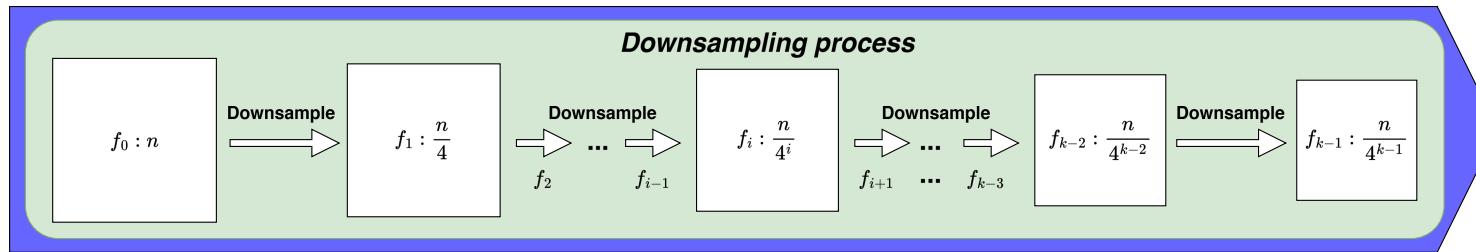


II – Principe de construction du MSCT



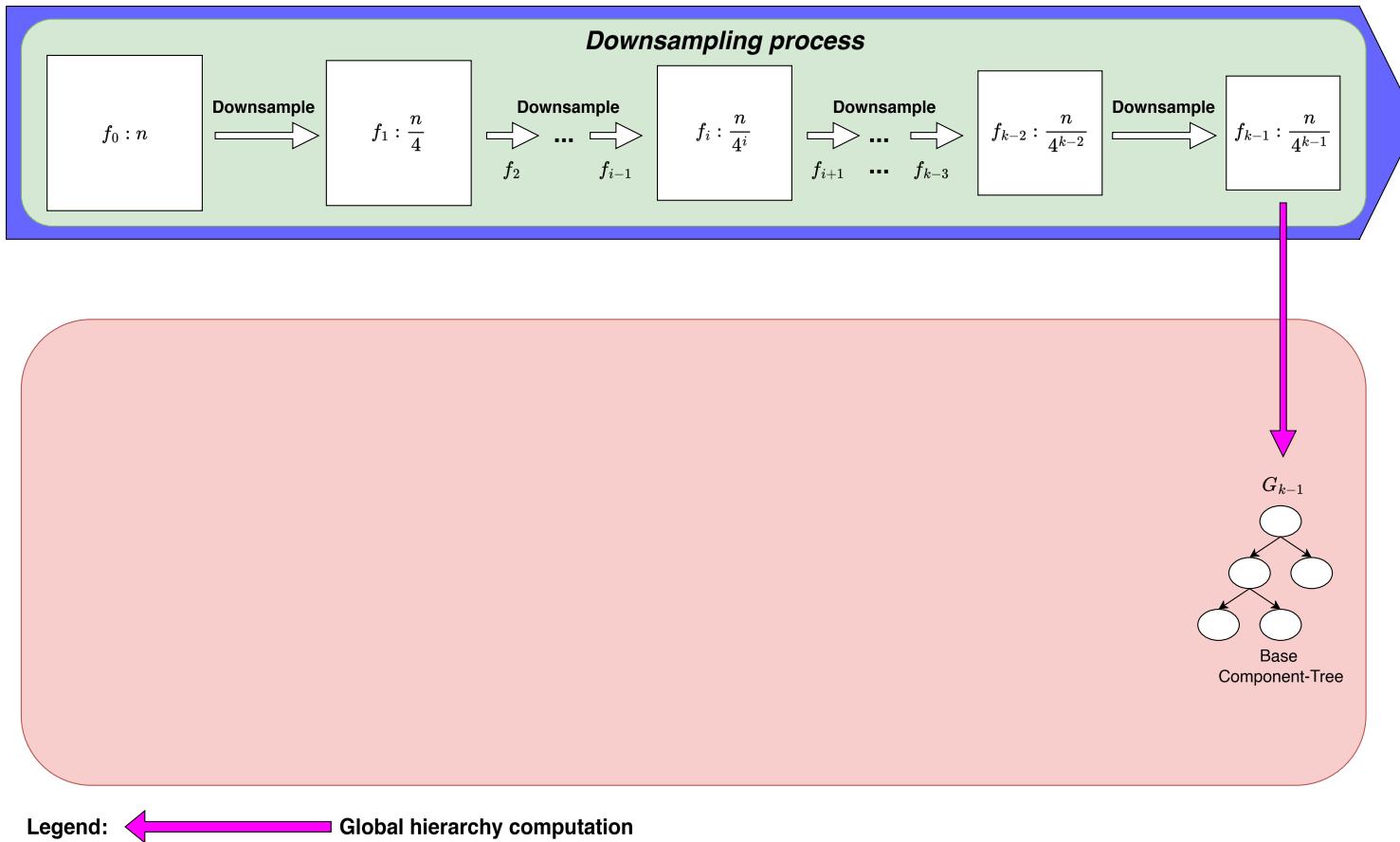
Legend:

II – Principe de construction du MSCT

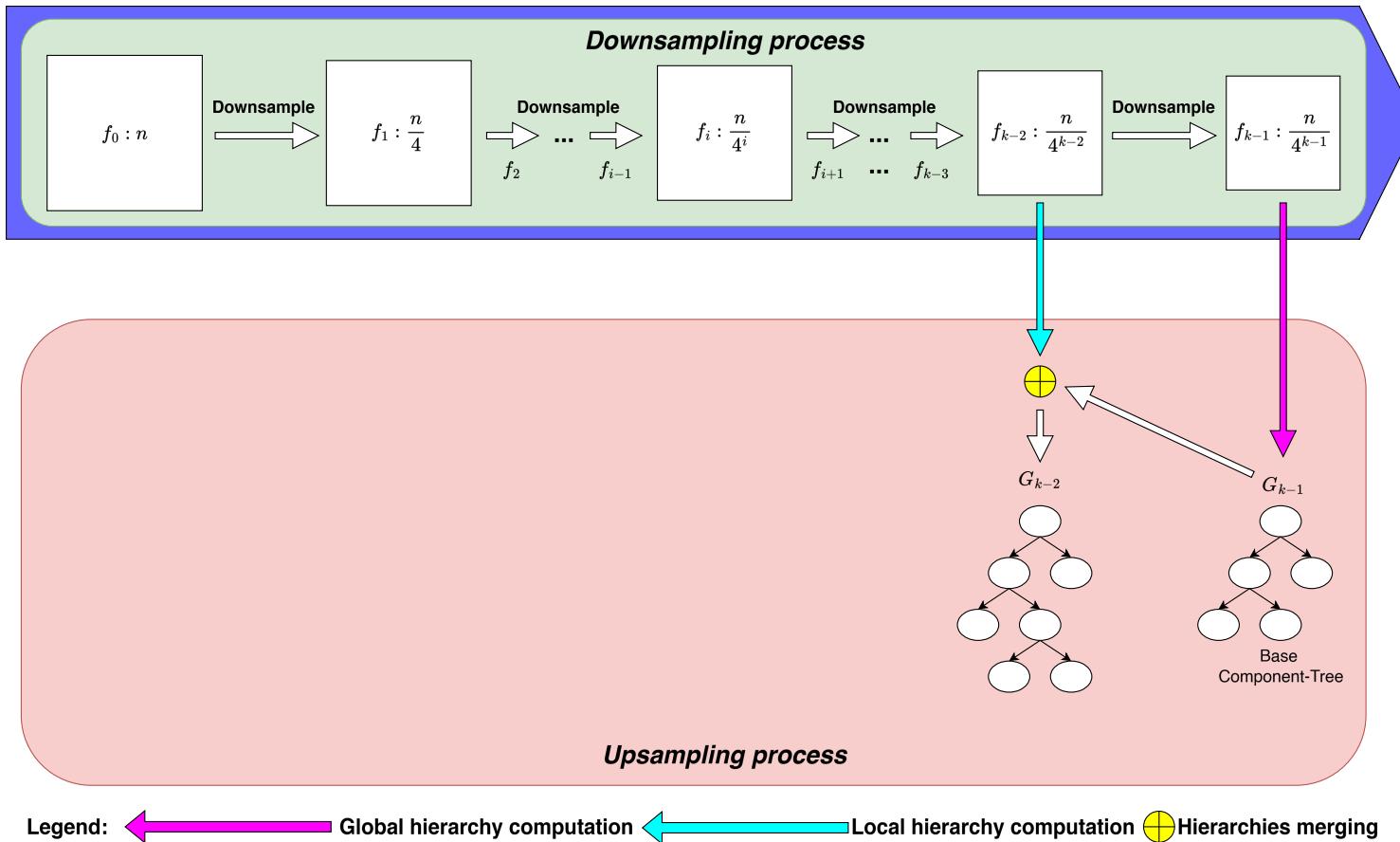


Legend:

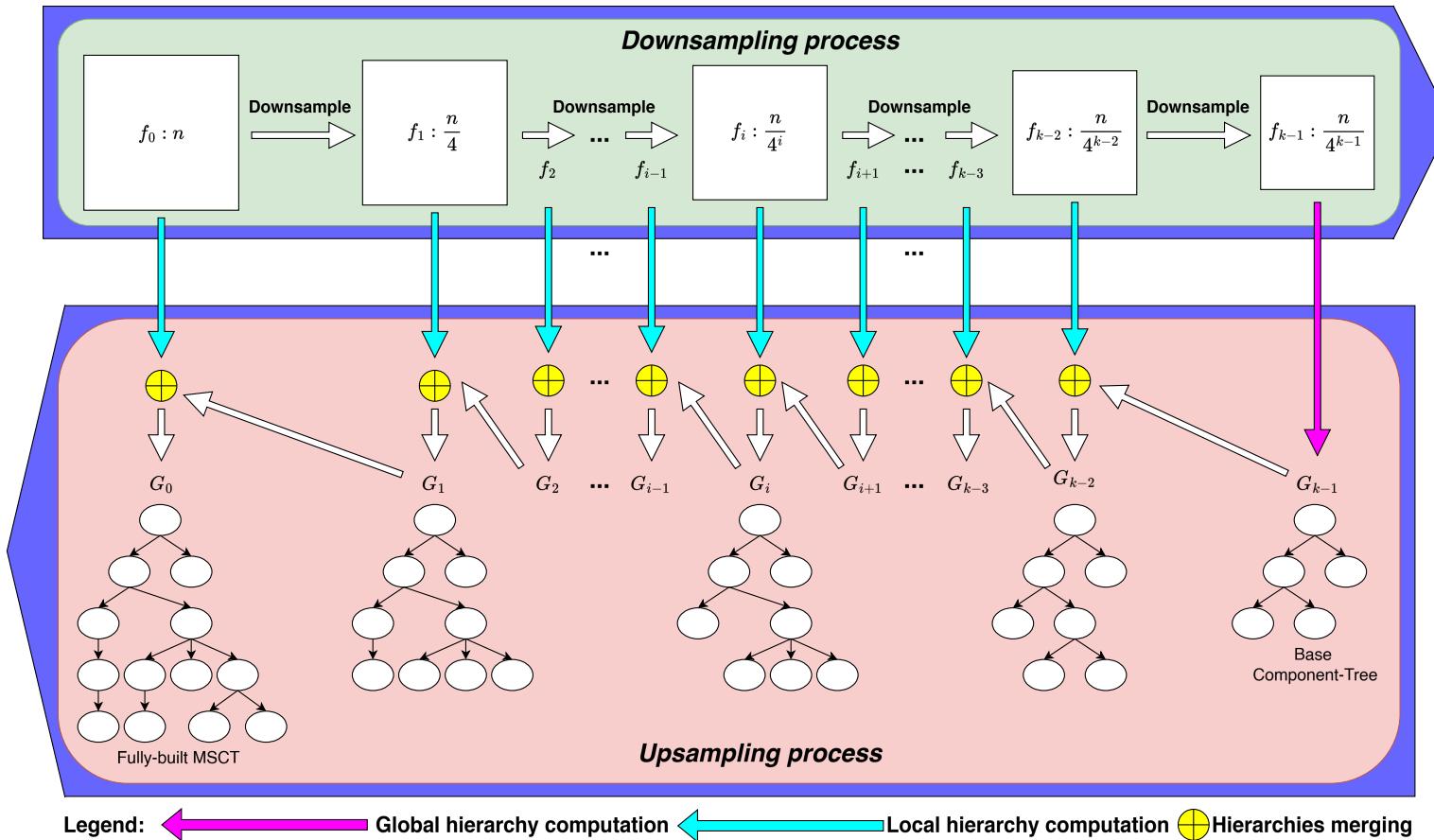
II – Principe de construction du MSCT



II – Principe de construction du MSCT

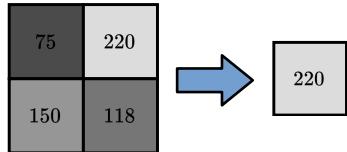


II – Principe de construction du MSCT

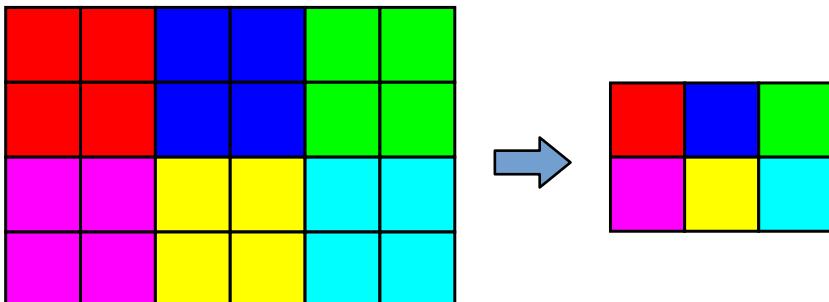


II – Processus de sous-échantillonnage

- Promotion des zones plates au **contraste élevé**.
- Fenêtre glissante avec une stratégie **maximum**.



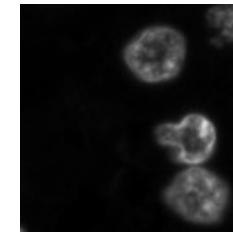
- Analogue à un **maxpooling** (size 2, stride 2).



$$f_i = w_i \times h_i = n_i$$

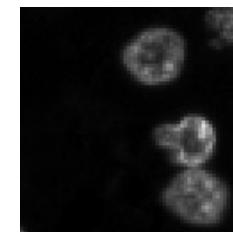
$$f_{i+1} = w_{i+1} \times h_{i+1} = n_{i+1}$$

$$= \frac{w_i}{2} \times \frac{h_i}{2} = \frac{n_i}{4}$$



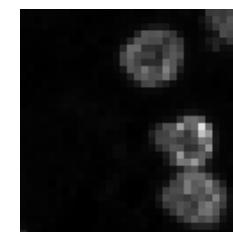
$$f_0 : 1 \rightarrow f_0 : 1$$

□ → □



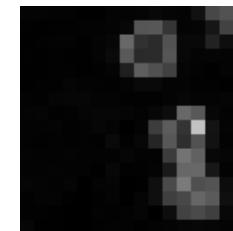
$$f_1 : 1 \rightarrow f_0 : 4$$

□ → □⁴



$$f_2 : 1 \rightarrow f_0 : 16$$

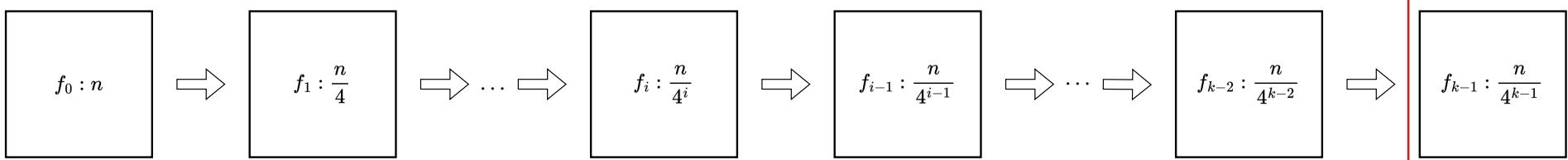
□ → □¹⁶



$$f_3 : 1 \rightarrow f_0 : 64$$

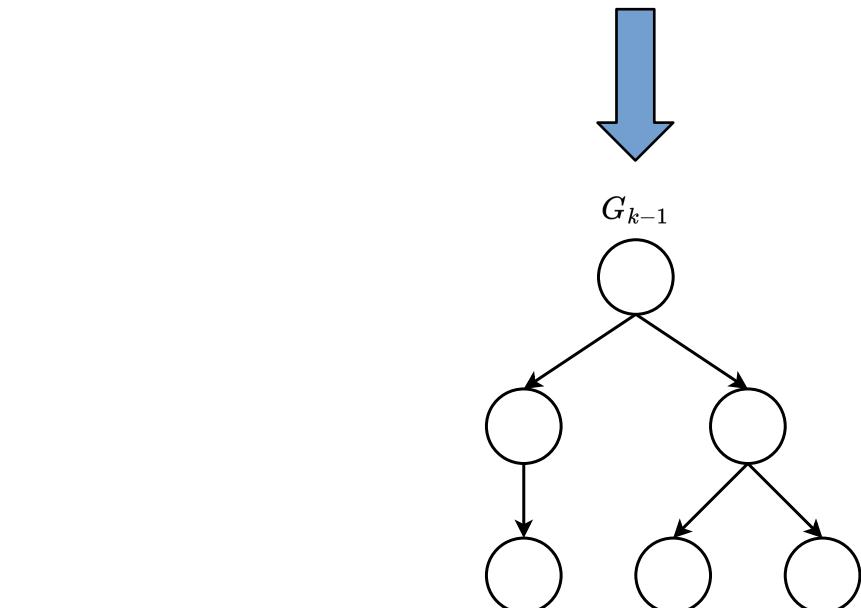
□ → □⁶⁴

II – Définition d'une hiérarchie globale à faible échelle



- **Arbre des coupes de base** : hiérarchie globale originale.

- Construit sur f_{k-1}
- Algorithme optimal quasi-linéaire [1]
- $f_{k-1} = \frac{n}{4^{k-1}}$
- Coût de calcul de $G_{k-1} = (V_{k-1}, E_{k-1})$: $\mathcal{O}\left(\frac{n}{4^{k-1}} \log\left(\frac{n}{4^{k-1}}\right)\right)$
- Implémentation : algorithme de Najman et Couprise [2]

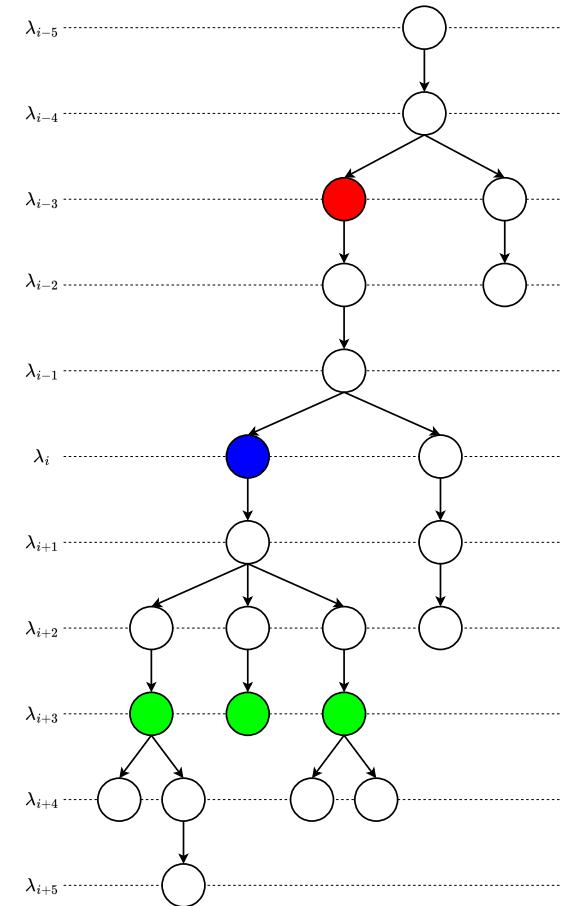


[1] E. Carlinet, T. Géraud, A comparative review of component tree computation algorithms, IEEE Transactions on Image Processing, vol. 23, pp. 3885-3895, 2014.
[2] L. Najman., M. Couprise, Building the component tree in quasi-linear time, IEEE Transactions on Image Processing, vol. 15, pp. 3531-3539, 2006

II – Métrique des nœuds

- Attributs des nœuds : **Maximally Stable Extremal Regions** (MSER) [1]
 - Régions **stables** (bruit, transformations...) et **distinctes** du fond
 - Descripteur **robuste** et **invariant à l'échelle**
 - Calcul **efficace** dans un *max-tree*/MSCT

$$MSER(N) = \frac{|N_{-\Delta}| - \sum_p |N_{+\Delta}^p|}{|N|}$$

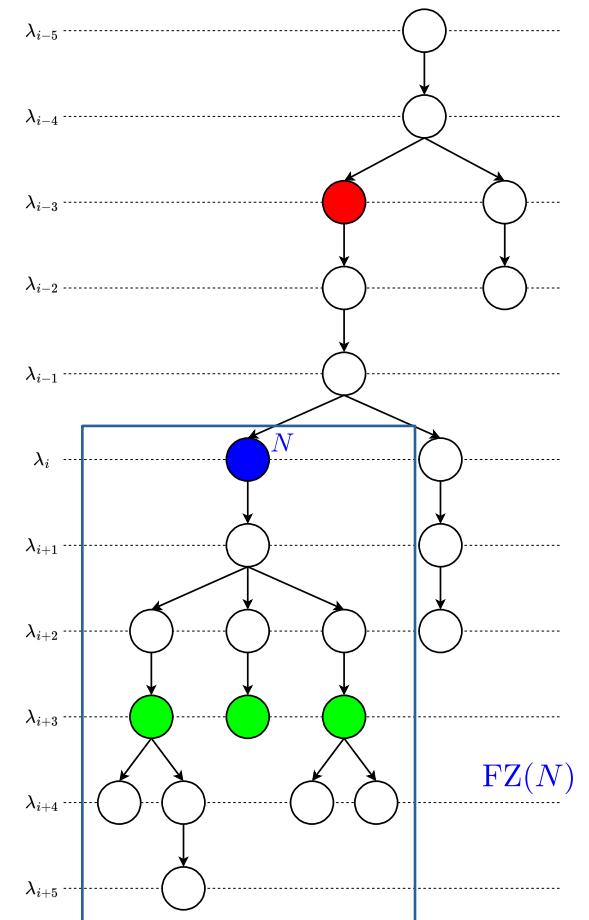


[1] Jiri Matas et al. "Robust wide-baseline stereo from maximally stable extremal regions". In : Image and Vision Computing 22 (2004), p. 761-767.

II – Métrique des nœuds

- Attributs des nœuds : **Maximally Stable Extremal Regions** (MSER) [1]
 - Régions **stables** (bruit, transformations...) et **distinctes** du fond
 - Descripteur **robuste** et **invariant à l'échelle**
 - Calcul **efficace** dans un *max-tree*/MSCT

$$MSER(N) = \frac{|N_{-\Delta}| - \sum_p |N_{+\Delta}^p|}{|N|}$$

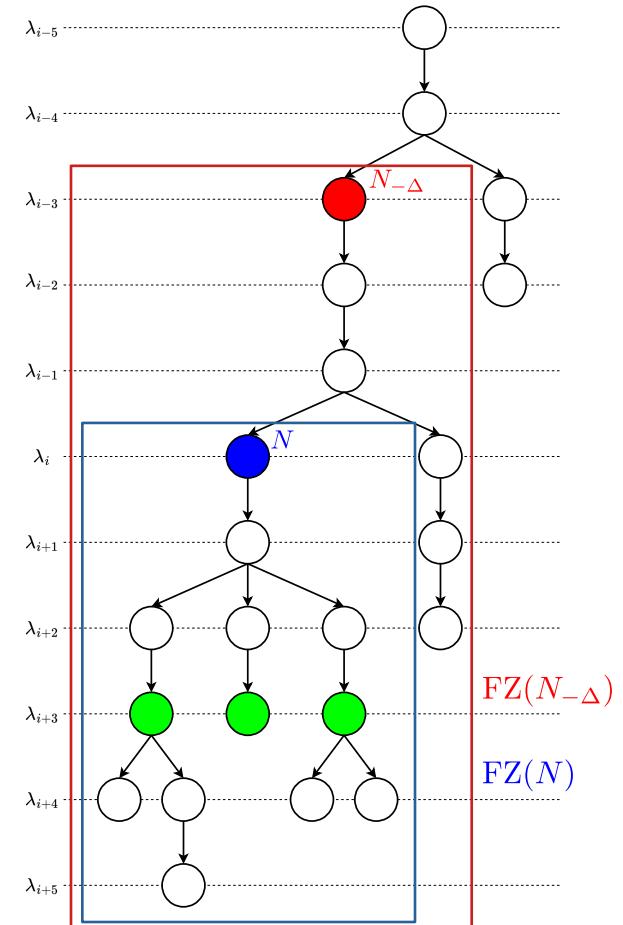
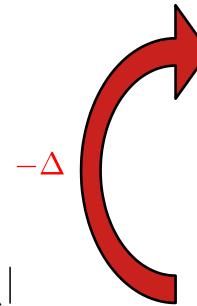


[1] Jiri Matas et al. "Robust wide-baseline stereo from maximally stable extremal regions". In : Image and Vision Computing 22 (2004), p. 761-767.

II – Métrique des nœuds

- Attributs des nœuds : **Maximally Stable Extremal Regions** (MSER) [1]
 - Régions **stables** (bruit, transformations...) et **distinctes** du fond
 - Descripteur **robuste** et **invariant à l'échelle**
 - Calcul **efficace** dans un *max-tree*/MSCT

$$MSER(N) = \frac{|N_{-\Delta}| - \sum_p |N_{+\Delta}^p|}{|N|}$$

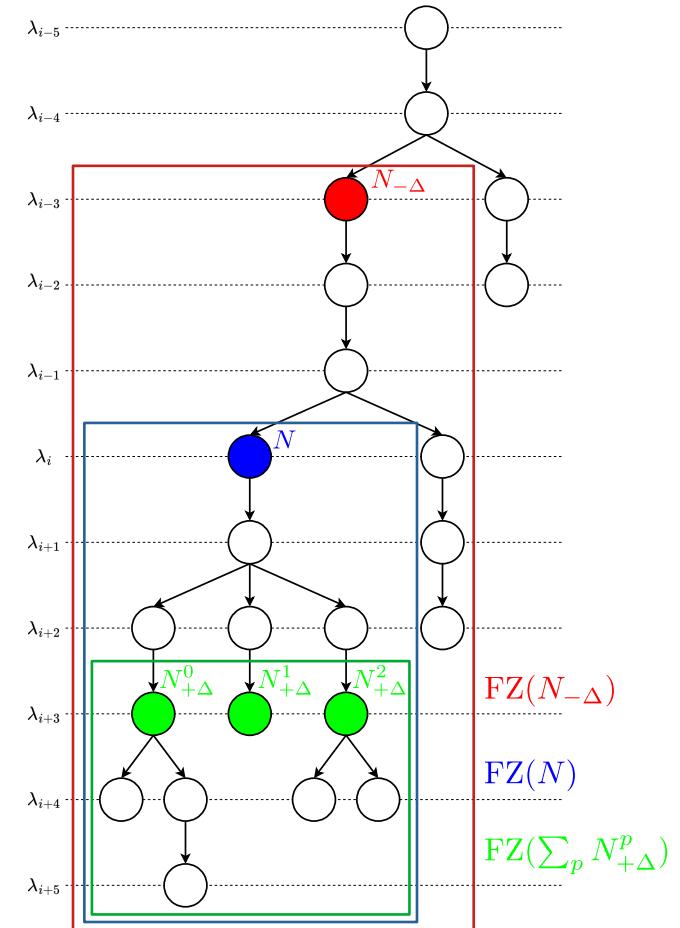


[1] Jiri Matas et al. "Robust wide-baseline stereo from maximally stable extremal regions". In : Image and Vision Computing 22 (2004), p. 761-767.

II – Métrique des nœuds

- Attributs des nœuds : **Maximally Stable Extremal Regions** (MSER) [1]
 - Régions **stables** (bruit, transformations...) et **distinctes** du fond
 - Descripteur **robuste** et **invariant à l'échelle**
 - Calcul **efficace** dans un *max-tree*/MSCT

$$MSER(N) = \frac{|N_{-\Delta}| - \sum_p |N_{+\Delta}^p|}{|N|}$$



[1] Jiri Matas et al. "Robust wide-baseline stereo from maximally stable extremal regions". In : Image and Vision Computing 22 (2004), p. 761-767.

II – Processus de sélection des nœuds d'intérêt

- File de **priorité**, tri par MSER croissant
- Extraction de sous-arbres mutuellement **disjoints**

Entrée

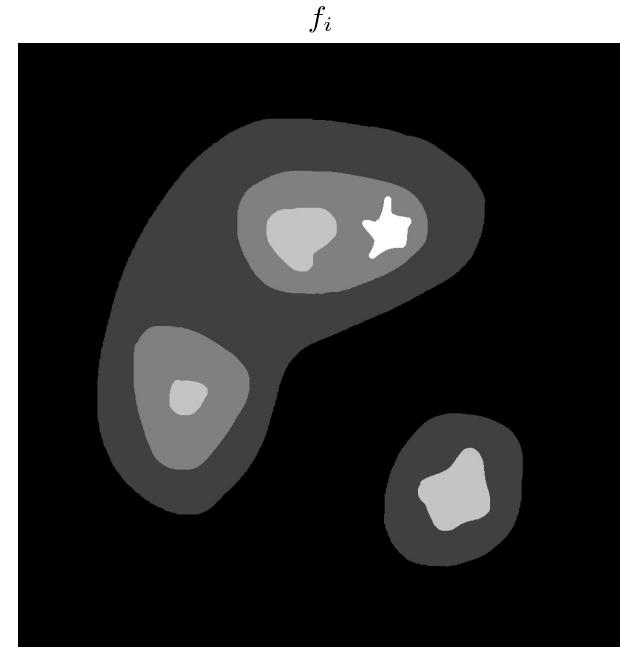
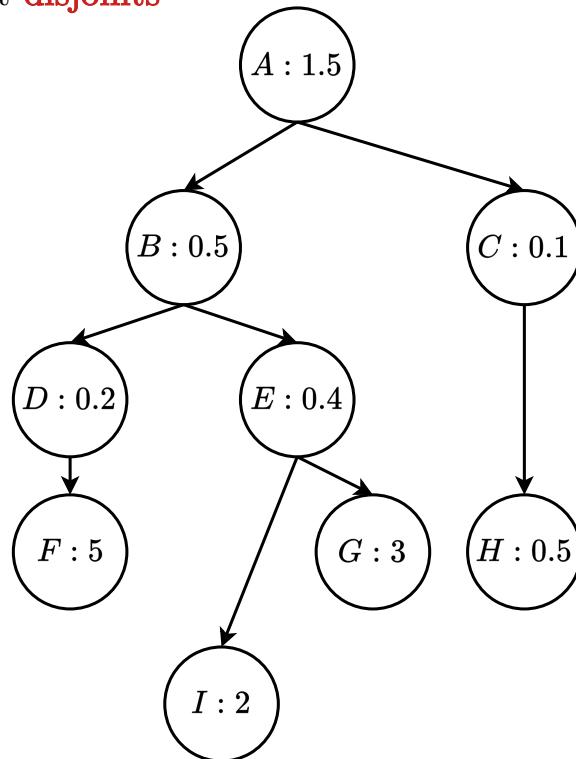
$$V_i = \{A, B, C, D, E, F, G, H, I\}$$

Initialisation

$$Q = \{C, D, B, E, H, A, I, G, F\}$$

$$C_i = \emptyset$$

$$G_i = (V_i, E_i)$$



II – Processus de sélection des nœuds d'intérêt

- File de **priorité**, tri par MSER croissant
- Extraction de sous-arbres mutuellement **disjoints**

Entrée

$$V_i = \{A, B, C, D, E, F, G, H, I\}$$

Initialisation

$$Q = \{C, D, B, E, H, A, I, G, F\}$$

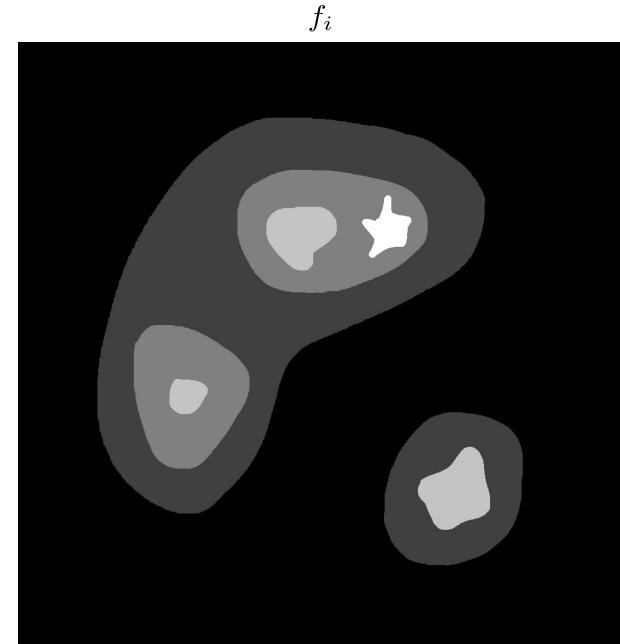
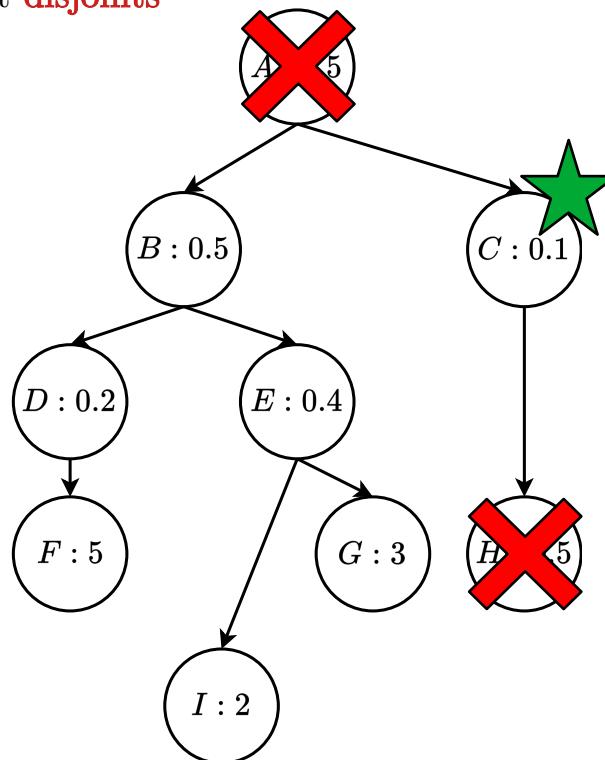
$$C_i = \emptyset$$

Itération 1

$$Q = \{\textcolor{green}{C}, D, B, E, \textcolor{red}{H}, \textcolor{red}{A}, I, G, F\}$$

$$C_i = \{\textcolor{green}{C}\}$$

$$G_i = (V_i, E_i)$$



II – Processus de sélection des nœuds d'intérêt

- File de **priorité**, tri par MSER croissant
- Extraction de sous-arbres mutuellement **disjoints**

Entrée

$$V_i = \{A, B, C, D, E, F, G, H, I\}$$

Initialisation

$$Q = \{C, D, B, E, H, A, I, G, F\}$$

$$C_i = \emptyset$$

Itération 1

$$Q = \{C, D, B, E, H, A, I, G, F\}$$

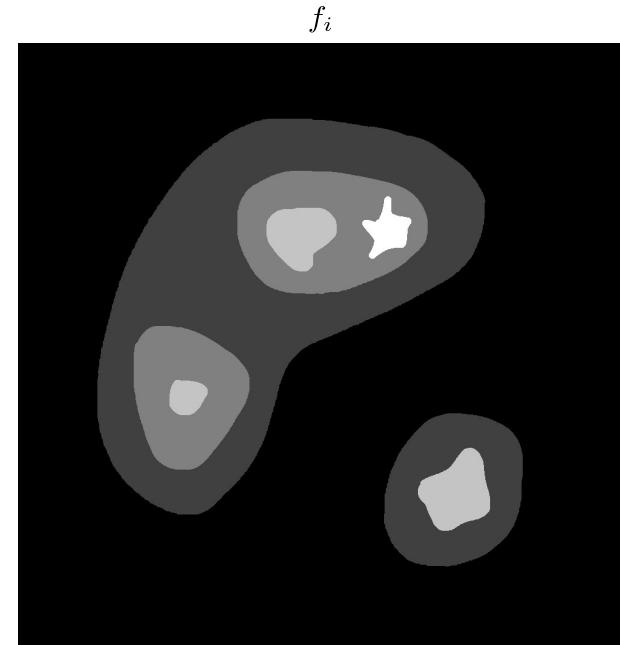
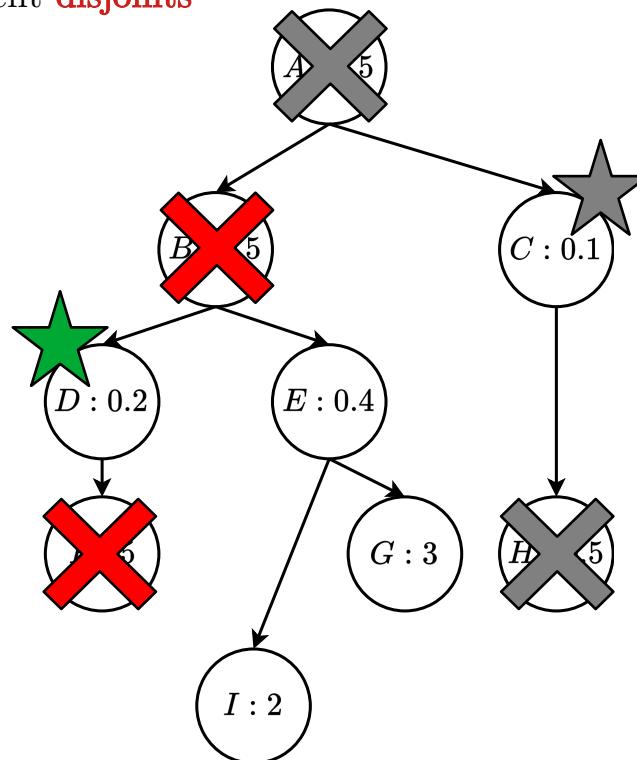
$$C_i = \{C\}$$

Itération 2

$$Q = \{D, B, E, I, G, F\}$$

$$C_i = \{C, D\}$$

$$G_i = (V_i, E_i)$$



II – Processus de sélection des nœuds d'intérêt

- File de **priorité**, tri par MSER croissant
- Extraction de sous-arbres mutuellement **disjoints**

Entrée

$$V_i = \{A, B, C, D, E, F, G, H, I\}$$

Initialisation

$$Q = \{C, D, B, E, H, A, I, G, F\}$$

$$C_i = \emptyset$$

Itération 1

$$Q = \{C, D, B, E, H, A, I, G, F\}$$

$$C_i = \{C\}$$

Itération 2

$$Q = \{D, B, E, I, G, F\}$$

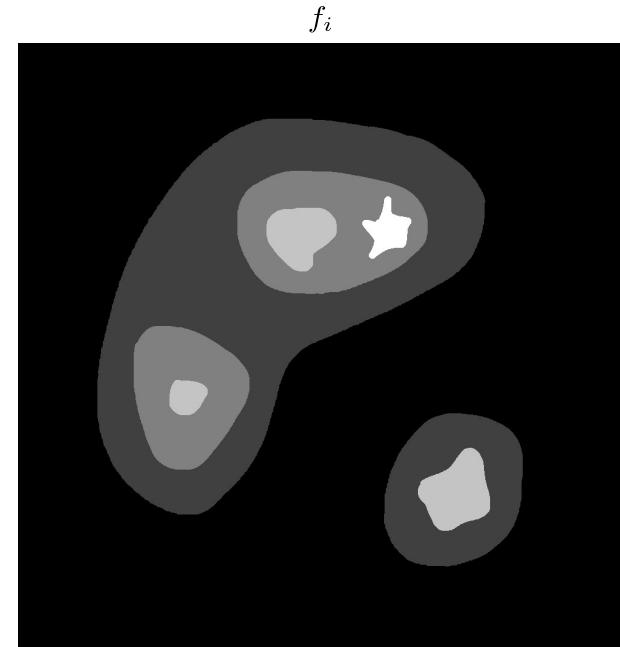
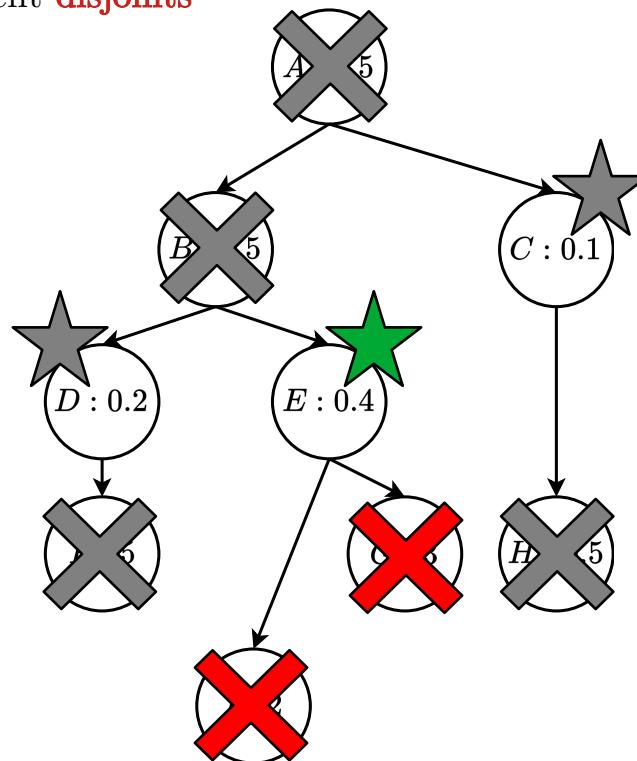
$$C_i = \{C, D\}$$

Itération 3

$$Q = \{E, I, G\}$$

$$C_i = \{C, D, E\}$$

$$G_i = (V_i, E_i)$$



II – Processus de sélection des nœuds d'intérêt

- File de **priorité**, tri par MSER croissant
- Extraction de sous-arbres mutuellement **disjoints**

Entrée

$$V_i = \{A, B, C, D, E, F, G, H, I\}$$

Initialisation

$$Q = \{C, D, B, E, H, A, I, G, F\}$$

$$C_i = \emptyset$$

Itération 1

$$Q = \{C, D, B, E, H, A, I, G, F\}$$

$$C_i = \{C\}$$

Itération 2

$$Q = \{D, B, E, I, G, F\}$$

$$C_i = \{C, D\}$$

Itération 3

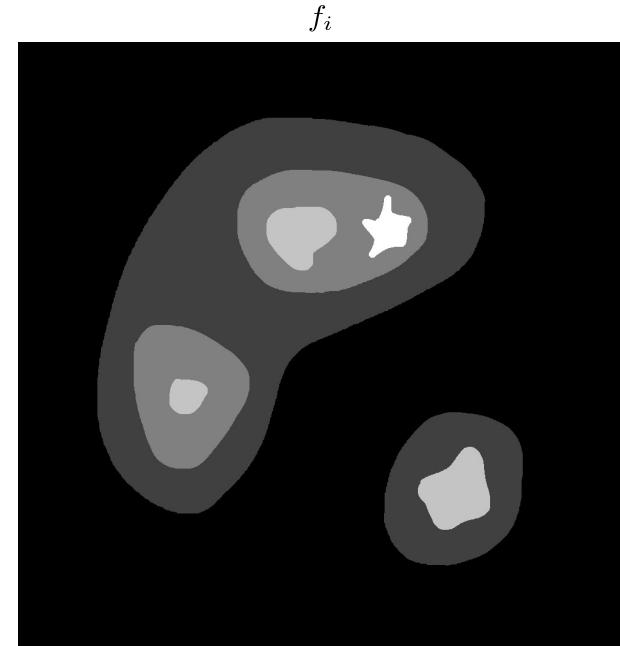
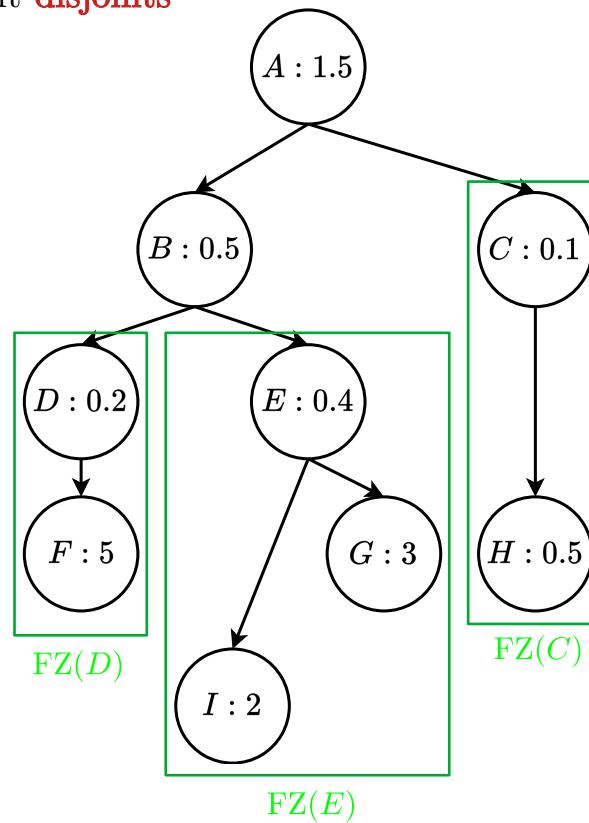
$$Q = \{E, I, G\}$$

$$C_i = \{C, D, E\}$$

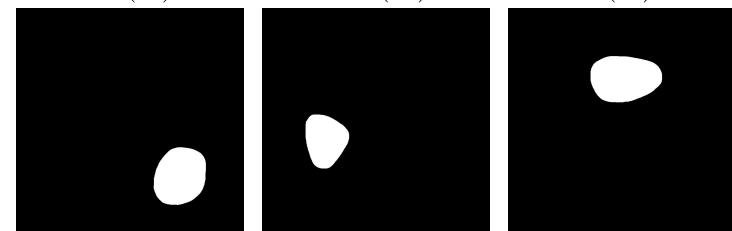
Sortie

$$C_i = \{C, D, E\}$$

$$G_i = (V_i, E_i)$$

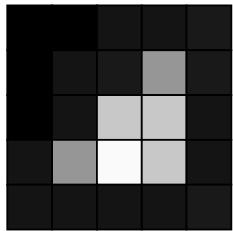


f_i
FZ(C) FZ(D) FZ(E)



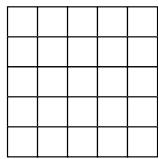
II – Calcul des hiérarchies locales

f_i

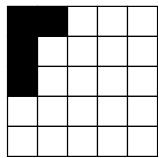


0	0	20	20	25
0	20	25	150	25
0	20	200	200	20
20	150	250	200	20
20	20	20	20	25

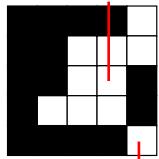
A



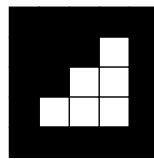
B



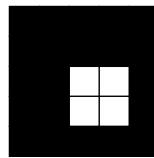
C



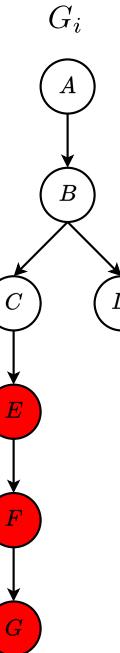
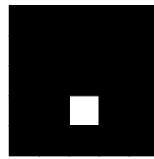
E



F

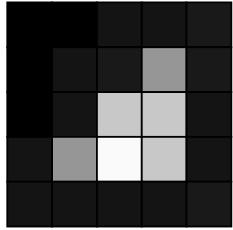


G

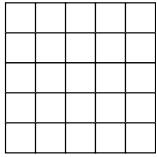


II – Calcul des hiérarchies locales

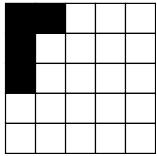
f_i



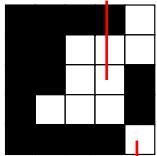
A



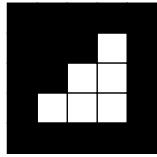
B



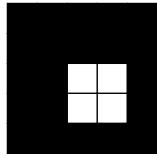
C



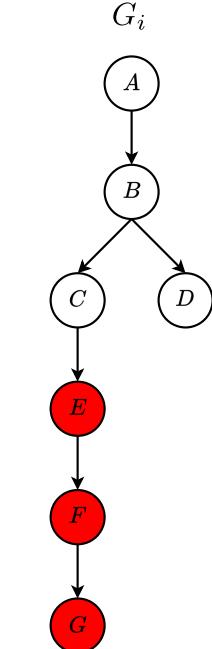
E



F



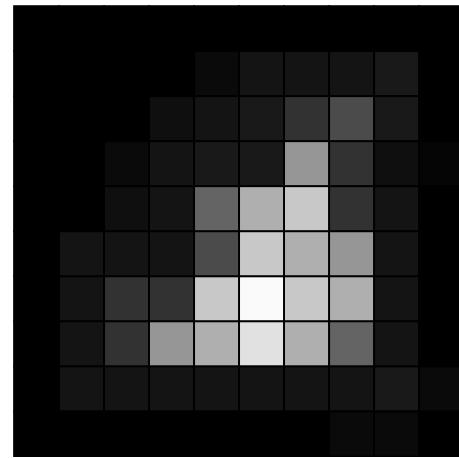
G



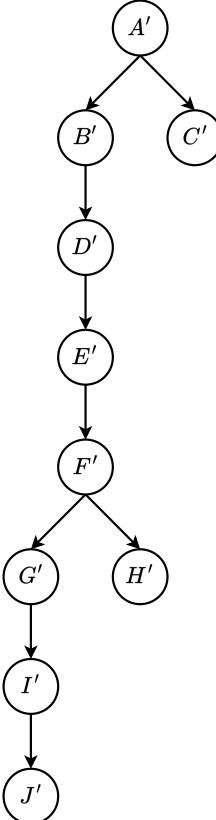
f_{i-1}

0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	20	25	150	20	25					
0	20	200	200	20						
20	150	250	200	20						
20	20	20	20	20	25					

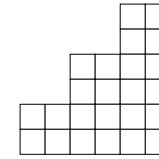
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	10	20	20	20	25	0	
0	0	0	15	20	25	50	75	25	0	
0	0	10	20	25	25	150	50	15	5	
0	0	15	20	100	175	200	50	20	0	
0	20	20	20	75	200	175	150	20	0	
0	20	50	50	200	250	200	175	20	0	
0	20	50	150	175	225	175	100	20	0	
0	20	20	20	20	20	20	20	25	10	
0	0	0	0	0	0	0	10	10	0	



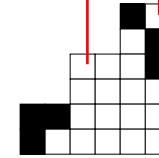
max-tree partiel
 $G_{i-1}(E)$ construit sur $f_{i-1} \cap \text{FZ}(E)$



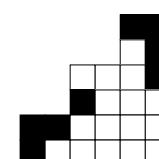
A'



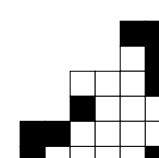
B'



D'

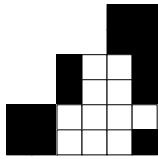


E'

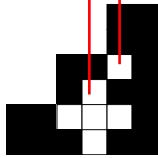


J'

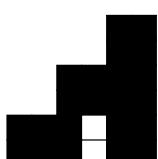
F'



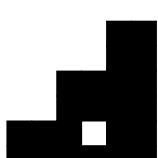
G'



H'

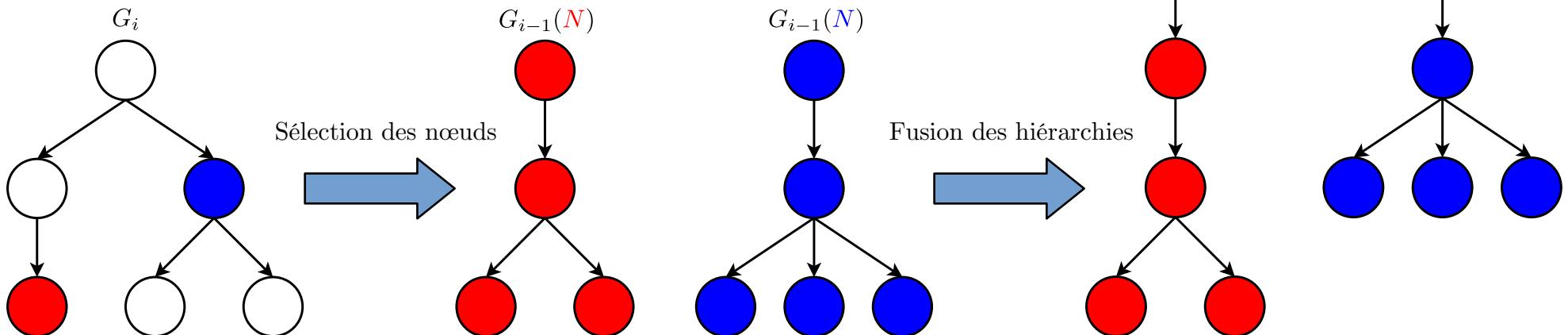


I'



II – Fusion des hiérarchies

- Deux opérations sur les nœuds :
- **remplacement**
- **fusion ou insertion**
- **MSCT totalement enrichi** après $k-1$ étapes d'enrichissement

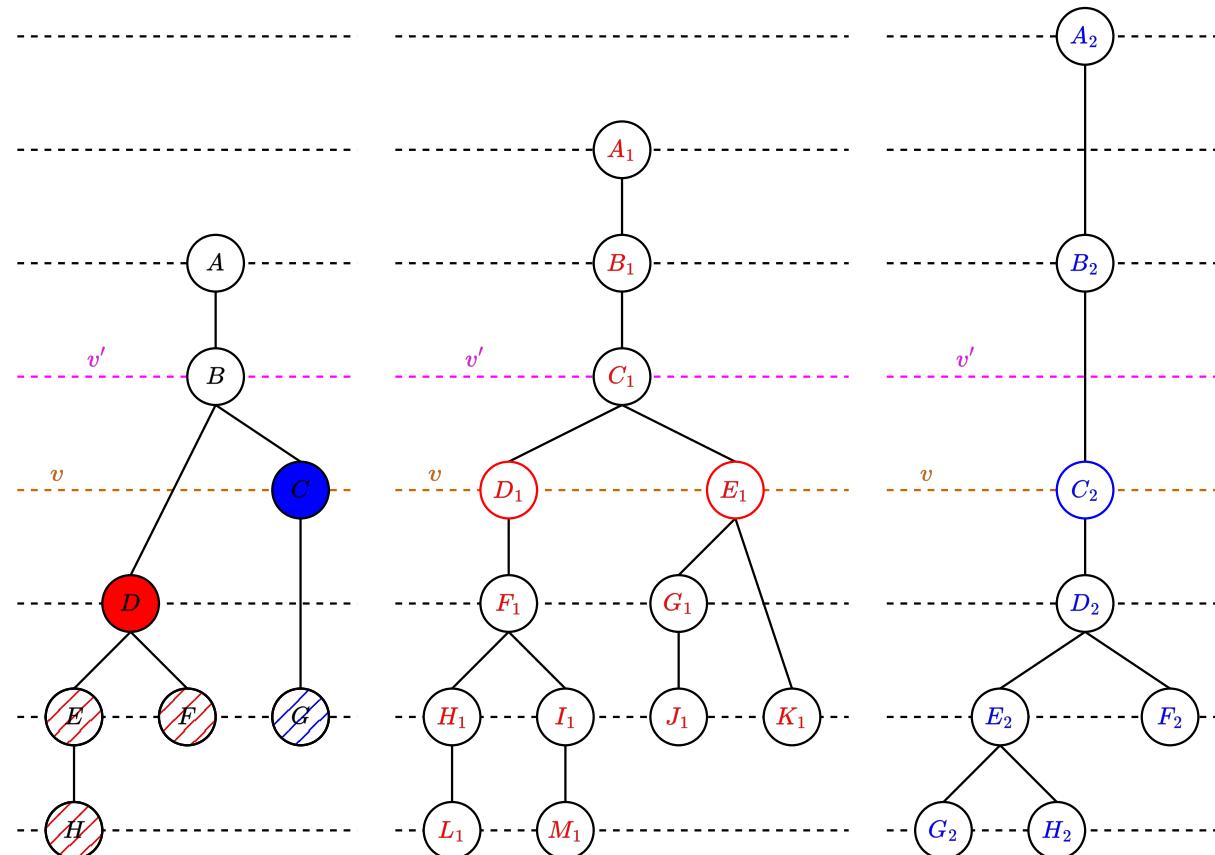


II – Fusion des hiérarchies

G_i

$G_{i-1}(D)$

$G_{i-1}(C)$

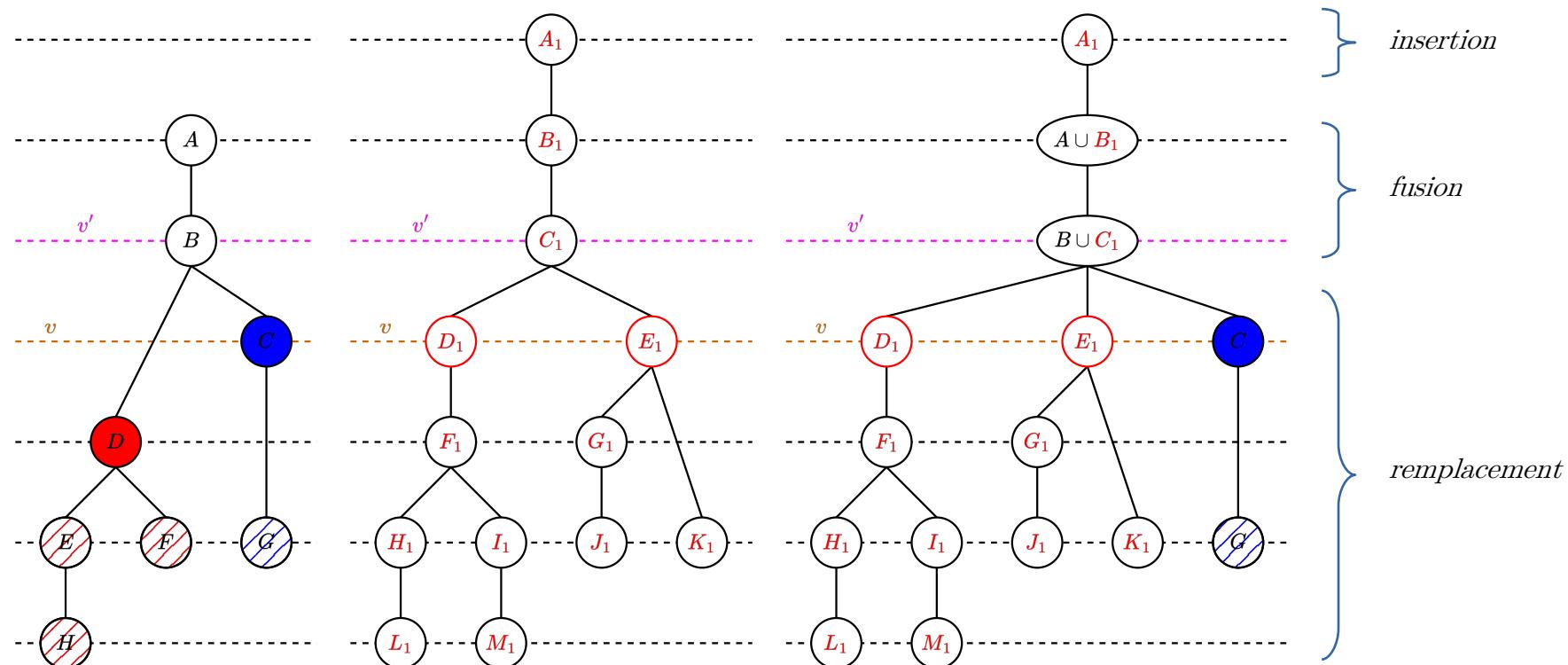


II – Fusion des hiérarchies

G_i

$G_{i-1}(D)$

$G_i \cup G_{i-1}(D)$

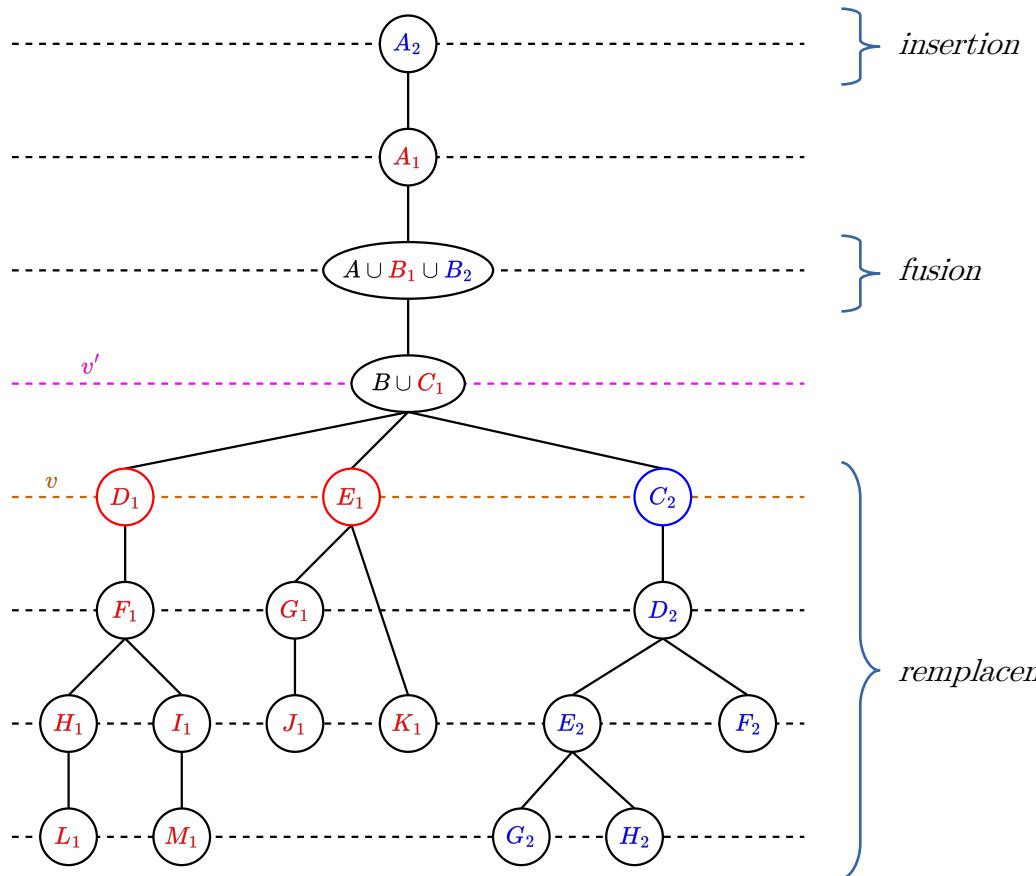
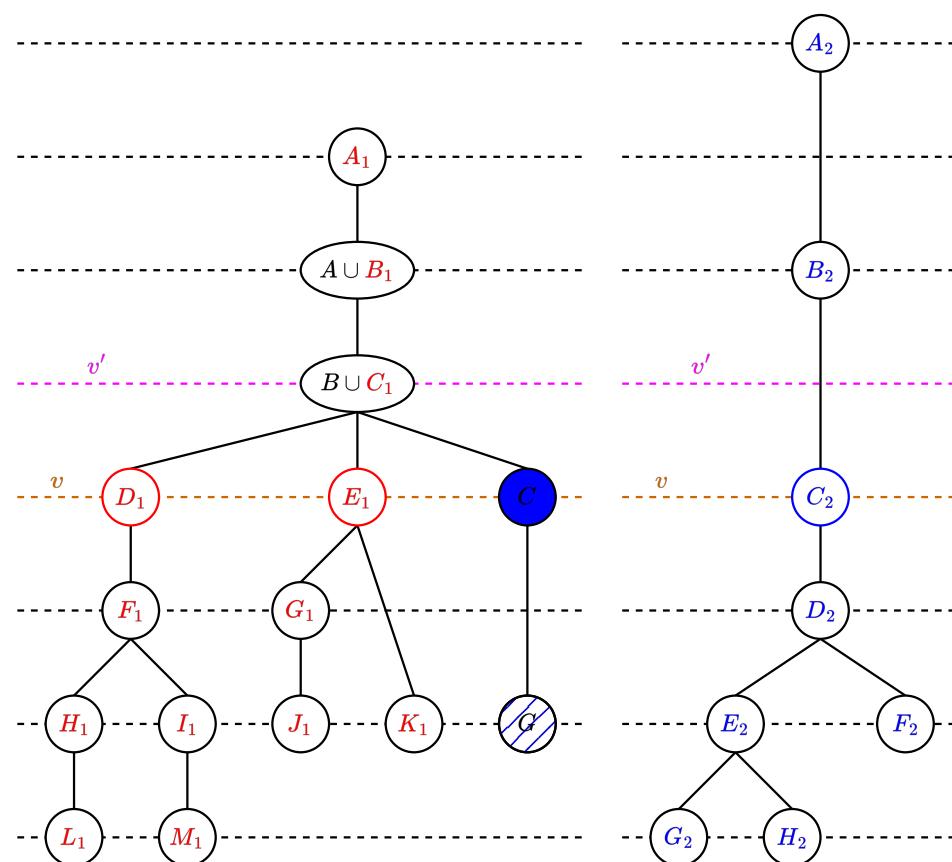


II – Fusion des hiérarchies

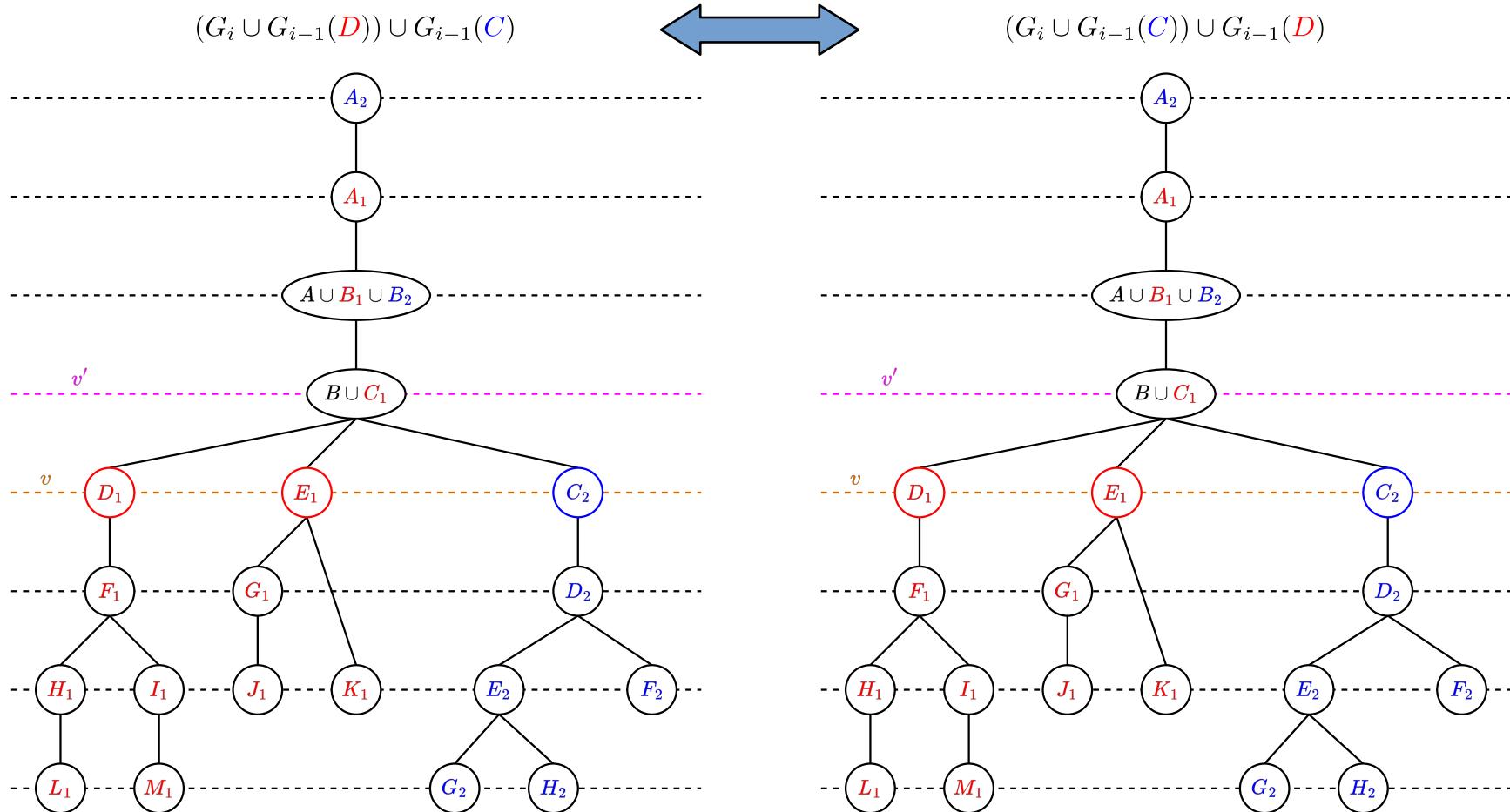
$G_i \cup G_{i-1}(D)$

$G_{i-1}(C)$

$G_i \cup G_{i-1}(D) \cup G_{i-1}(C)$



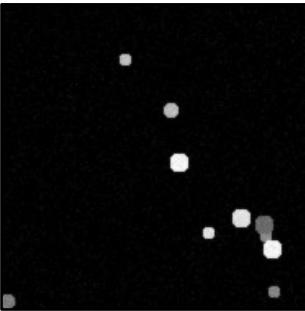
II – Fusion des hiérarchies



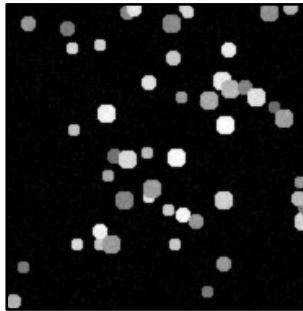
II – Performances temporelles

- Mesures temporelles à l'aide d'images synthétiques en comparant construction de MSCT et de *max-tree*.

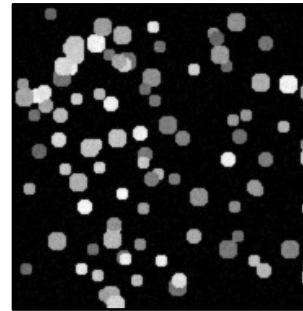
10 objets



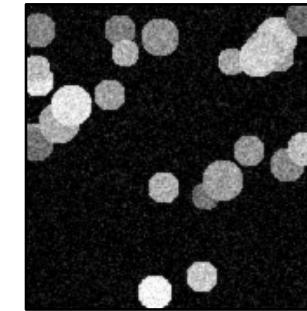
50 objets



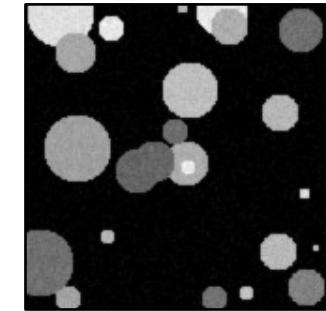
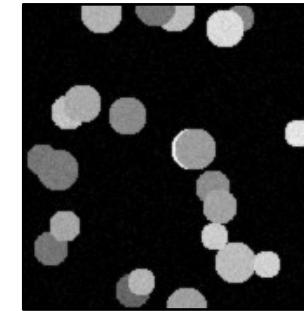
100 objets



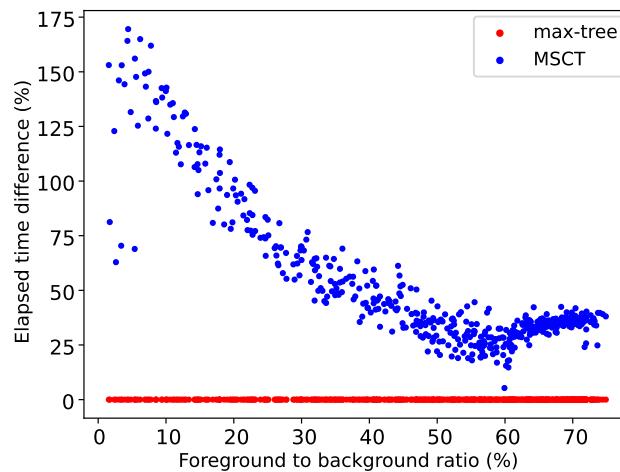
Bruit



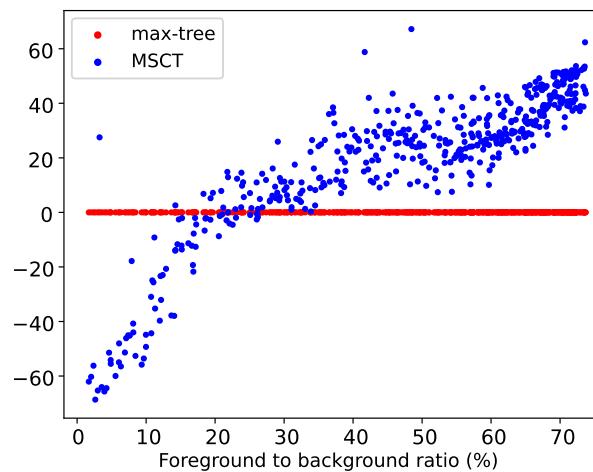
Variations du rayon



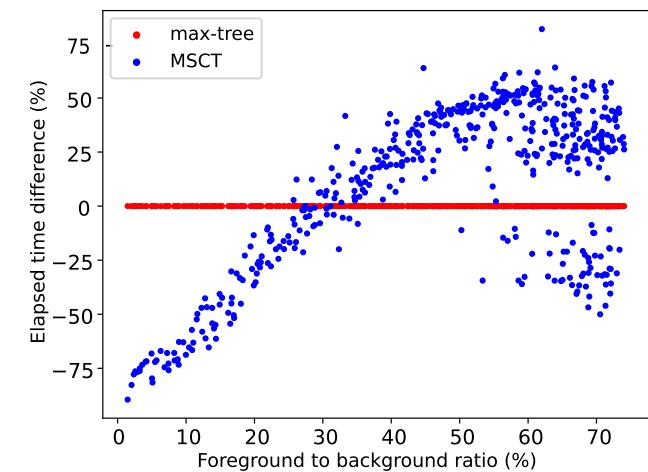
$k = 2$



$k = 3$



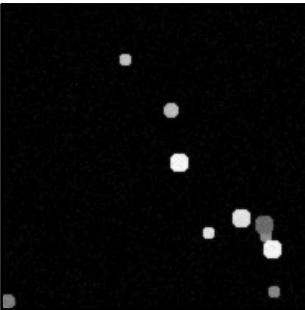
$k = 4$



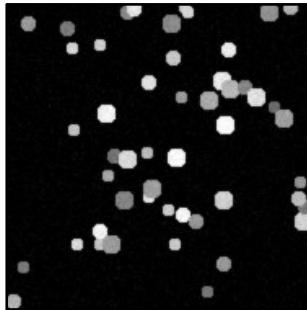
II – Performances spatiales

- Mesures spatiales à l'aide d'images synthétiques en comparant construction de MSCT et de *max-tree*.

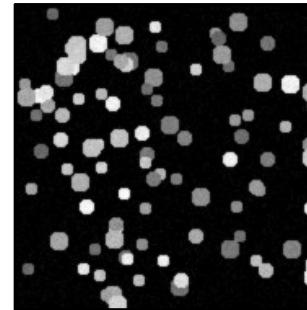
10 objets



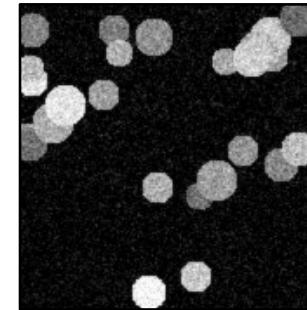
50 objets



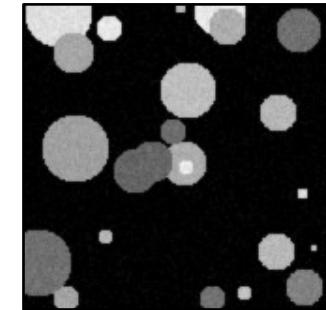
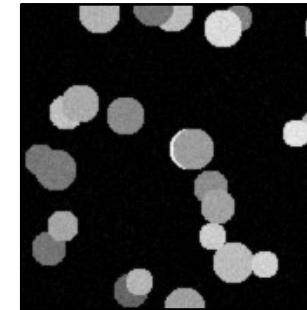
100 objets



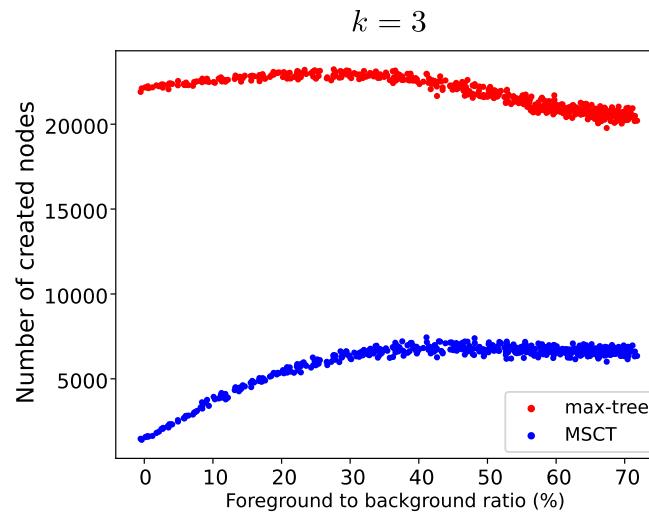
Bruit



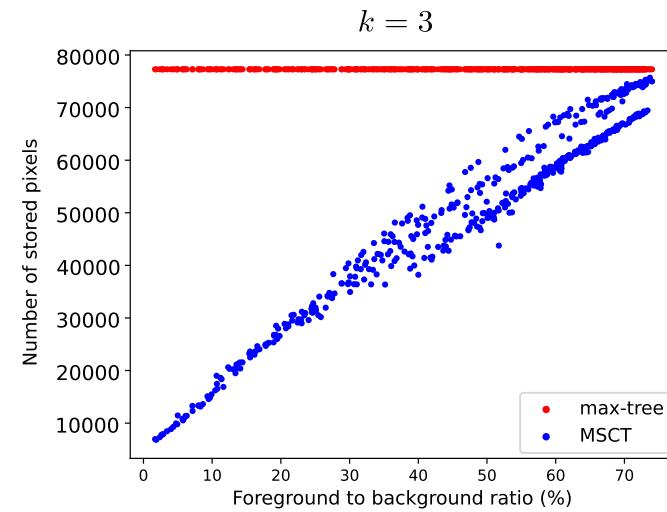
Variations du rayon



$k = 3$



$k = 3$



II – Conclusions et perspectives

- Arbre des coupes multi-échelles (MSCT)
 - ✓ Modélisations de la **nature multi-échelles des objets** sur le modèle de l'**arbre des coupes**
 - ✓ Modélisation de la **nature multi-échelles de l'image** sur le plan **spatial**
 - ✓ Applications en **segmentation** de manière analogue à un *max-tree* et/ou *min-tree*
 - ✓ Possibilité d'employer l'**arbre des formes** plutôt que l'arbre des coupes.
 - ✓ Possibles extensions aux **images multivaluées** via le graphe des coupes et/ou l'arbre des coupes multivalué

III – MSCT et segmentation histologique

- Segmentation d'images histologiques classiques (IHC)

Algorithme de segmentation

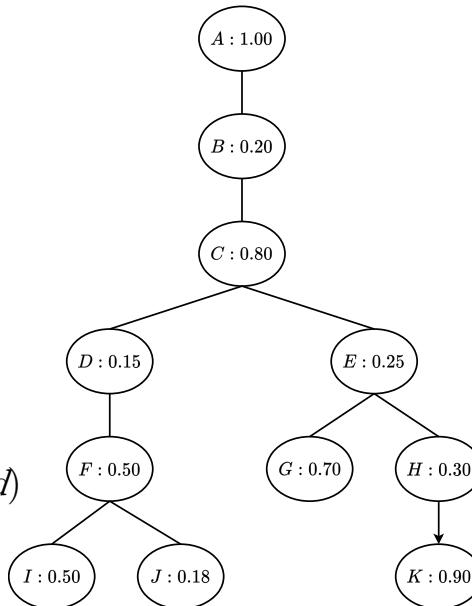
Sélectionner des nœuds d'intérêt

Pour chaque sous-arbre sélectionné

Simplifier le sous-arbre

Filtrer les nœuds (critère MSER)

Segmenter en cellules individuelles (*watershed*)



III – MSCT et segmentation histologique

- Segmentation d'images histologiques classiques (IHC)

Algorithme de segmentation

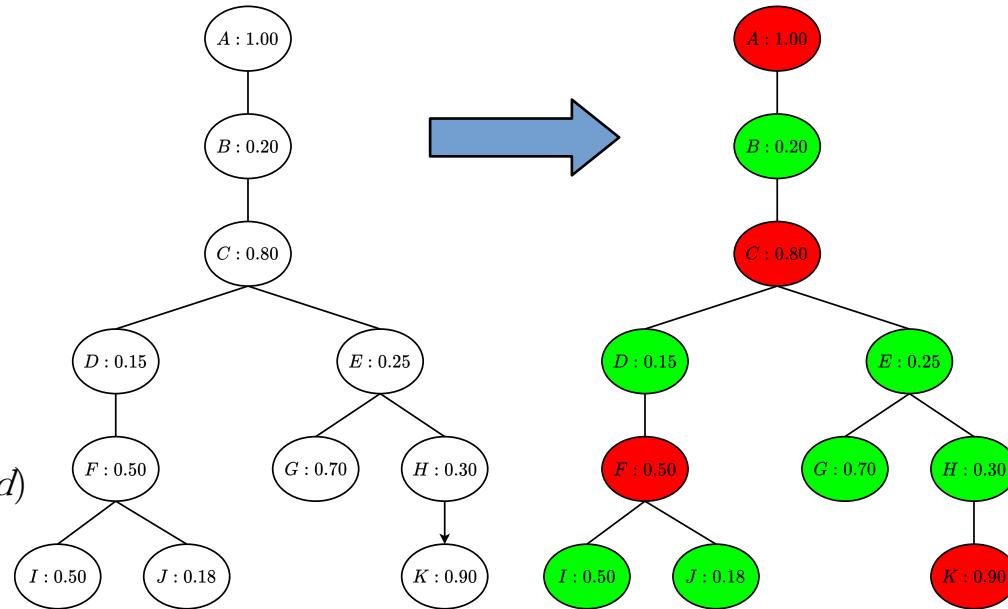
Sélectionner des nœuds d'intérêt

Pour chaque sous-arbre sélectionné

Simplifier le sous-arbre

Filtrer les nœuds (critère MSER)

Segmenter en cellules individuelles (*watershed*)



III – MSCT et segmentation histologique

- Segmentation d'images histologiques classiques (IHC)

Algorithme de segmentation

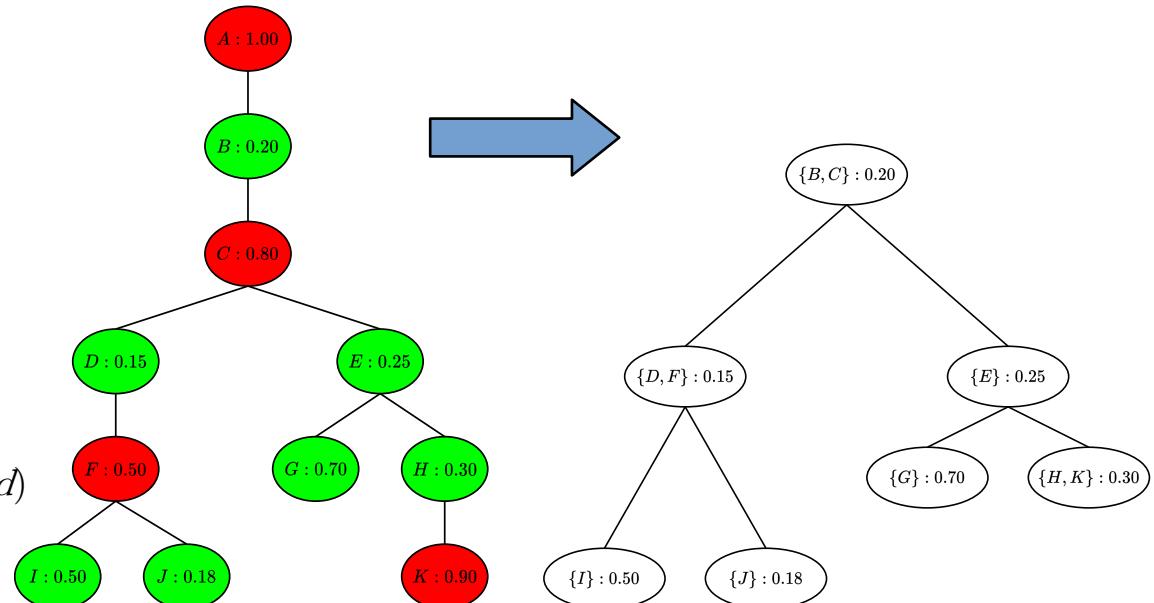
Sélectionner des nœuds d'intérêt

Pour chaque sous-arbre sélectionné

Simplifier le sous-arbre

Filtrer les nœuds (critère MSER)

Segmenter en cellules individuelles (*watershed*)



III – MSCT et segmentation histologique

- Segmentation d'images histologiques classiques (IHC)

$$ConserverNoeud(n, v) = \begin{cases} Vrai, \text{ si } MSER(n) \leq v \wedge \forall n' \in Enfants(n), MSER(n') \leq v \\ Faux, \text{ sinon} \end{cases}$$

Algorithme de segmentation

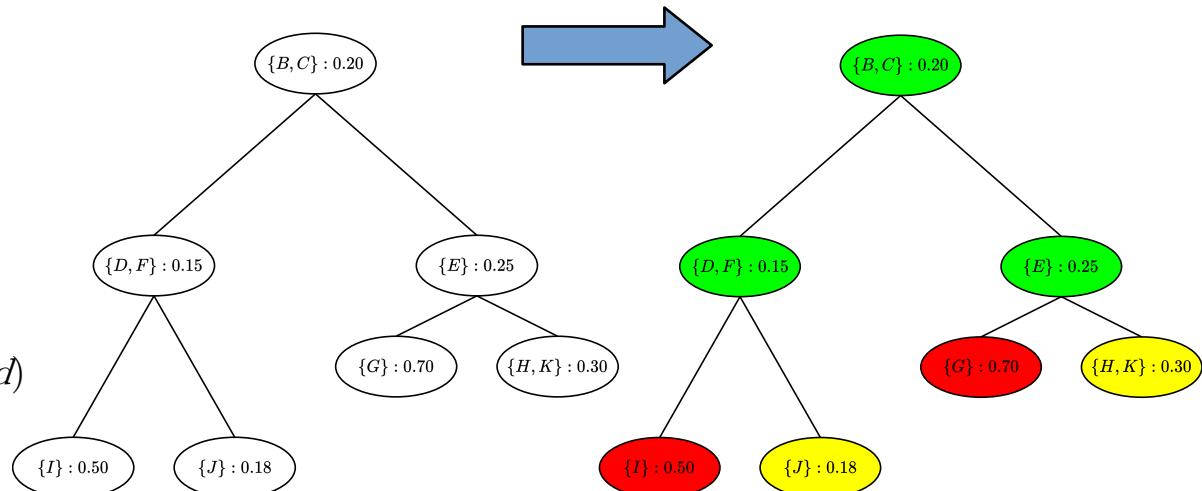
Sélectionner des nœuds d'intérêt

Pour chaque sous-arbre sélectionné

Simplifier le sous-arbre

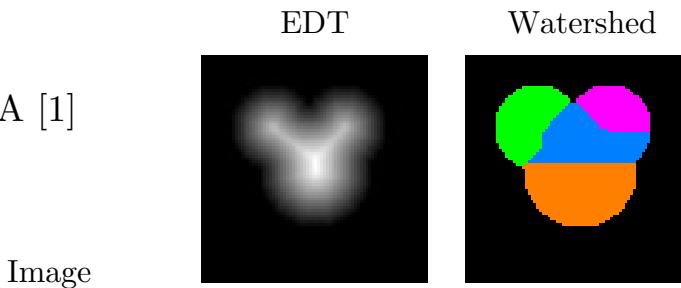
Filtrer les nœuds (critère MSER)

Segmenter en cellules individuelles (*watershed*)



III – MSCT et segmentation histologique

- Segmentation d'images histologiques classiques (IHC)
- Améliorations avec un modèle d'**ajustement d'ellipses** DTECMA [1]



Algorithme de segmentation

Sélectionner des nœuds d'intérêt

Pour chaque sous-arbre sélectionné

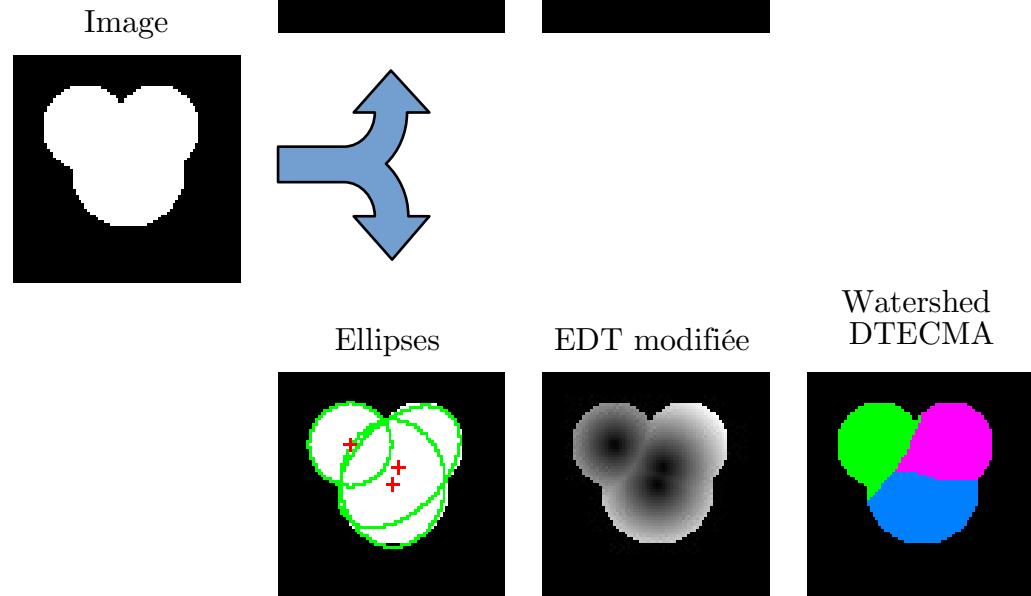
Simplifier le sous-arbre

Filtrer les nœuds (critère MSER)

Ajuster des ellipses sur les zones plates des nœuds

Définir une transformée en distance euclidienne

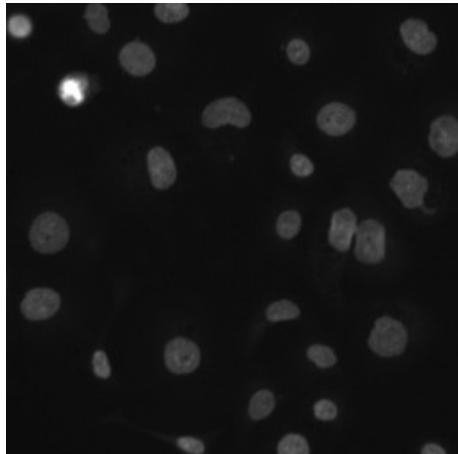
Segmenter en cellules individuelles (*watershed*)



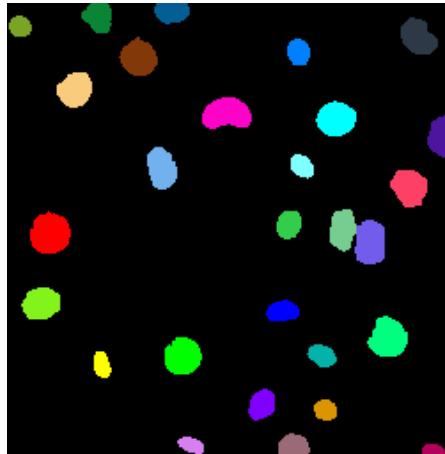
[1] Tong Zou et al. "Recognition of overlapping elliptical objects in a binary image". In : Pattern Analysis and Applications 24.3 (2021), p. 1193-1206. issn : 1433-755X.

III – Segmentation sur KAGGLE

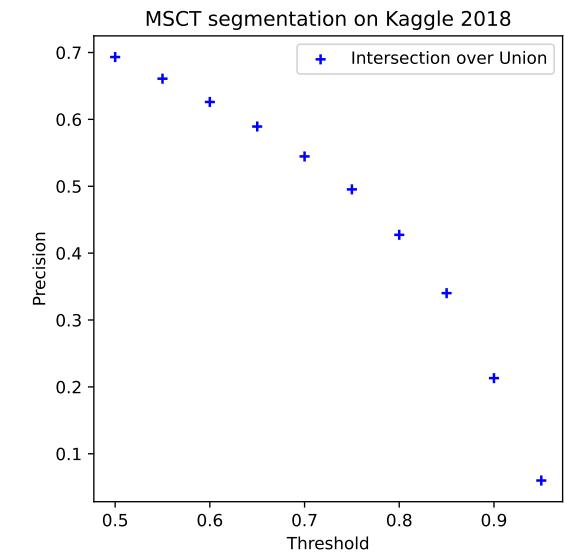
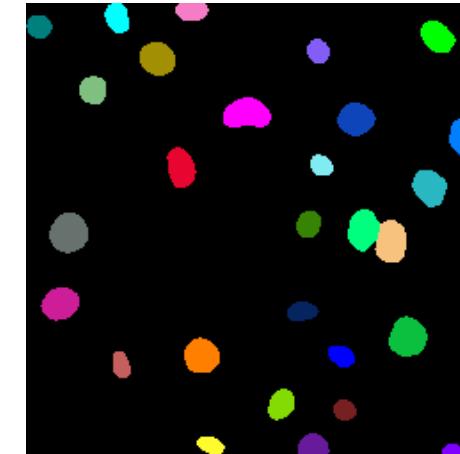
Images KAGGLE



Annotations KAGGLE



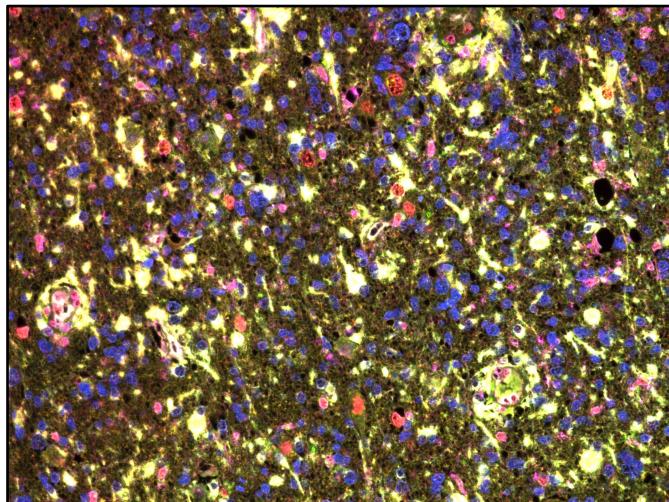
Segmentations MSCT



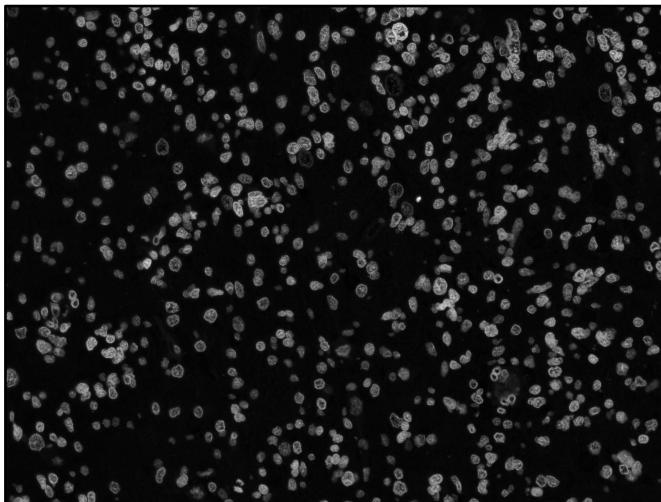
III – MSCT et classification histologique multiplex

- Segmentation d'images histologiques **multiplex** et classification des noyaux.
- Segmentation à partir du MSCT construit sur le canal générique **DAPI**.

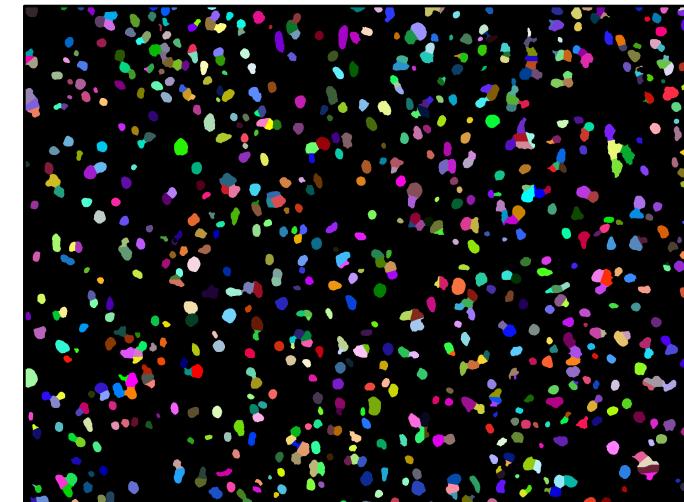
Image composite MI*EDGE



Canal DAPI

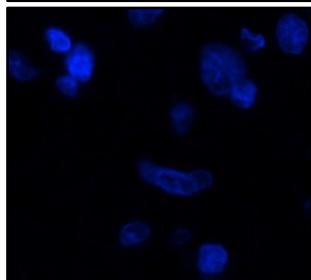
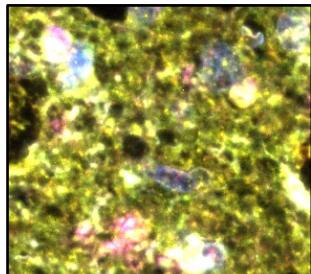


Segmentation MSCT

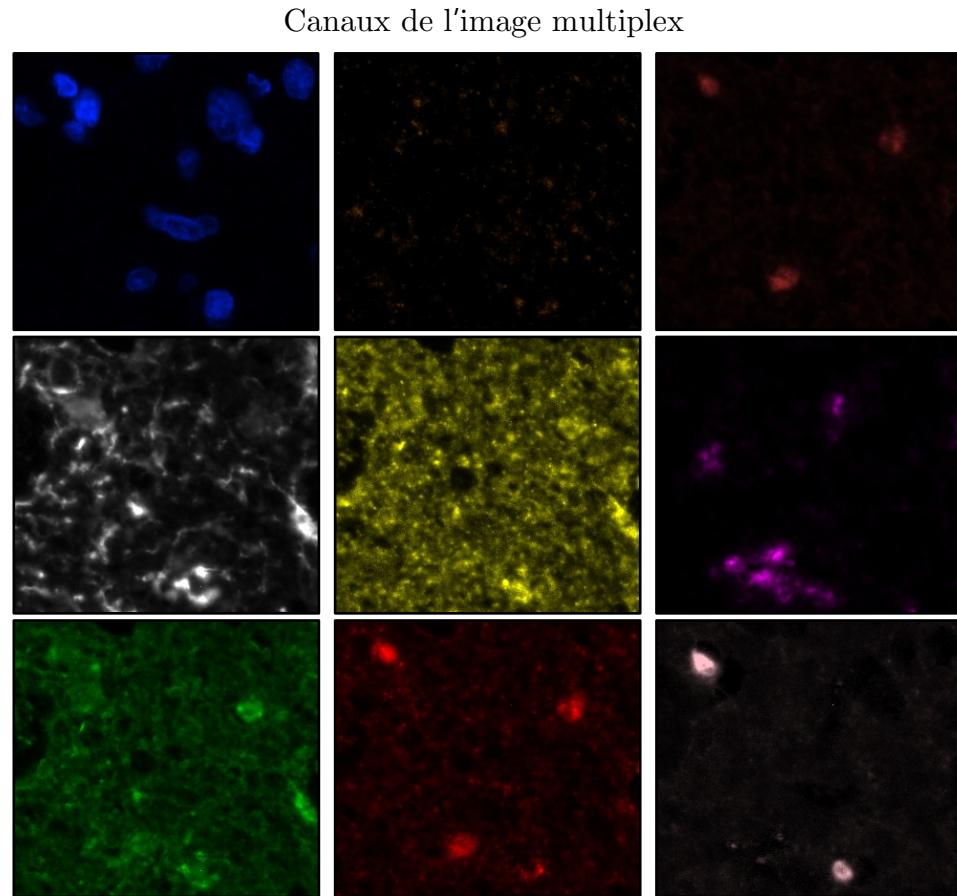
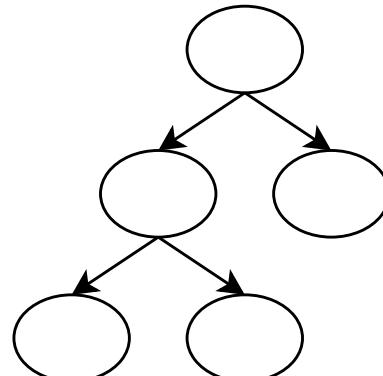


III – MSCT et classification histologique multiplex

- Segmentation des noyaux avec le **MSCT** depuis le canal **DAPI**.

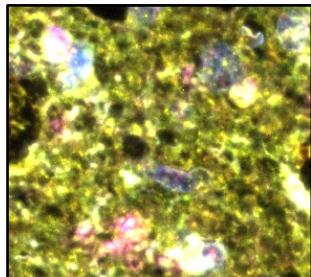


Construction du MSCT
sur le canal DAPI

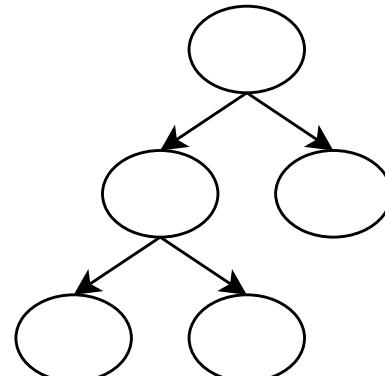


III – MSCT et classification histologique multiplex

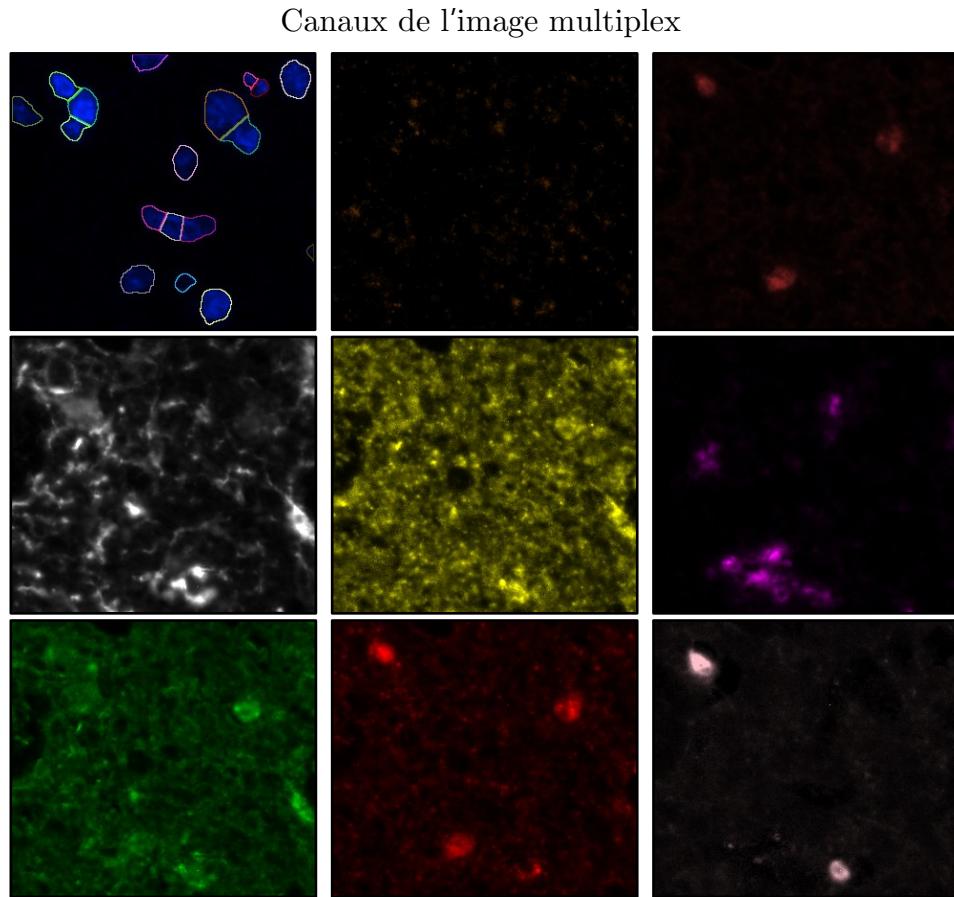
- Segmentation des noyaux avec le **MSCT** depuis le canal **DAPI**.



Construction du MSCT
sur le canal DAPI

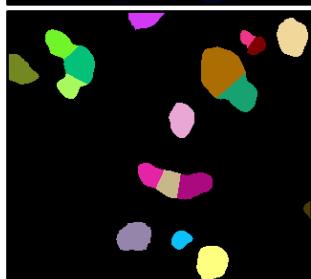
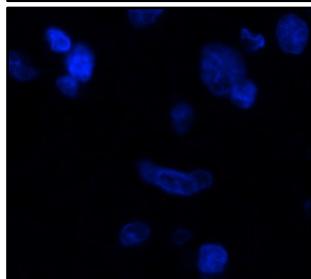
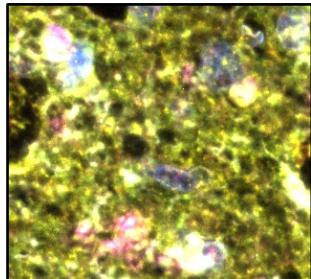


Segmentation depuis le MSCT

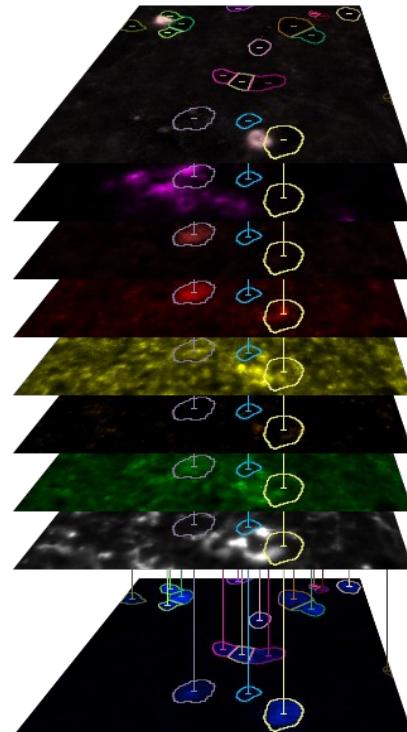


III – MSCT et classification histologique multiplex

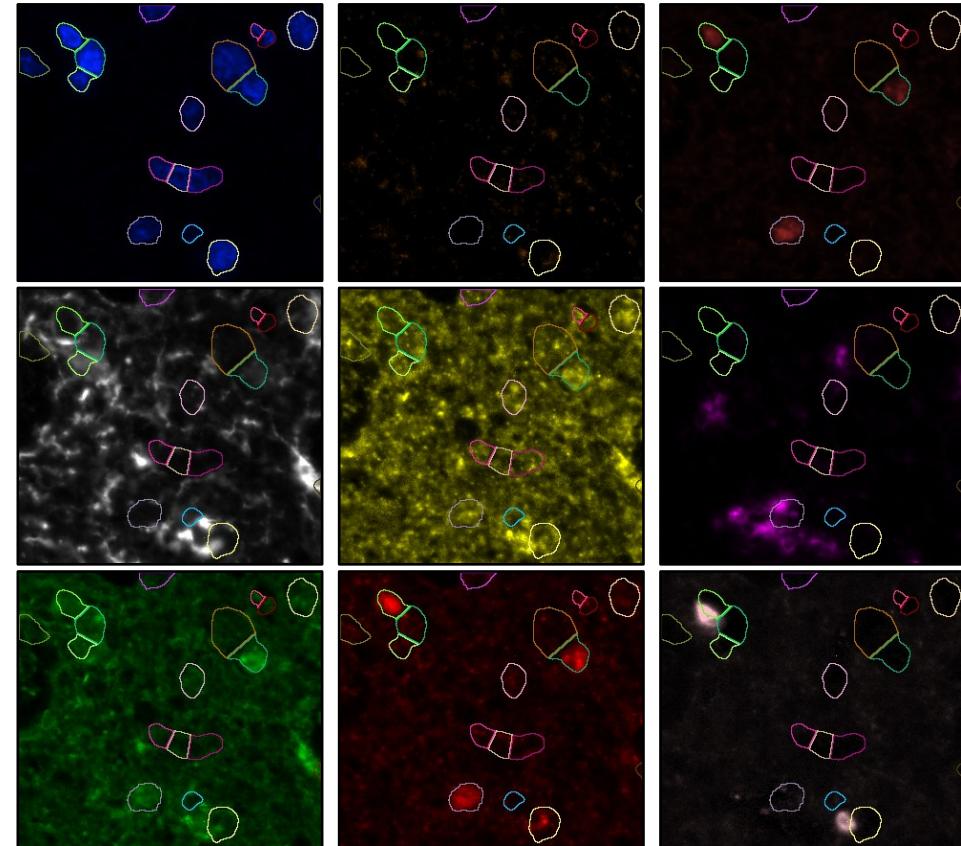
- Définition des **vecteurs de caractéristiques** sur les noyaux segmentés.



$$c_i = \left[\sum_p f^j(p) \mid p \in s_i \right]_{j=1}^k$$



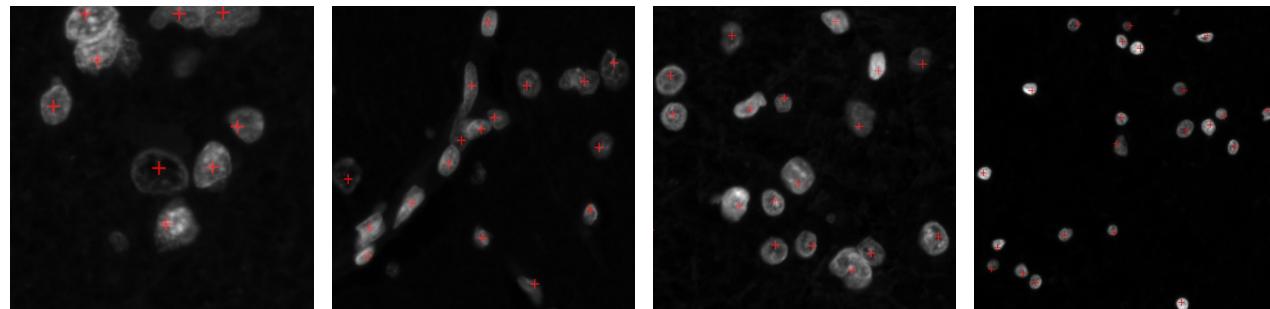
Canaux de l'image multiplex



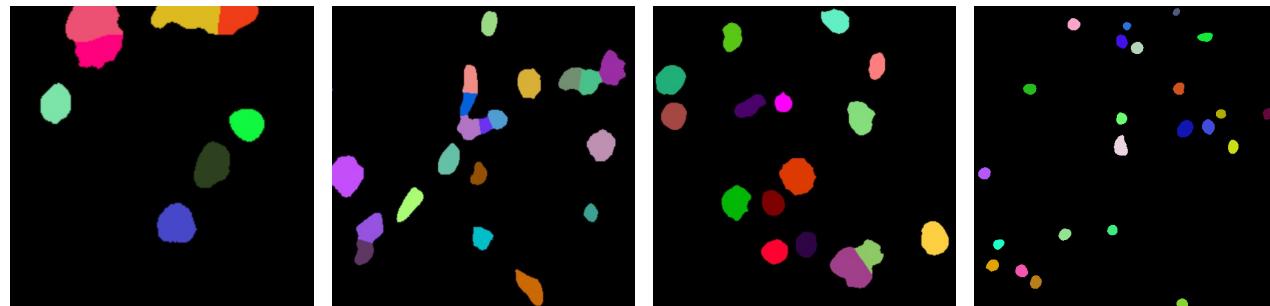
III – Résultats de classification sur MI*EDGE

- Classification sur des images multiplex (MI*EDGE), $k=3$.
- Annotations $n=30753$, $TP=18494$, $FP=6453$, $FN=5802$, **précision=0.757, rappel=0.815**

Canal DAPI avec annotations ponctuelles

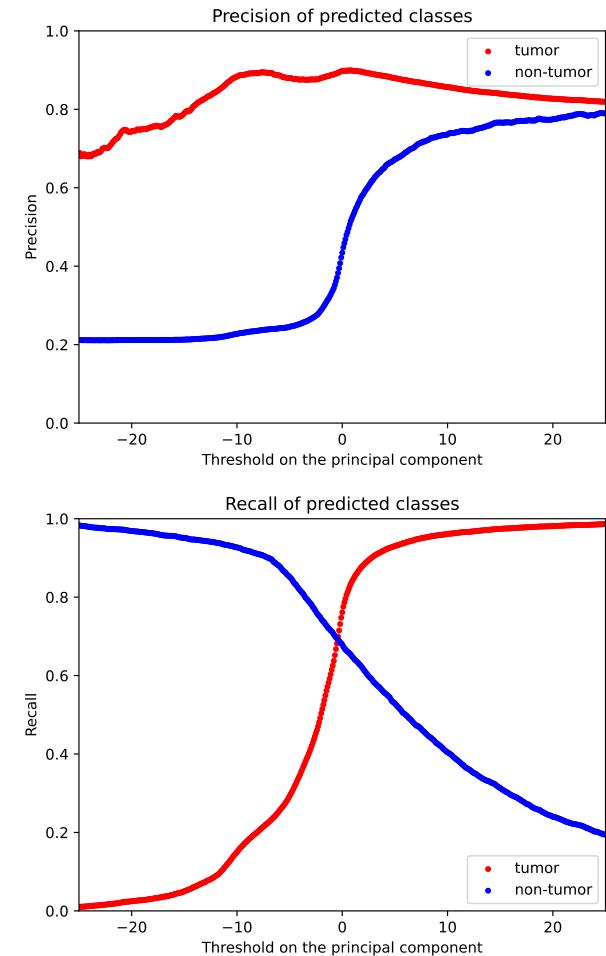
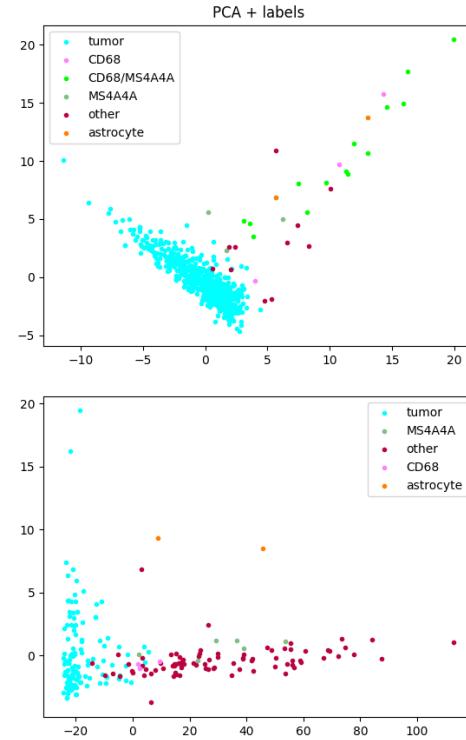
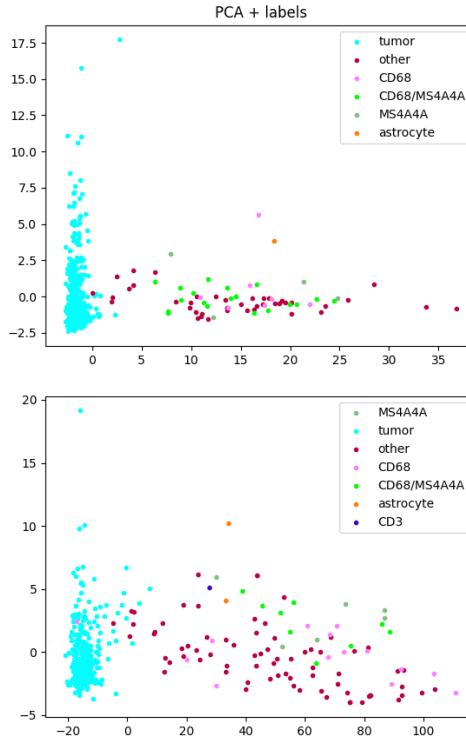


Segmentations MSCT après watershed DTECMA



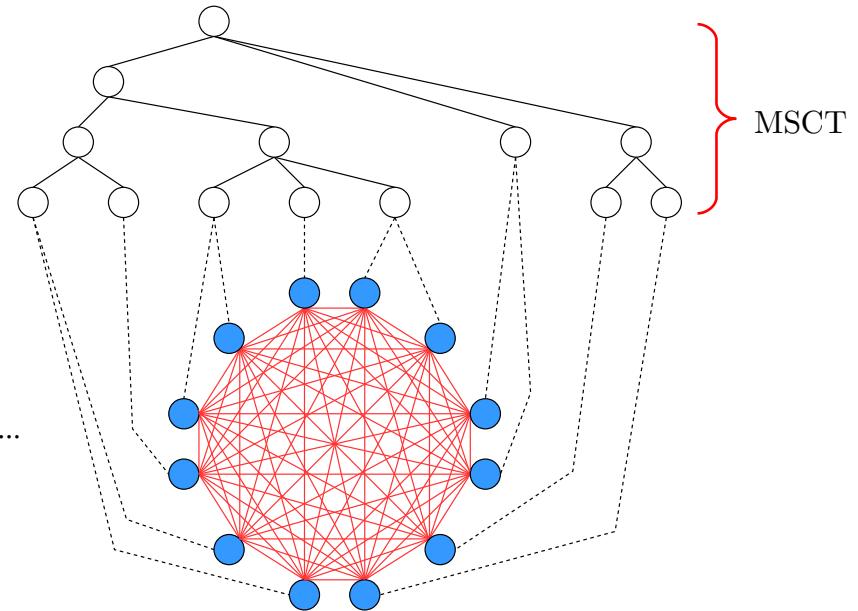
III – Résultats de classification sur MI*EDGE

- Classification sur des images multiplex (MI*EDGE), $k=3$.
- Mise en place d'un **classificateur binaire** (cellule tumorale/non tumorale).



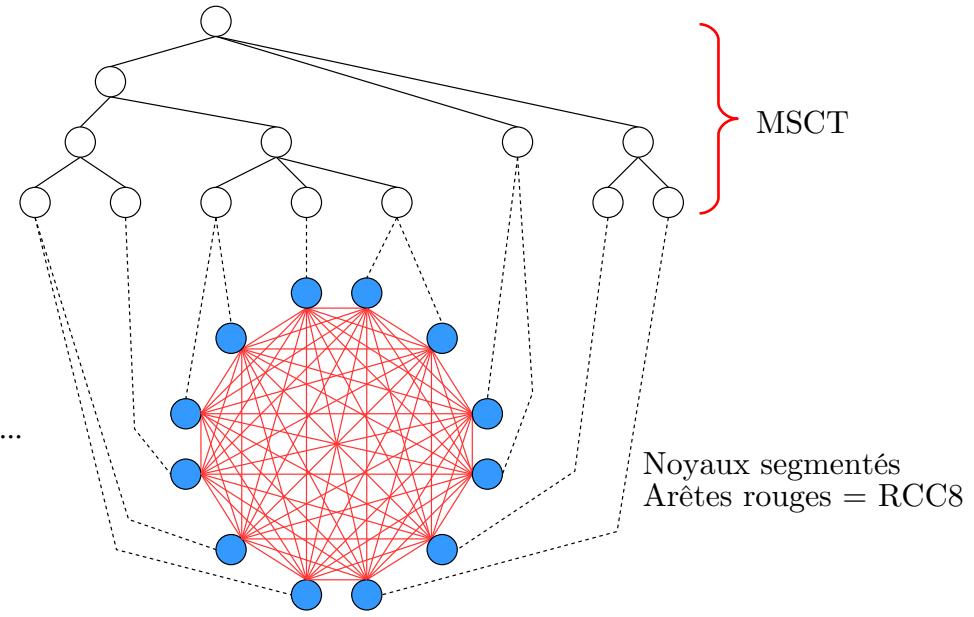
III – Définition d'un graphe du MET

- Graphe représentant le **micro-environnement tumoral** (MET).
 - ✓ Noyaux segmentés à partir du MSCT
 - ✓ Noyaux classés au moyen des **vecteurs de caractéristiques**
 - ✓ Noeuds = noyaux segmentés.
 - ✓ Arêtes = critère(s) de distance, k-voisinage, triangulation de Delaunay...



III – Définition d'un graphe du MET

- Graphe représentant le **micro-environnement tumoral** (MET).
 - ✓ Noyaux segmentés à partir du MSCT
 - ✓ Noyaux classés au moyen des **vecteurs de caractéristiques**
 - ✓ Noeuds = noyaux segmentés.
 - ✓ Arêtes = critère(s) de distance, k-voisinage, triangulation de Delaunay...
- Introduction des **Region Connected Calculus** (RCC8)



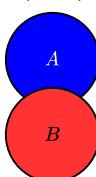
Disconnected
(DC)



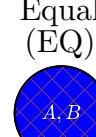
Externally connected
(EC)



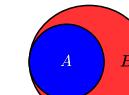
Partially overlapping
(PO)



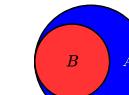
Equal
(EQ)



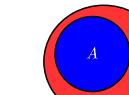
Tangential proper part
(TPP)



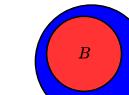
Tangential proper part inverse
(TPPi)



Non-tangential proper part
(NTPP)

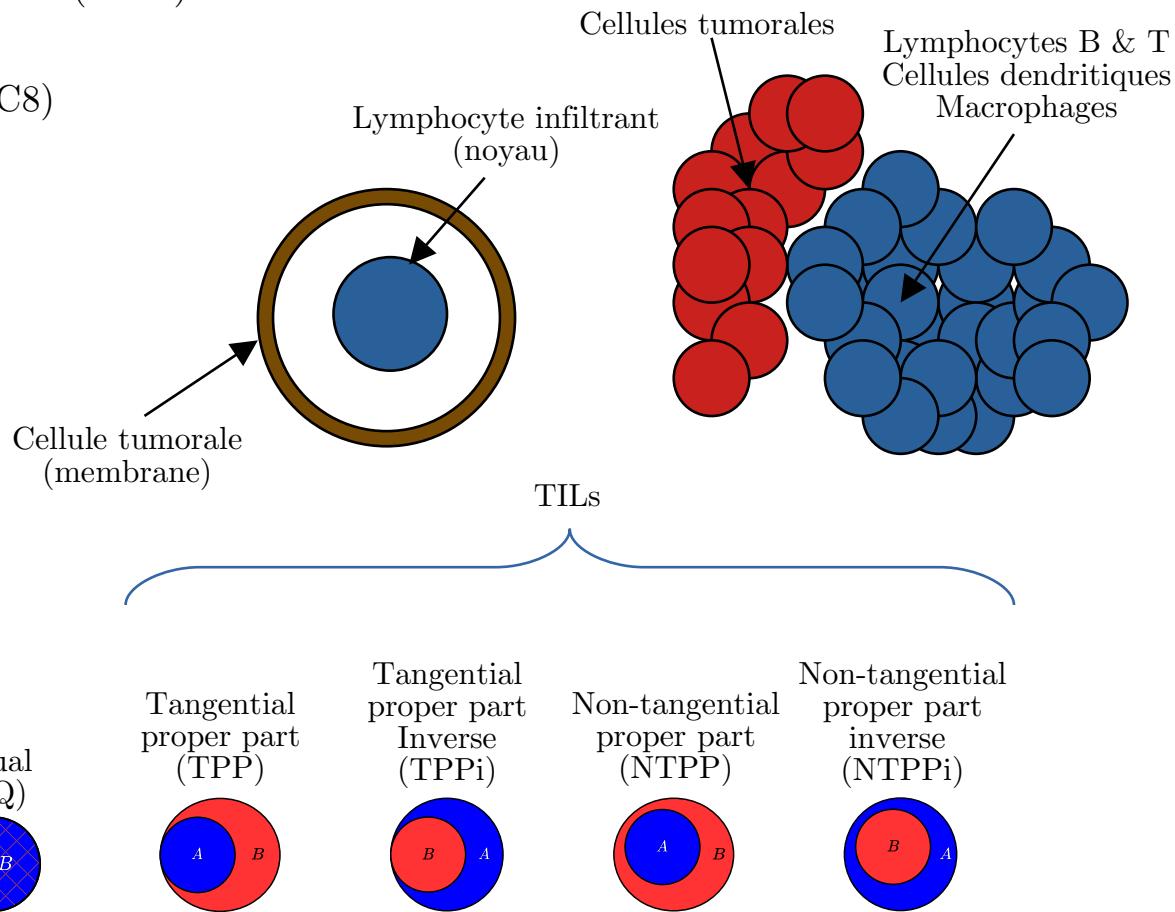
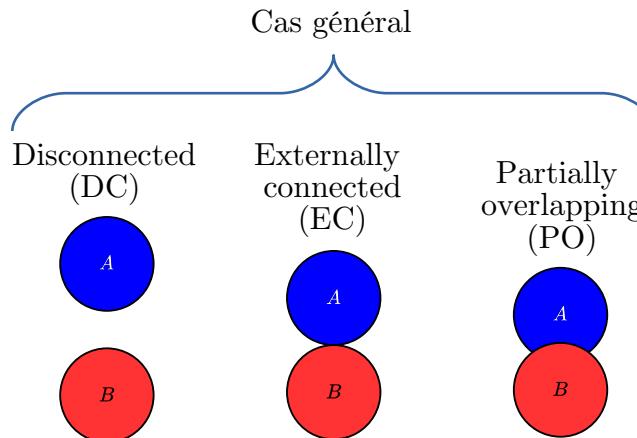


Non-tangential proper part inverse
(NTPPi)



III – Définition d'un graphe du MET

- Graphe représentant le **micro-environnement tumoral** (MET).
- Introduction des **Region Connected Calculus** (RCC8)
 - Détection des **TILs** (lymphocytes infiltrant la tumeur)
 - Détection de **TLO** (objets lymphoïdes tertiaires)



IV – Conclusions

- **Apports scientifiques**

- ✓ Définition de l'**arbre des coupes multi-échelles** ou **MSCT** (Perrin et al., DGMM 2024)
- ✓ Définition d'un **immunoscore** morphologique/QuPath
- ✓ **Segmentation** cellulaire en histologie classique à partir du MSCT (Perrin et al., DGMM 2024)
- ✓ **Segmentation** cellulaire et **classification** en histologie **multiplex** à partir du **MSCT** (Perrin et al., ISBI 2024)
- ✓ Proposition de **graphe** représentatif du micro-environnement tumoral

Perrin, R., Leborgne, A., Passat, N., Naegel, B., Wemmert, C. (2024). Multi-scale Component-Tree: A Hierarchical Representation for Sparse Objects. In: Brunetti, S., Frosini, A., Rinaldi, S. (eds) Discrete Geometry and Mathematical Morphology. DGMM 2024. Lecture Notes in Computer Science, vol 14605. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-57793-2_24

R. Perrin, A. Leborgne, N. Passat, B. Naegel and C. Wemmert, "Multi-Scale Component-Trees for Enhanced Representation in Multiplex Immunohistochemistry Imaging," 2024 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI), Athens, Greece, 2024, pp. 1-5, doi: 10.1109/ISBI56570.2024.10635272.

IV – Perspectives

- Extensions du MSCT
 - ✓ **Reproduction de la méthodologie** avec un *min-tree*, un ToS, un α -arbre ou (ω) -arbre
 - ✓ Extension aux images **multivaluées** (graphe des coupes, arbre des coupes multivaluées...)
- Optimisations et implémentation
 - ✓ **Parallélisation** des calculs (calcul des hiérarchies locales, fusion des hiérarchies)
 - ✓ Implémentation sous **Higra/LibTIM** pour diffusion
- **Vecteurs de caractéristiques** plus riches, mise en place d'un **classificateur multi-classes**
- Graphe du MET à implémenter
- **Immunoscore** et étude HUS : publication à venir

Merci pour votre attention



Annexe – Algorithme de sélection des nœuds d'intérêt

Algorithme 1 : Sélection des nœuds du MSCT.

Données : $G_i = (V_i, E_i)$ Arbre des coupes multi-échelles de f_i

Résultat : $C_i \subset V_i$ Racines de sous-arbres disjoints de G

```
1 début
2    $C_i \leftarrow \emptyset$ 
3    $Q \leftarrow \{v \in V_i \mid \forall a, b \in V_i, \text{MSER}(a) \leq \text{MSER}(b)\}$ 
4   tant que  $|Q| > 0$  faire
5      $v \leftarrow \text{RetirerTête}(Q)$ 
6      $C_i \leftarrow C_i \cup \{v\}$ 
7      $A_v \leftarrow \text{Ancêtres}(G_i, v)$ 
8      $D_v \leftarrow \text{Descendants}(G_i, v)$ 
9      $Q \leftarrow Q \setminus \{A_v \cup D_v\}$ 
10   fin
11 fin
```

Annexe – Algorithme de quantification cellulaire

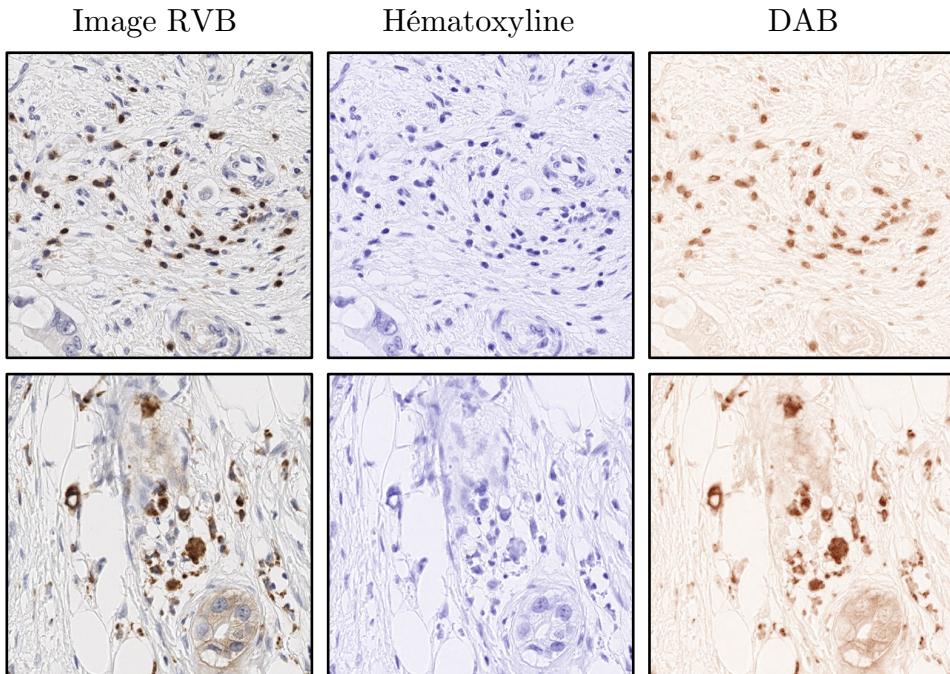
Algorithme 1 : Algorithme de quantification nucléique

Données : I image rvb, α seuil d'absorbance maximale pour l'hématoxyline, ρ_1 rayon de l'élément structurant (en pixels), ρ_2 rayon moyen des noyaux (en microns), \mathcal{A}_{\min} aire minimale des noyaux (en pixels), r résolution pixellaire de I (en micron par pixel)

Résultat : \mathcal{N}_I^\sim estimation du nombre de noyaux positifs au sein de I

```
1 début
2    $\mathcal{N}_I^\sim \leftarrow 0$ 
3    $I_{\{\text{H,E,DAB}\}} \leftarrow CD_{\{\text{H,E,DAB}\}}(I)$ 
4    $I \leftarrow I_{\{\text{H,E,DAB}\}}[2]$ 
5    $I \leftarrow f_\alpha(I)$ 
6    $I \leftarrow g_{\rho_1}(I)$ 
7   pour tous  $c \in CC(I)$  faire
8     si  $\mathcal{A}_c \geq \mathcal{A}_{\min}$  alors
9        $q \leftarrow \left\lfloor \frac{\mathcal{A}_c}{\pi \times (\frac{\rho_2}{r})^2} \right\rfloor$ 
10       $q \leftarrow \max(q, 1)$ 
11    fin
12    sinon
13       $q \leftarrow 0$ 
14    fin
15     $\mathcal{N}_I^\sim \leftarrow \mathcal{N}_I^\sim + q$ 
16  fin
17 fin
```

Déconvolution des couleurs [1]



[1] Arnout C. Ruifrok et Dennis A. Johnston. "Quantification of histochemical staining by color deconvolution." In : Analytical and quantitative cytology and histology 23.4 (2001), p. 291-299.

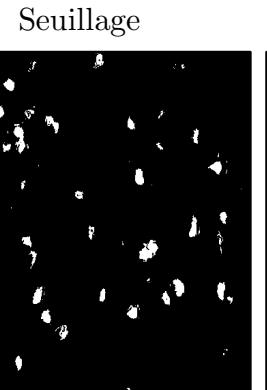
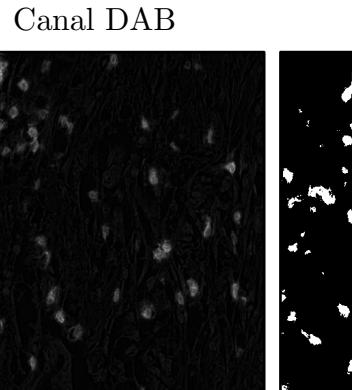
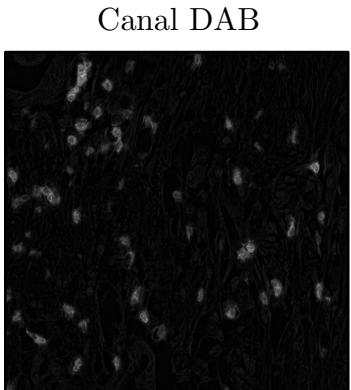
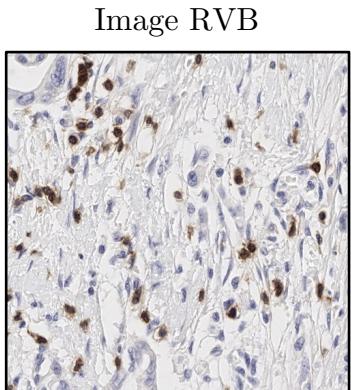
Annexe – Algorithme de quantification cellulaire

Algorithm 1 : Algorithme de quantification nucléique

Données : I image rvb, α seuil d'absorbance maximale pour l'hématoxyline, ρ_1 rayon de l'élément structurant (en pixels), ρ_2 rayon moyen des noyaux (en microns), \mathcal{A}_{\min} aire minimale des noyaux (en pixels), r résolution pixellaire de I (en micron par pixel)

Résultat : \mathcal{N}_I^\sim estimation du nombre de noyaux positifs au sein de I

```
1 début
2    $\mathcal{N}_I^\sim \leftarrow 0$ 
3    $I_{\{\text{H,E,DAB}\}} \leftarrow CD_{\{\text{H,E,DAB}\}}(I)$ 
4    $I \leftarrow I_{\{\text{H,E,DAB}\}}[2]$ 
5    $I \leftarrow f_\alpha(I)$ 
6    $I \leftarrow g_{\rho_1}(I)$ 
7   pour tous  $c \in CC(I)$  faire
8     si  $\mathcal{A}_c \geq \mathcal{A}_{\min}$  alors
9        $q \leftarrow \left\lfloor \frac{\mathcal{A}_c}{\pi \times (\frac{\rho_2}{r})^2} \right\rfloor$ 
10       $q \leftarrow \max(q, 1)$ 
11    fin
12    sinon
13       $q \leftarrow 0$ 
14    fin
15     $\mathcal{N}_I^\sim \leftarrow \mathcal{N}_I^\sim + q$ 
16  fin
17 fin
```



Filtrage morphologique du signal DAB

$$f_\alpha : V \rightarrow \{0, 1\}$$

$$\forall p \in I, \lambda(p) \mapsto \begin{cases} 1 & \text{si } \lambda(p) \geq \alpha \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$$

$$g_{\rho_1}(I) = \gamma_{E_{\rho_1}}(\varphi_{E_{\rho_1}}(I))$$

$$E_{\rho_1} = \{x \in X \mid d(x, O) \leq \rho_1\}$$

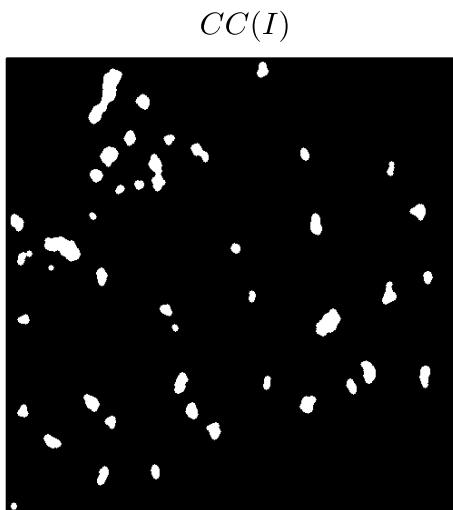
Annexe – Algorithme de quantification cellulaire

Algorithme 1 : Algorithme de quantification nucléique

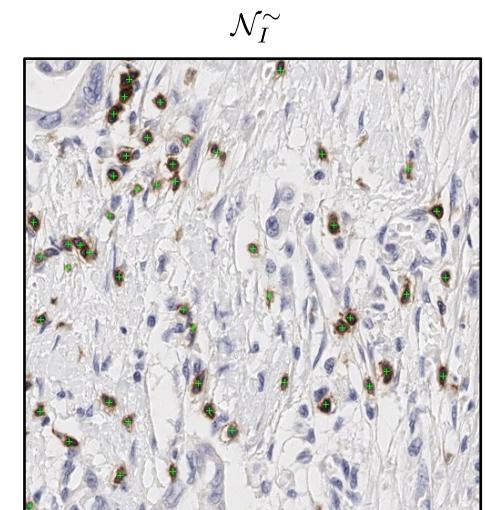
Données : I image rvb, α seuil d'absorbance maximale pour l'hématoxyline, ρ_1 rayon de l'élément structurant (en pixels), ρ_2 rayon moyen des noyaux (en microns), \mathcal{A}_{\min} aire minimale des noyaux (en pixels), r résolution pixellaire de I (en micron par pixel)

Résultat : \mathcal{N}_I^\sim estimation du nombre de noyaux positifs au sein de I

```
1 début
2    $\mathcal{N}_I^\sim \leftarrow 0$ 
3    $I_{\{\text{H,E,DAB}\}} \leftarrow CD_{\{\text{H,E,DAB}\}}(I)$ 
4    $I \leftarrow I_{\{\text{H,E,DAB}\}}[2]$ 
5    $I \leftarrow f_\alpha(I)$ 
6    $I \leftarrow g_{\rho_1}(I)$ 
7   pour tous  $c \in CC(I)$  faire
8     si  $\mathcal{A}_c \geq \mathcal{A}_{\min}$  alors
9        $q \leftarrow \left\lfloor \frac{\mathcal{A}_c}{\pi \times (\frac{\rho_2}{r})^2} \right\rfloor$ 
10       $q \leftarrow \max(q, 1)$ 
11    fin
12    sinon
13       $q \leftarrow 0$ 
14    fin
15     $\mathcal{N}_I^\sim \leftarrow \mathcal{N}_I^\sim + q$ 
16  fin
17 fin
```



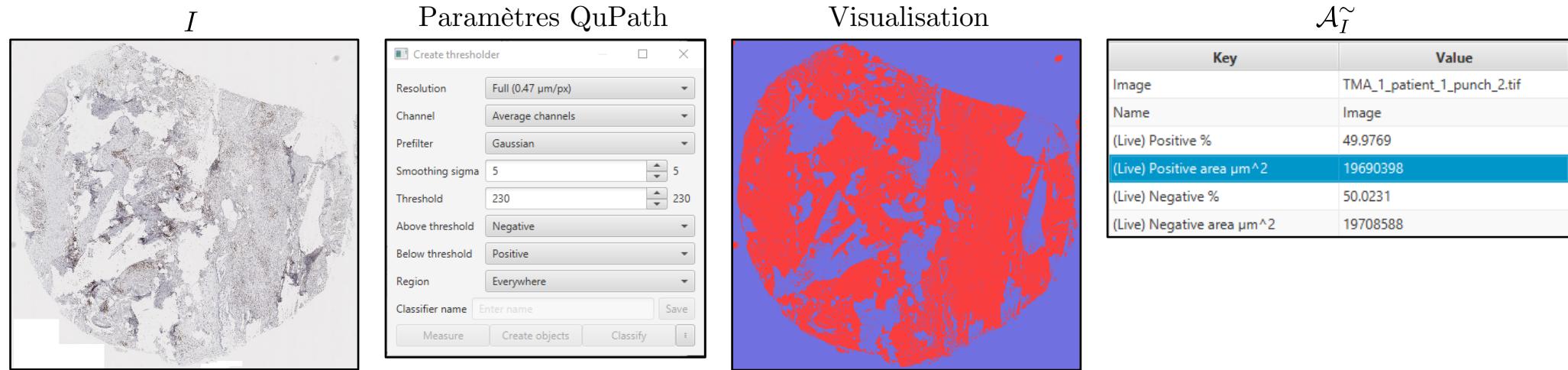
$CC(I)$



\mathcal{N}_I^\sim

Annexe – Estimation de la surface du tissu des punchs

- Estimation surfacique du tissu complet avec QuPath [1].
- Immunoscore : $\mathcal{S}_I^{\sim} = \frac{\mathcal{N}_I^{\sim}}{\mathcal{A}_I^{\sim}}$ avec \mathcal{N}_I^{\sim} la quantification sur I et \mathcal{A}_I^{\sim} l'aire estimée du tissu sur I .



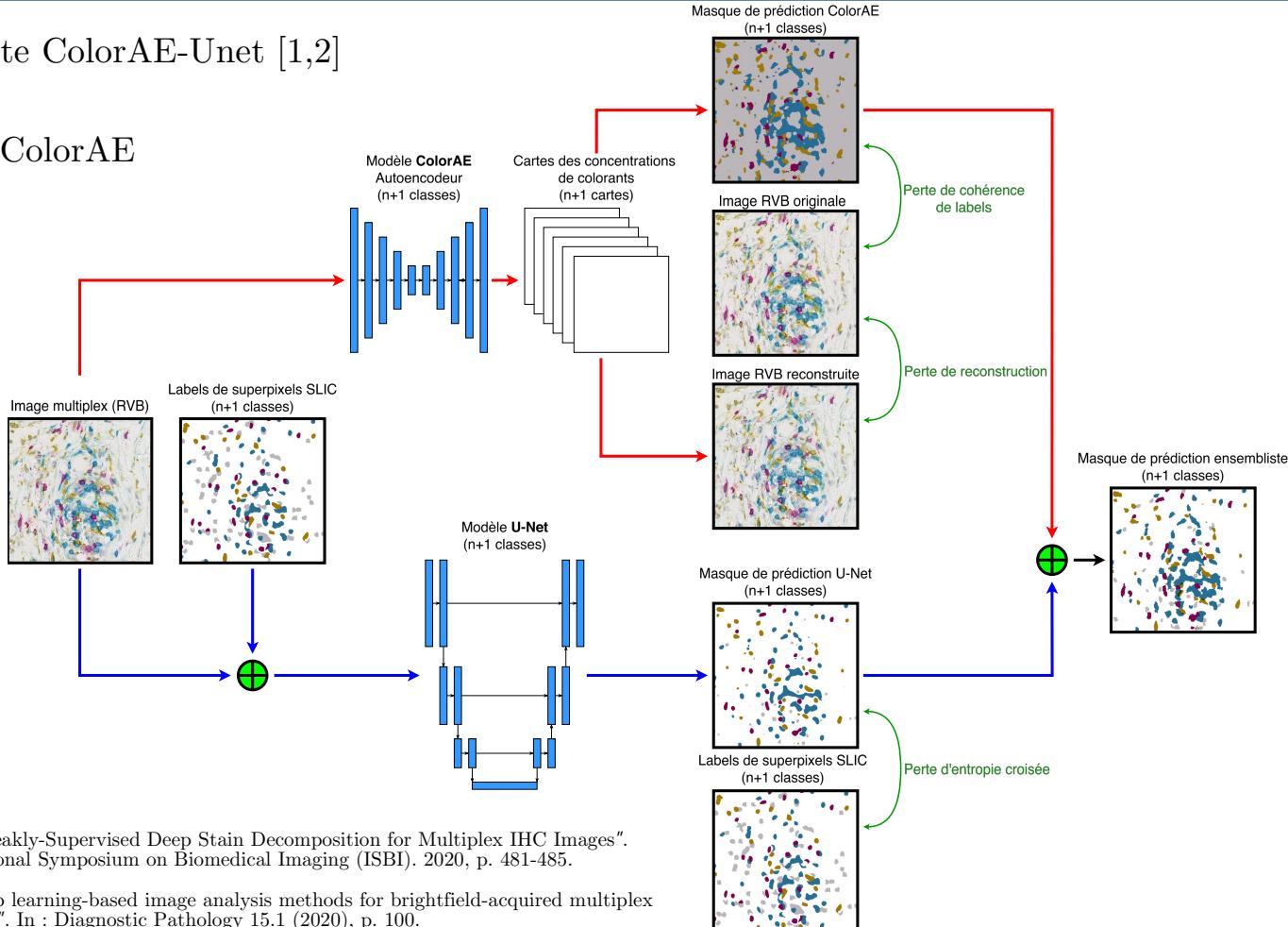
[1] Peter Bankhead et al. "QuPath : Open source software for digital pathology image analysis". In : Scientific Reports 7 (2017), p. 168-178.

Annexe – ColorAE-UNet

- Modèle ensembliste ColorAE-Unet [1,2]

- Autoencodeur ColorAE

- CNN U-Net



[1] Shahira Abousamra et al. "Weakly-Supervised Deep Stain Decomposition for Multiplex IHC Images". In : 2020 IEEE 17th International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI). 2020, p. 481-485.

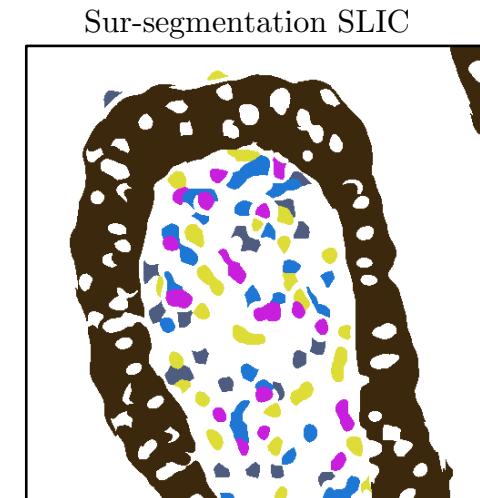
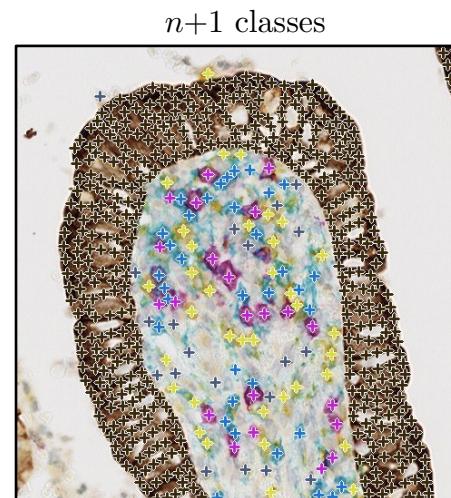
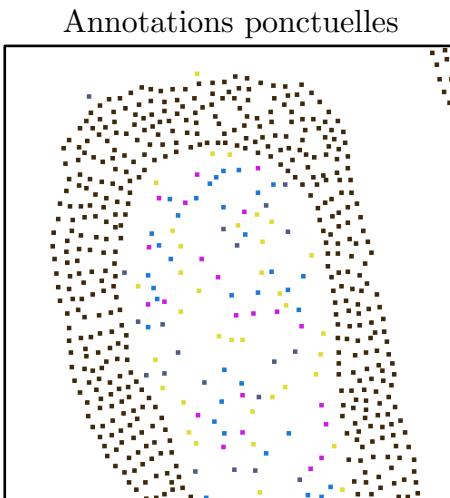
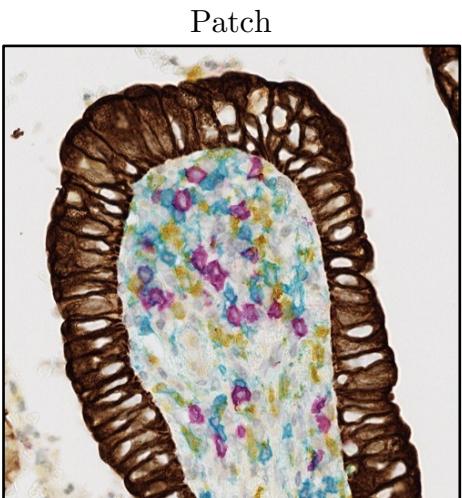
[2] Danielle J. Fassler et al. "Deep learning-based image analysis methods for brightfield-acquired multiplex immunohistochemistry images". In : Diagnostic Pathology 15.1 (2020), p. 100.

Annexe – Paramètres ColorAE-UNet sur ROCHE

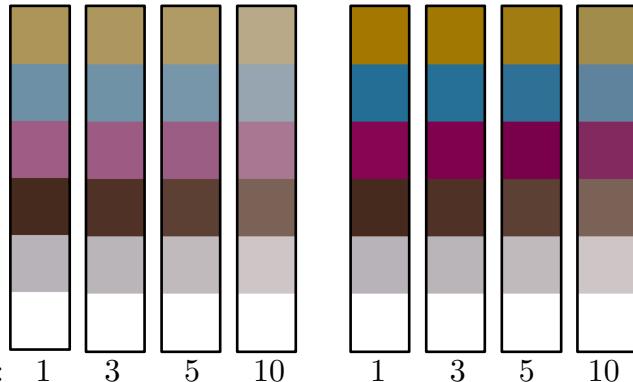
- Choix des vecteurs de référence :

Jeu de données	Entraînement/validation	Test
ROCHE ₁	P ₁	P ₁
ROCHE ₂	P ₁ + P ₂ + P ₃	P ₁
ROCHE ₃	P ₁	P ₂ + P ₃

- Annotations :

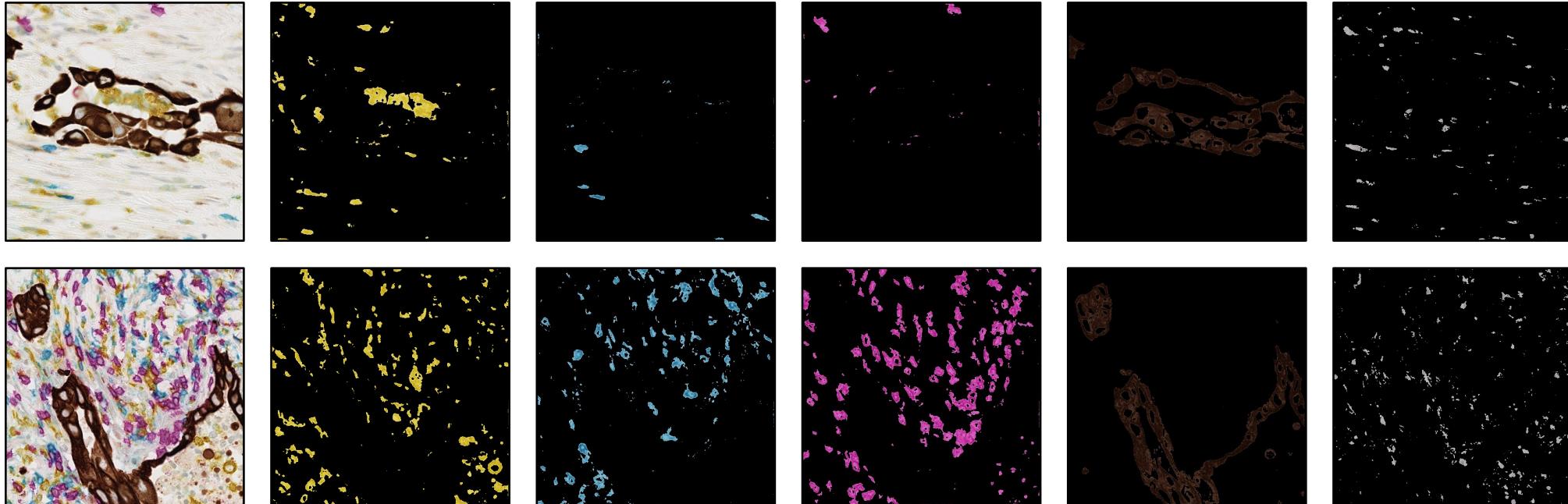


Vecteurs directs et avec compensation de l'hémaxotyline



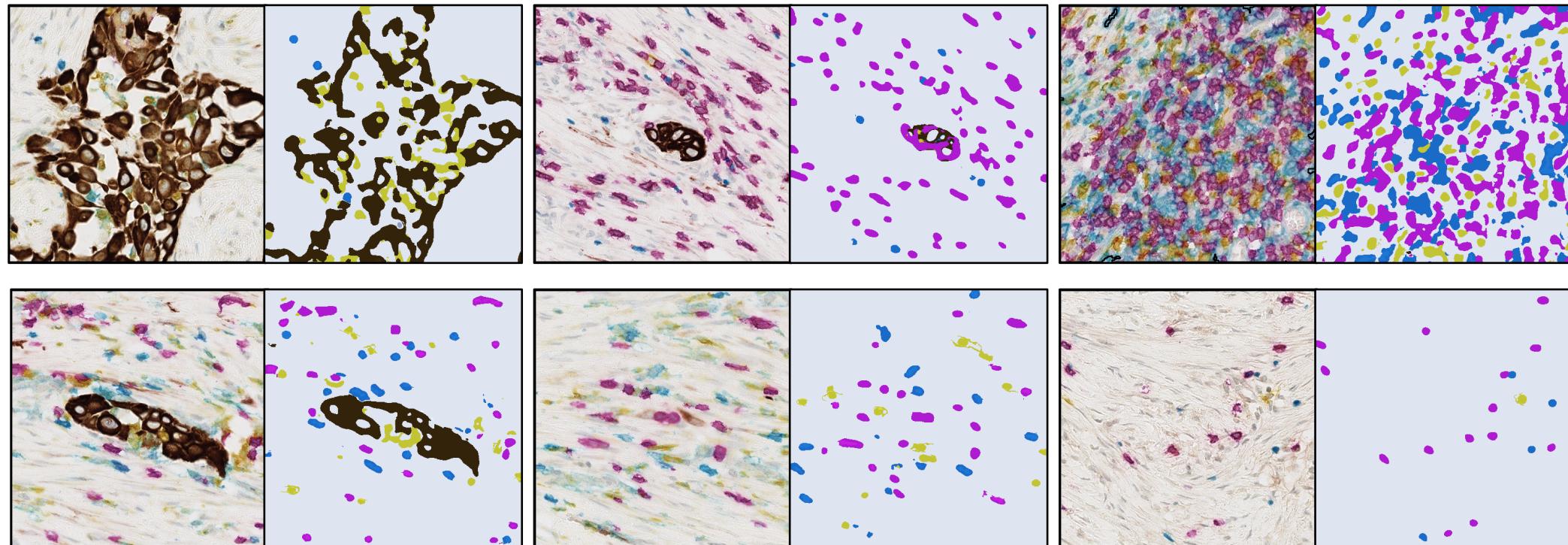
Annexe – Masques ColorAE-UNet sur ROCHE

- Paramètres : patch de 500x500, 5000 époques, $lr = 0.0005$, ADAM.
- ROCHE₁, ROCHE₃ : $n = 112$ images, augmentation de données (rotations 90°, 180°, 270°, miroirs v/h)
- ROCHE₂ : $n = 336$ images



Annexe – Segmentation ColorAE-UNet sur ROCHE

- Segmentations avec la politique *ColorAE-anchor* [1]



[1] Danielle J. Fassler et al. "Deep learning-based image analysis methods for brightfield-acquired multiplex immunohistochemistry images". In : Diagnostic Pathology 15.1 (2020), p. 100.

Annexe – Résultats ColorAE-UNet sur ROCHE

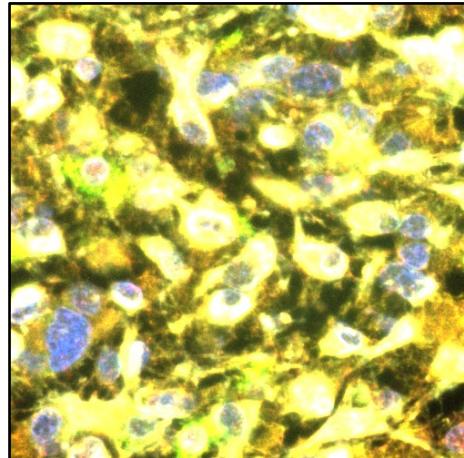
- Grande stabilité des performances.
- La capacité de généralisation du modèle est limitée par les **propriétés intrinsèques des marqueurs/colorants**.
- La capacité de généralisation du modèle est limitée par les **propriétés géométriques intrinsèques** des **objets cellulaires** sous-jacents.

Colorant	ROCHE ₁	ROCHE ₂	ROCHE ₃
<i>Jaune</i>	0.77 (± 0.003)	0.67 (± 0.002)	0.77 (± 0.017)
<i>Cyan</i>	0.85 (± 0.003)	0.82 (± 0.005)	0.66 (± 0.003)
<i>Violet</i>	0.95 (± 0.001)	0.96 (± 0.001)	0.92 (± 0.001)
<i>DAB</i>	0.95 (± 0.001)	0.95 (± 0.000)	0.92 (± 0.007)
<i>Contre-marqueur</i>	0.09 (± 0.001)	0.04 (± 0.001)	0.03 (± 0.001)

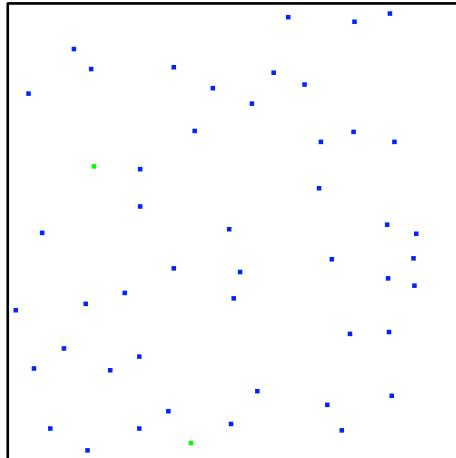
Annexe – Paramètres ColorAE-UNet sur MI*EDGE

- Vecteurs de références : métadonnées
- Annotations :

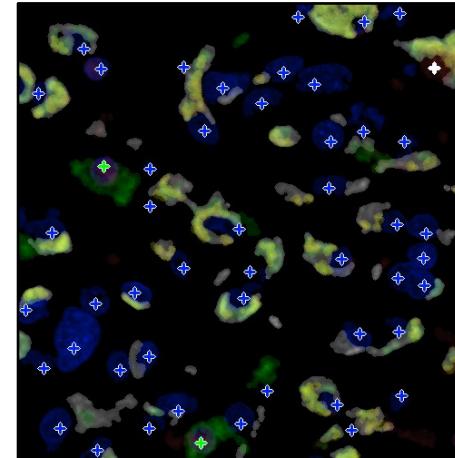
Patch



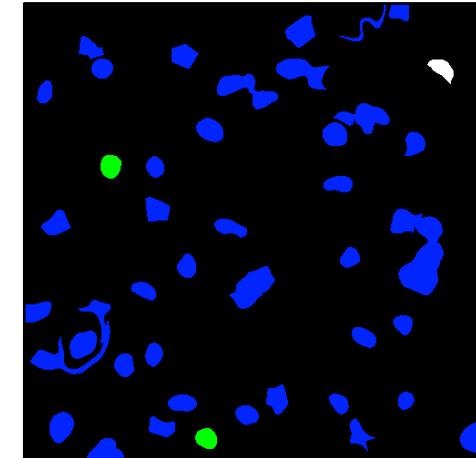
Annotations ponctuelles



$n+1$ classes

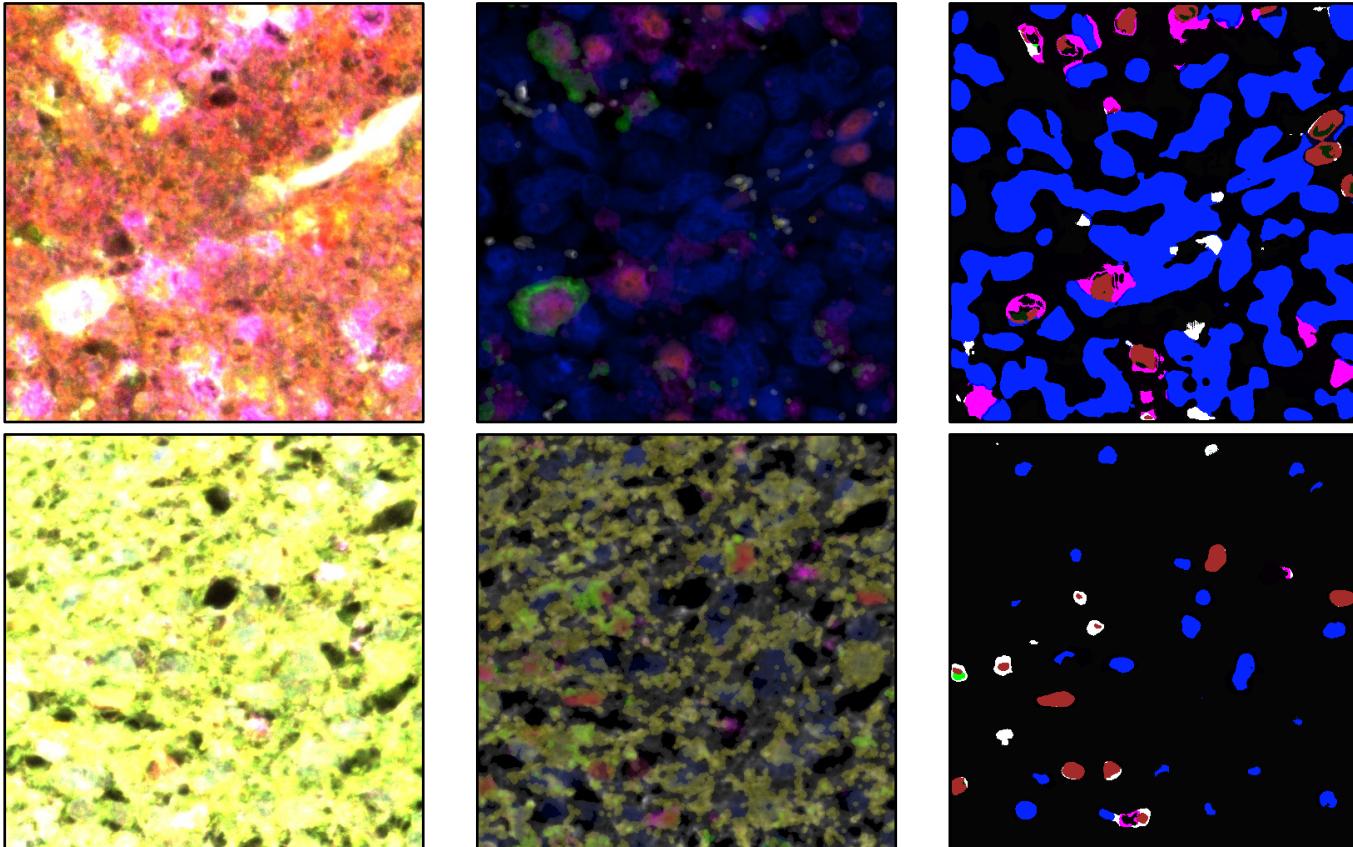


Sur-segmentation SLIC



Annexe – Segmentation ColorAE-UNet sur MI*EDGE

- Segmentations avec la politique *ColorAE-anchor* [1]



[1] Danielle J. Fassler et al. "Deep learning-based image analysis methods for brightfield-acquired multiplex immunohistochemistry images". In : Diagnostic Pathology 15.1 (2020), p. 100.

Annexe – Résultats ColorAE-UNet sur MI*EDGE

- Stabilité des performances similaires à ROCHE.
- Bonnes performances pour DAPI et acceptables pour ATRX et CD68.
- La **nature des images** (moins nettes, plus de marqueurs) influe fortement sur la capacité du modèle à **estimer les concentrations de colorants**.
- **Conclusion**
 - Le modèle est capable de **segmenter précisément** des images utilisant le kit **Discovery Ultra**.
 - La **généralisation** à des images moins nettes et/ou plus complexe est **limitée**.
 - Le **MSCT** pourrait fournir une alternative crédible.

Colorant	MI*EDGE
DAPI	0.83 (± 0.025)
GFAP	0.00 (± 0.000)
MS4A4A	0.09 (± 0.023)
IDH1	0.14 (± 0.193)
ATRX	0.65 (± 0.084)
CD68	0.60 (± 0.058)