

# L'ARBRE DES COUPES MULTI-ÉCHELLES POUR UNE MEILLEURE PRÉSENTATION DANS L'IMAGERIE IMMUNOHISTOCHIMIQUE MULTIPLEX

Romain PERRIN <sup>(1)</sup>, Aurélie LEBORGNE <sup>(1)</sup>, Nicolas PASSAT <sup>(2)</sup>, Benoît NAESEL <sup>(1)</sup>, Cédric WEMMERT <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> ICube UMR 7357, Université de Strasbourg

<sup>(2)</sup> CReSTIC UR 3804, Université de Reims Champagne-Ardenne

Colloque Français d'Intelligence Artificielle en Imagerie Biomédicale  
Maison Minatec, Grenoble, 25-27 mars 2024



Université  
de Strasbourg



Problématique

L'imagerie immunohistopathologique multiplex regroupe des techniques novatrices de marquage simultané de plusieurs biomarqueurs au sein d'un même tissu. L'analyse de ce type d'images complexes reste cependant un défi pour les méthodes d'apprentissage automatique. Il peut être intéressant de passer par une structure de données permettant une représentation efficace des images. L'arbre des coupes multi-échelle est une structure hiérarchique morphologique offrant un stockage compact des images à travers plusieurs échelles. Nous illustrons les possibilités offertes par cette structure sur des images de glioblastomes en s'inspirant de la manière dont les pathologistes abordent ces données.

## Images multiplex

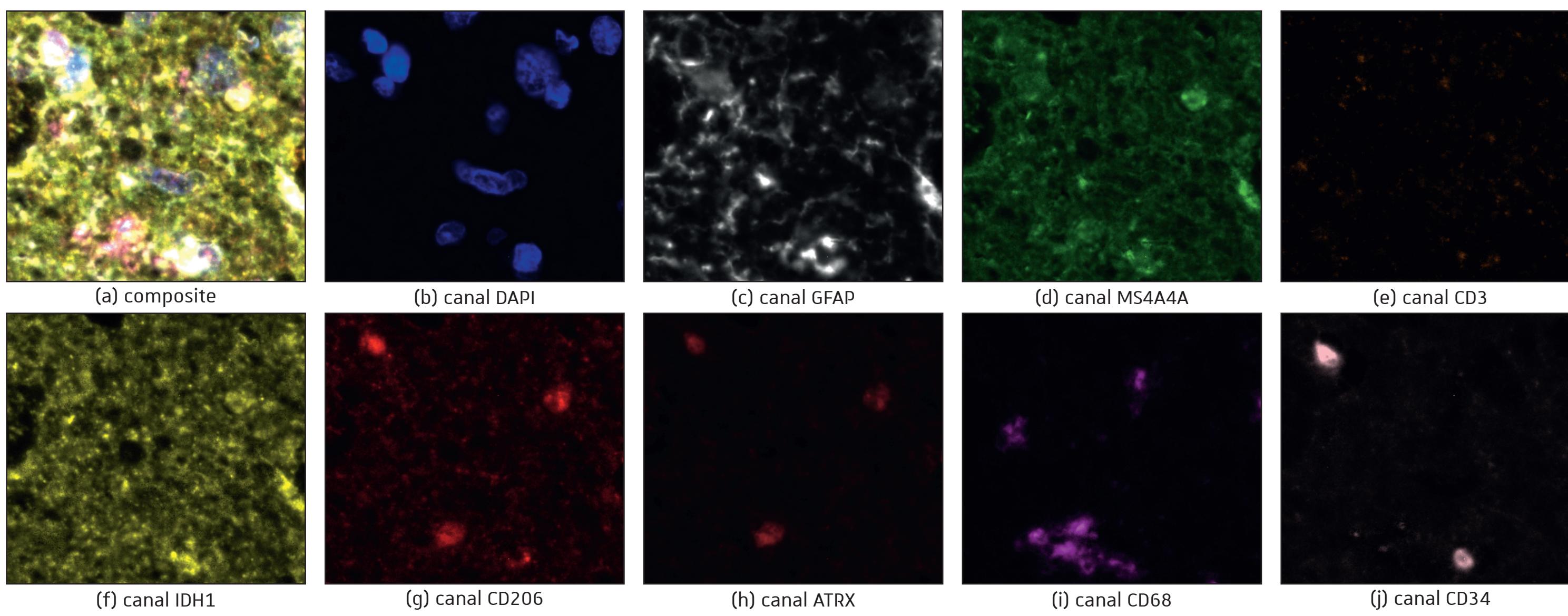


Figure 1 : (a) Exemple d'image multiplex composite (a) à 9 canaux sémantiques (b-j).

Les données utilisées sont issues d'un projet collaboratif autour du glioblastome, une tumeur cérébrale maligne au faible pronostic, avec des neuropathologistes de la Hannover Medical School. 62 images provenant de 22 patients ont été obtenues (sections de 3 µm, grossissement x20, résolution 0.49 µm/pixel). Des régions allant du cœur de la tumeur au tissu sain ont été choisies manuellement et colorées multispectralement avec une résolution de 0.25 µm/pixel (Figure 1).

## Arbre des coupes

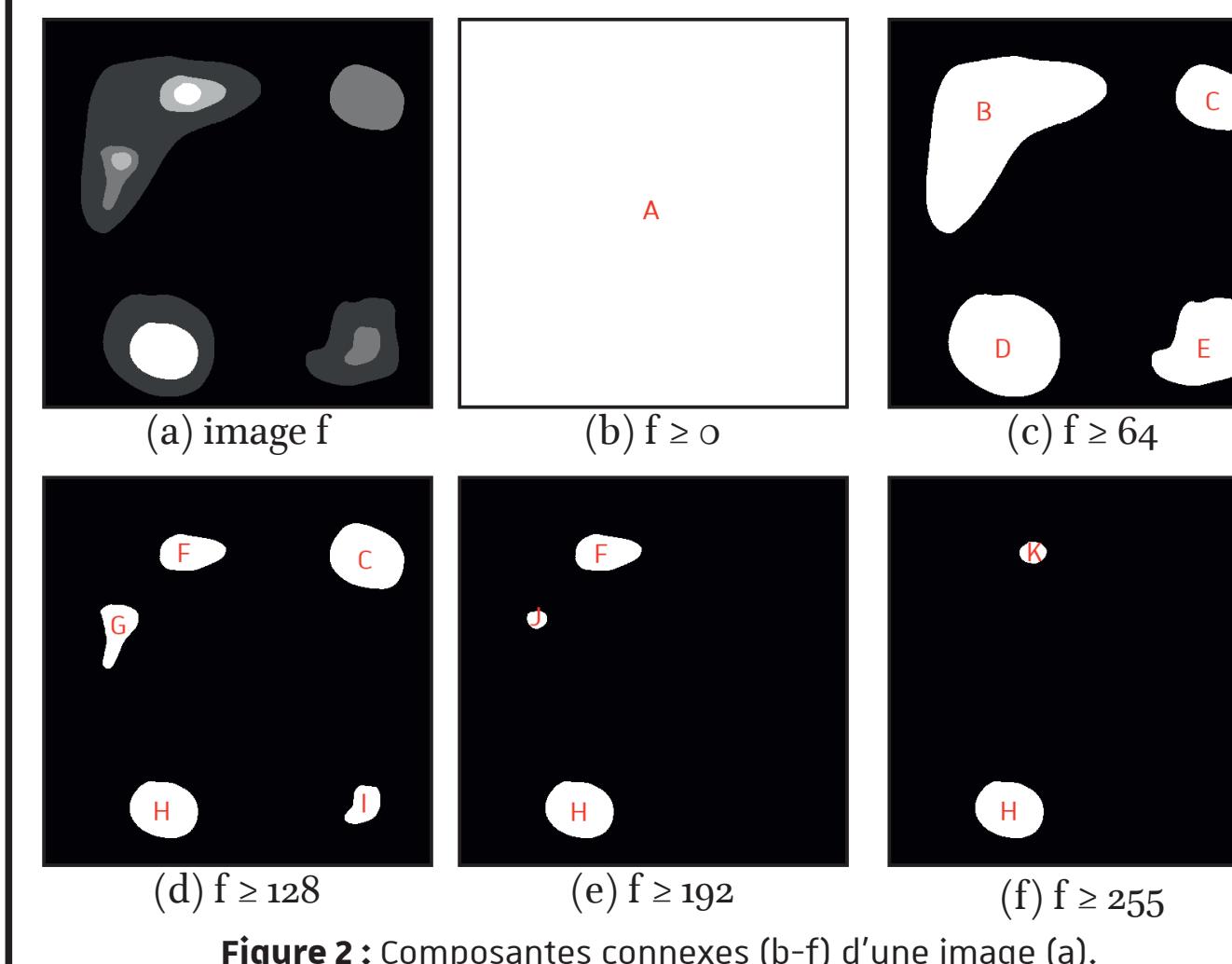


Figure 2 : Composantes connexes (b-f) d'une image (a).

Figure 3 : Exemple d'arbre des coupes de l'image f (Figure 2.a).

L'arbre des coupes (max-tree) [1] est un modèle morphologique hiérarchique basé sur les graphes permettant un encodage efficace des images pour une complexité algorithmique faible [2]. L'arbre des coupes encode les relations d'inclusion entre les composantes connexes issues de seuillages successifs (Figure 2.b-f) d'une image en niveaux de gris. Sa racine est la composante connexe maximale contenant l'entièreté de l'image (A) et ses feuilles sont les zones plates des valeurs correspondant aux maxima locaux de l'image (C, H, I, J et K). Le graphe obtenu est un arbre dit arbre des coupes (Figure 2).

## Arbre des coupes multi-échelles (MSCT)

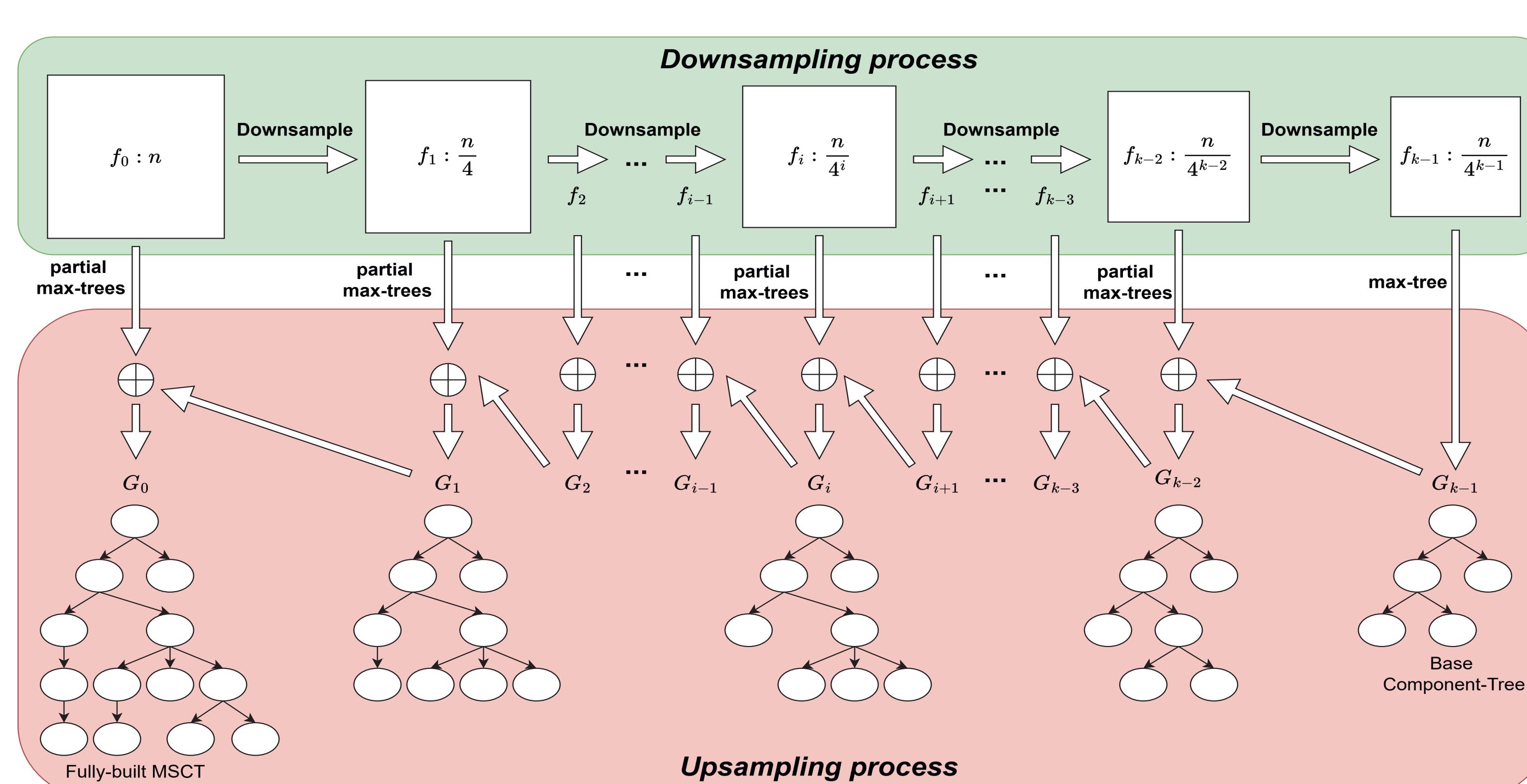


Figure 4 : Principe de construction d'un arbre des coupes multi-échelles ou MSCT [5].

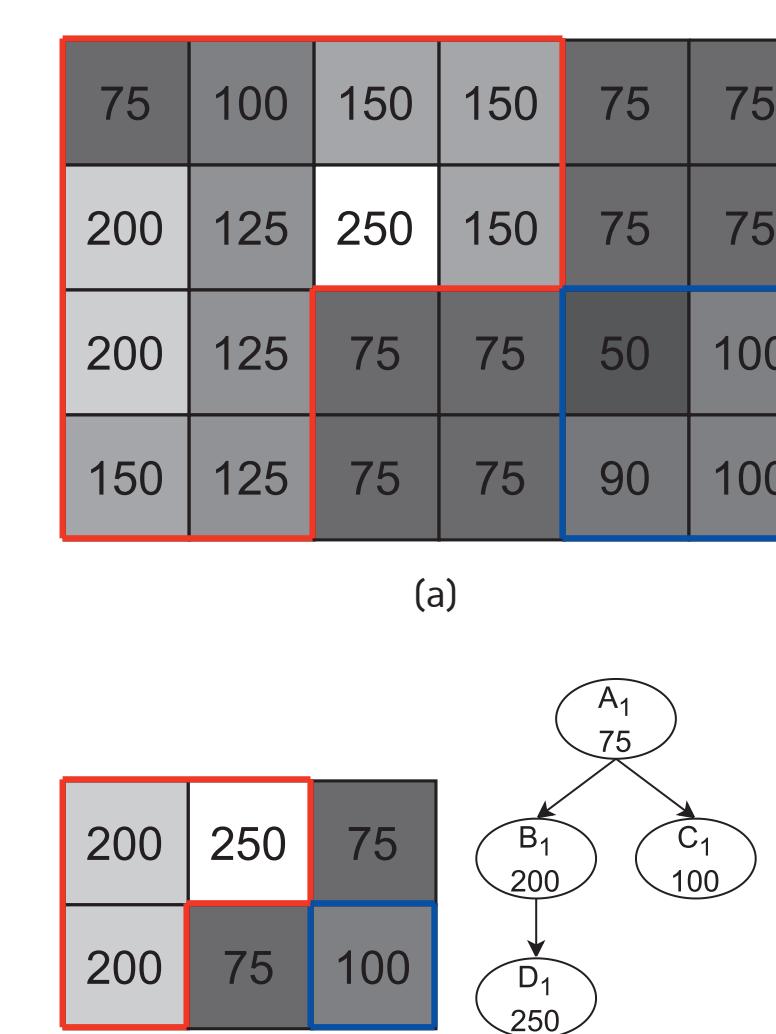


Figure 5 : Exemple de construction d'un arbre des coupes multi-échelles (g) sur une image synthétique pour deux échelles (a-b). (g) est la fusion de (c) avec les arbres des coupes partiels (d-e).

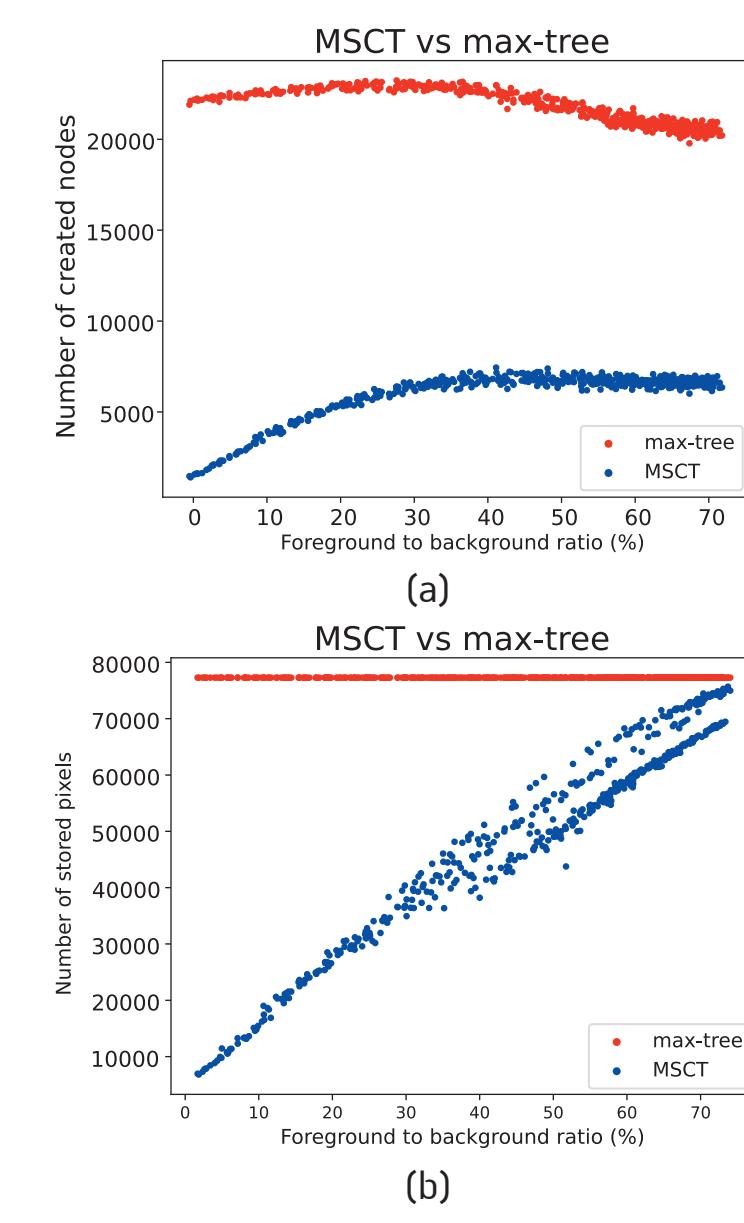


Figure 6 : Performances de stockage.

L'arbre des coupes multi-échelles (MSCT) [5] est une extension de l'arbre des coupes [1] dont les noeuds peuvent contenir des zones plates composées de pixels à de multiples échelles. Le MSCT est construit à partir d'un ensemble d'images sous-échantillonées. Un premier arbre des coupes est calculé sur l'image la plus sous-résolue. Itérativement, des noeuds de l'arbre sont sélectionnés selon un critère basé sur les Maximally Stable Extremal Regions (MSER) [3]. Des arbres des coupes partiels sont calculés sur ces régions en utilisant une image sur-résolue, puis sont fusionnés au MSCT en remplacement des zones sous-échantillonées (Figure 5). Ce processus est répété k-1 fois jusqu'à atteindre l'échelle d'origine (Figure 4). Grâce à sa dimension multi-échelles, le MSCT permet de générer un nombre de noeuds largement inférieur à un arbre des coupes (Figure 6.a) et produit un stockage efficace des pixels de l'image (Figure 6.b).

## Vecteurs de caractéristiques

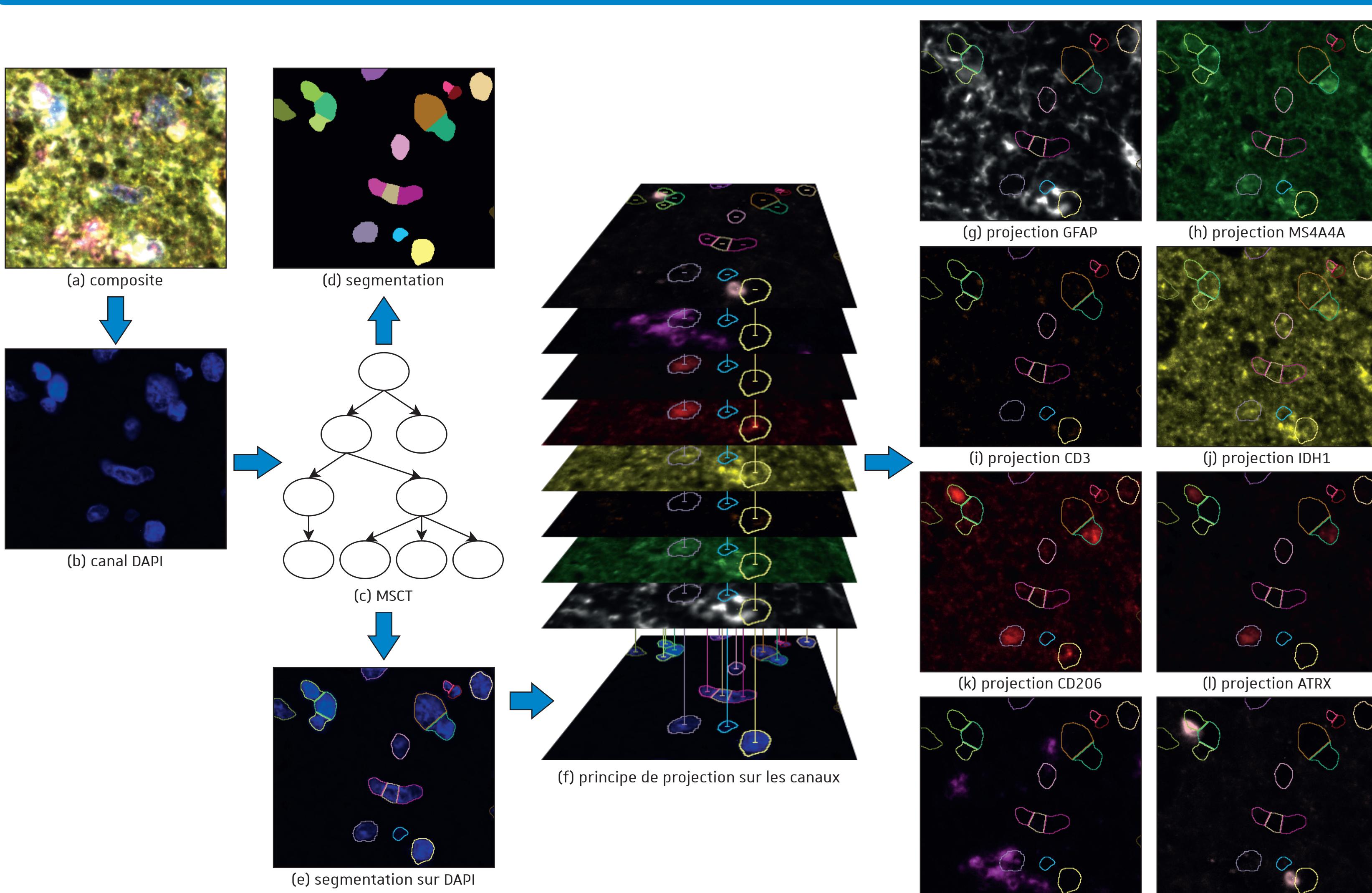


Figure 7 : Principe de construction d'un vecteur de caractéristiques à partir d'une image multiplex (a) par extraction des objets (d) et projection sur les canaux (e-n).

Un MSCT est construit pour chaque image multiplex (Figure 7.a-c). Les composantes connexes contenant les noyaux de cellules sont extraits par filtre du MSCT (Figure 7.d-e). Les masques des objets sont projetés sur les canaux sémantiques restants (Figure 7.f). Pour chaque composante connexe  $n_i$  sur chaque canal  $f_j$  autre que le DAPI ( $f_0$ ), les valeurs des pixels  $f_j(p)$  sont sommées. Le vecteur de caractéristiques final  $c_i$  d'un objet sous-jacent  $n_i$  est composé des  $k$ -1 sommes des mesures physiques associées aux biomarqueurs des canaux 1 à  $k-1$  (Figure 7.g-n). Autrement dit,  $c_i = \left[ \sum_p f_j(p) \mid p \in n_i \right]_{j=1}^k$ .

## Résultats

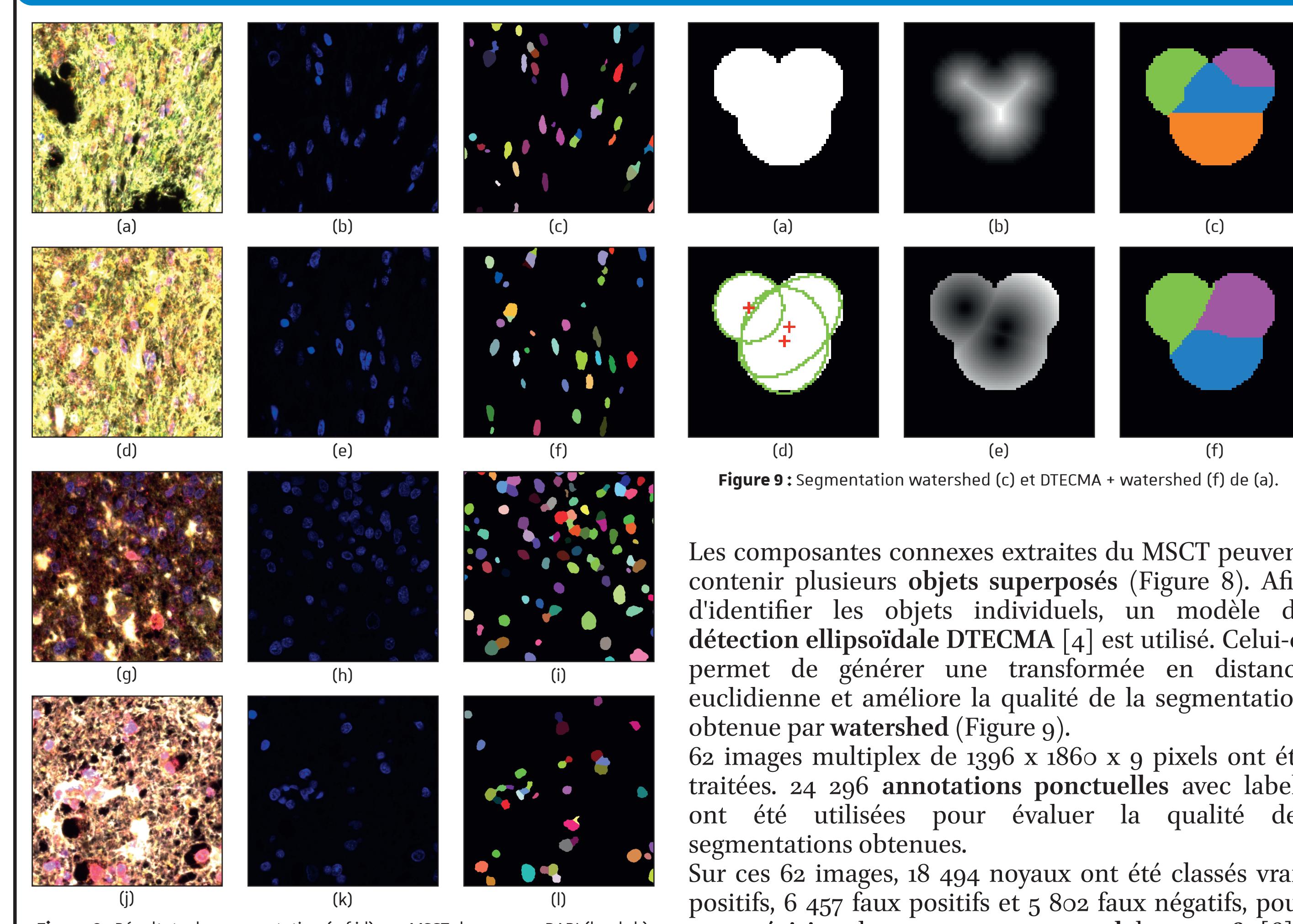


Figure 8 : Résultats de segmentation (c,f,i,l) par MSCT des canaux DAPI (b,e,h,k) des images multiplex composites (a,d,g,j).

Les composantes connexes extraites du MSCT peuvent contenir plusieurs objets superposés (Figure 8). Afin d'identifier les objets individuels, un modèle de détection ellipsoïdale DTECMA [4] est utilisé. Celui-ci permet de générer une transformée en distance euclidienne et améliore la qualité de la segmentation obtenue par watershed (Figure 9).

62 images multiplex de 1396 x 1860 x 9 pixels ont été traitées. 24 296 annotations ponctuelles avec labels ont été utilisées pour évaluer la qualité des segmentations obtenues.

Sur ces 62 images, 18 494 noyaux ont été classés vrais positifs, 6 457 faux positifs et 5 802 faux négatifs, pour une précision de  $p = 0.741$  et un rappel de  $r = 0.761$  [6].

## Perspectives

Les vecteurs de caractéristiques calculés à partir du MSCT peuvent être utilisés pour effectuer des tâches de classification non supervisées. Une image multiplex à  $k$  canaux produit des vecteurs en  $k$  dimensions. Une étape de réduction par ACP peut être appliquée afin de projeter ces vecteurs en deux dimensions. Un seuil peut être choisi afin d'effectuer une classification binaire de la forme cellule immunitaire/tumorale (Figure 10). Le pouvoir expressif de ces vecteurs est insuffisant pour une classification complète (lymphocyte, macrophage...). D'autres attributs pourraient être combinés (compactité, circularité, densité optique...).

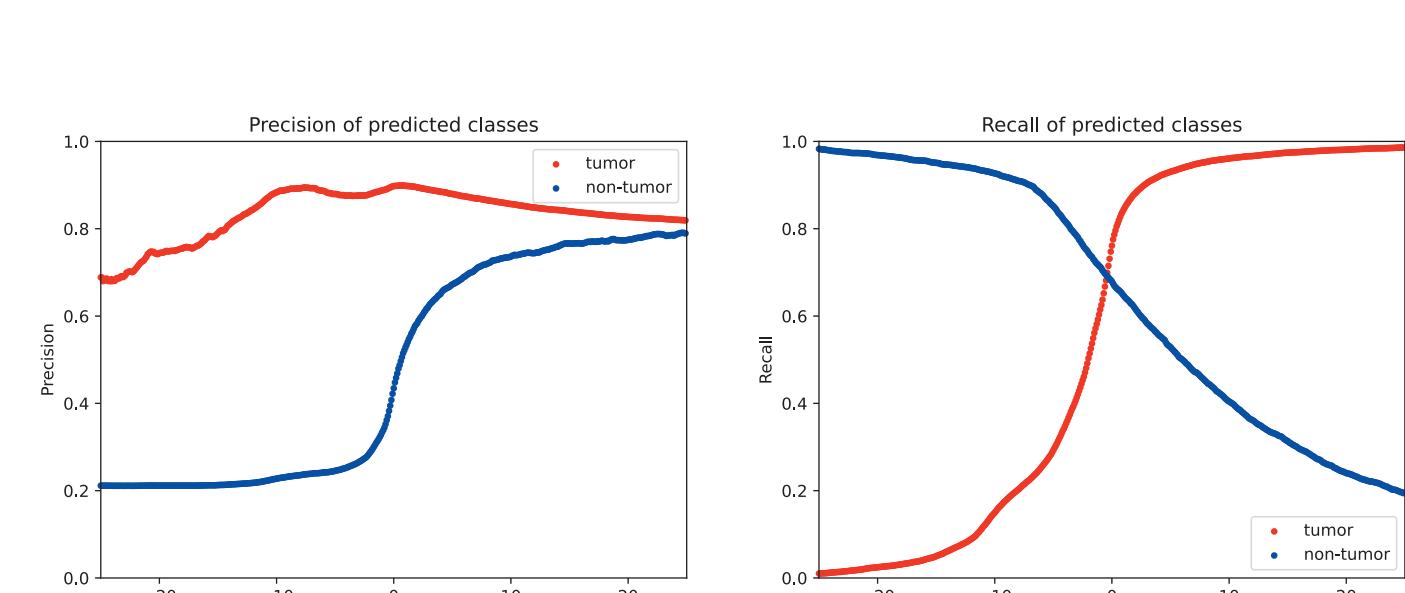


Figure 10 : Précision (a) et rappel (b) en fonction du seuil choisi en ACP.

## Références

- [1] P. Salembier, A. Oliveras, L. Garrido, Anti-extensive connected operators for image and sequence processing, IEEE Transactions on Image Processing, vol. 7, pp. 555-570, 1998.
- [2] E. Carlinet, T. Géraud, A comparative review of component tree computation algorithms, IEEE Transactions on Image Processing, vol. 23, pp. 3885-3895, 2014.
- [3] J. Matas, G. Chum, M. Urban, J. Pajdla, Robust wide-baseline stereo from maximally stable extremal regions, Image and Vision Computing, vol. 22, pp. 765-767, 2004.
- [4] J. Zou, T. Pan, M. Taylor, H. Stern, Recognition of overlapping elliptical objects in a binary image, Pattern Analysis and Applications, vol. 24, pp. 103-126, 2021.
- [5] R. Perrin, A. Leborgne, N. Passat, B. Naegel, C. Wemmert, Multi-Scale Component-Tree: An Hierarchical Representation of Sparse Objects, IAPR Third International Conference on Discrete Geometry and Mathematical Morphology (DGMM), Florence, Italy, april 2024.
- [6] R. Perrin, A. Leborgne, N. Passat, B. Naegel, C. Wemmert, Multi-Scale Component Trees for Enhanced Representation in Multiplex Immunohistochemistry Imaging, IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI), Athens, Greece, may 2024.