

# Projet Claréal - Rapport

## Introduction

La peau est l'organe le plus étendu chez l'homme. Bien que son aspect paraisse uniforme, les fonctions remplies par cet organe sont nombreuses : barrière physico-chimiques contre les pathogènes, isolant thermique, fonctions métaboliques, etc. On distingue trois couches distinctes à la peau à savoir l'hypoderme, le derme et l'épiderme.

A l'image des autres organes, la peau subit des modifications structurales et fonctionnelles au cours du vieillissement. Ces modifications, principalement structurales, se traduisent physiquement par l'apparition de rides. D'un point de vue cellulaire, le vieillissement se traduit pas un amincissement du derme et une diminution du nombre de repliement (invaginations).

Actuellement, les traitements contre les signes du vieillissement et les modifications structurelles se basent sur l'application de crèmes dont les effets sont réels, mais parfois loin des espérances. Au travers de ce rapport nous allons proposer une procédure de traitement d'images issues de coupes de la peau marquées à la cytokératine 10 et non marquées. Nous chercherons à mettre en évidence la qualité d'un traitement cosmétique à l'aide de l'analyse d'image, notamment par la détermination de l'épaisseur du derme et le degré d'invagination du derme.

## Matériel et méthodes

Afin de réaliser le traitement de nos images, nous utiliserons le langage Python au travers duquel nous exploiterons les bibliothèques de traitement d'images telles que Pink, Scikit Image, Numpy et Scipy.

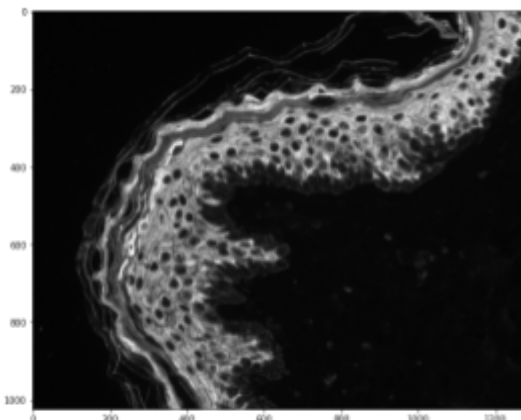
## Stratégie employée

Afin de parvenir aux résultats escomptés, à savoir la détermination de l'épaisseur moyenne du derme et du nombre d'invaginations, nous avons établi une stratégie en plusieurs étapes, présentées ci-après.

# Première étape : Segmentation du derme

Comme mentionné précédemment, nous allons réaliser deux mesures (épaisseur moyenne et degré d'invagination) sur le derme. Il convient donc d'isoler cette couche de la peau afin de pouvoir réaliser ces mesures de manière appropriée.

Nous chercherons donc à obtenir des images de derme segmentées comme l'exemple ci-dessous :



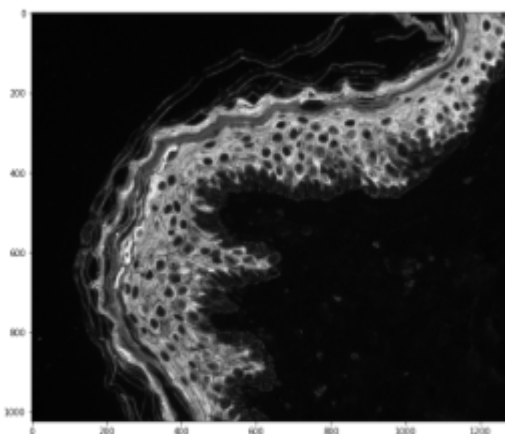
Coupe Histologique complète



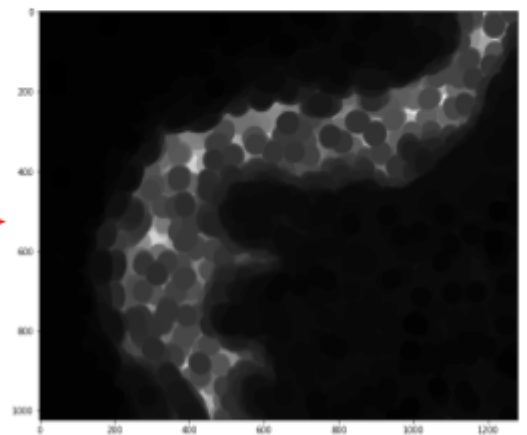
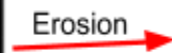
Coupe Histologique avec segmentation du derme

L'étape de segmentation du derme va se dérouler en quatre phases :

- Érosion de l'image par une genball de taille 25 afin de chercher à homogénéiser le derme en "étalant" les noyaux. En effet l'érosion en niveau de gris va avoir tendance à élargir les zones foncées et à réduire l'intensité des niveaux de gris.



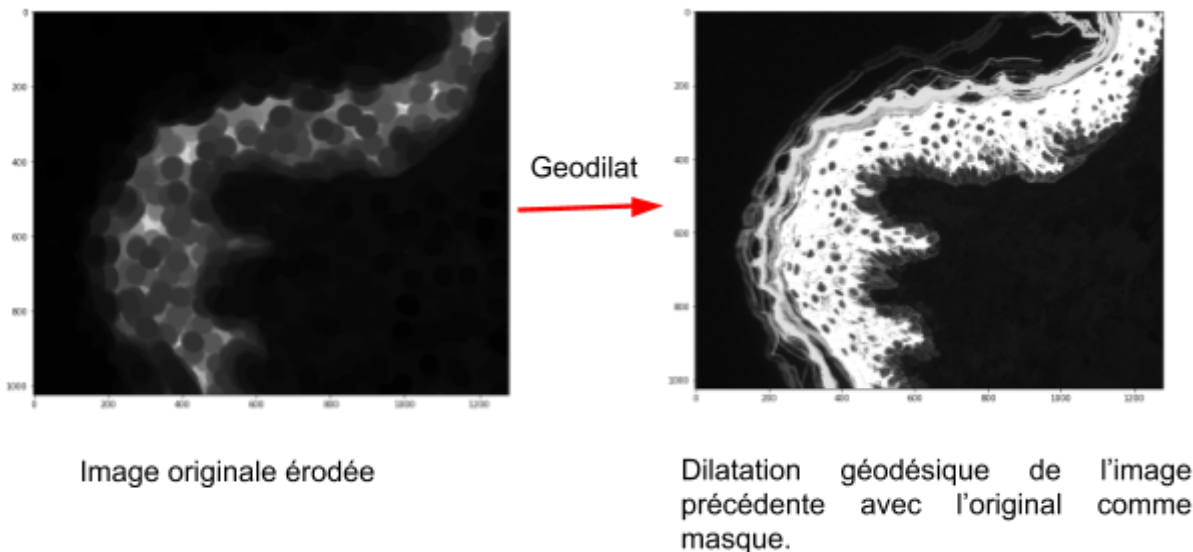
Original



Original  $\ominus$  Genball 25

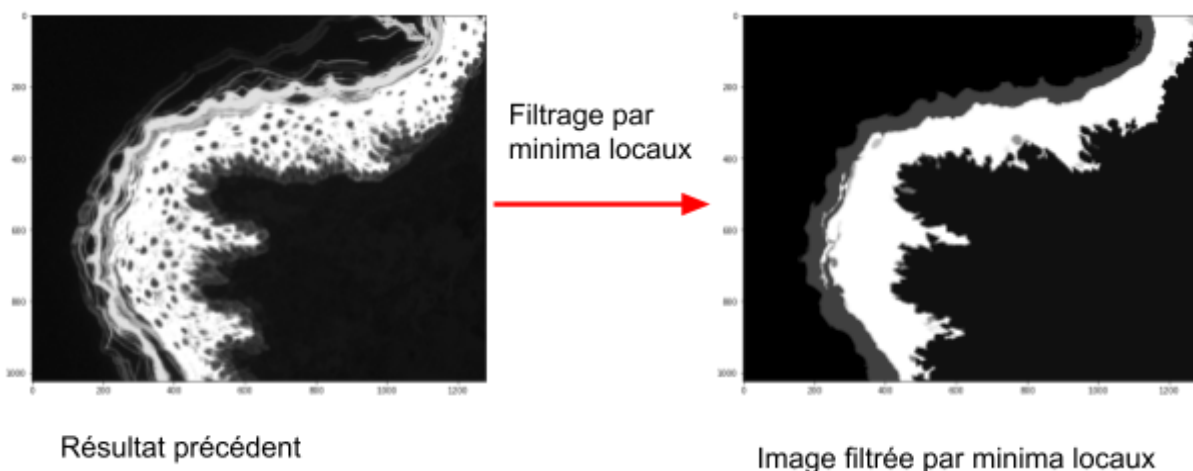
→ On conserve la forme globale du derme, avec un contenu plus homogène et moins lumineux.

- Dilatation géodésique du résultat précédent avec comme masque l'image initiale afin de propager les zones "claires" dans la zone formant le derme, sans en perdre les contours, en vue d'un seuillage.



→ On obtient globalement un éclaircissement de l'image de départ.

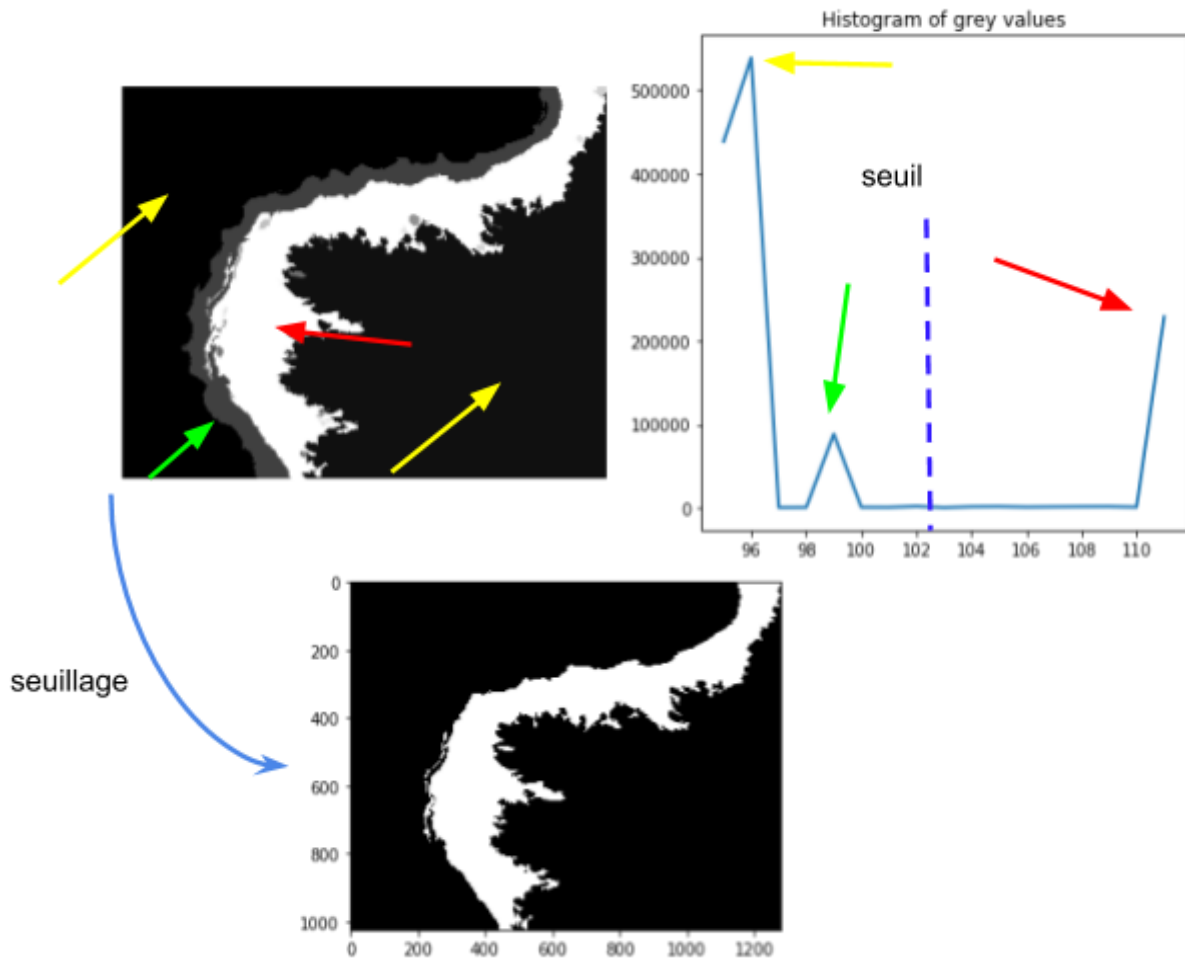
- Filtrage sur la hauteur, plus particulièrement par la recherche des minima locaux afin de boucher les vallées (vision topologique). Ici les vallées représentent les noyaux résiduels dans l'espace considéré comme le derme éclairci qui devront être supprimés.



→ A ce stade, le derme est homogénéisé, cependant on remarque 3 zones caractérisées par 3 niveaux de gris différents.

- Seuillage du résultat, afin de récupérer la zone d'intérêt (derme). On relève les différentes valeurs de niveaux de gris des différentes zones à l'aide d'un histogramme des niveaux de gris. La valeur du seuil sera l'avant dernière valeur de

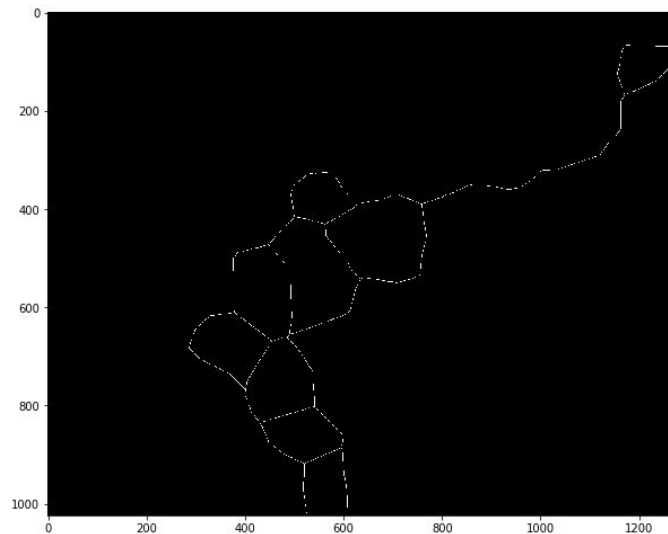
niveau de gris de l'histogramme +1 afin de rendre la partie grise noire et l'exclure de la zone considérée comme le derme puisqu'il s'agit de la couche cornée.



## Deuxième étape : Lissage du derme extrait

Au cours de la première étape nous avons extrait le derme depuis les images de microscopie "brutes". Il s'agit donc de traiter ce résultat (image binarisée) afin de recueillir les mesures d'épaisseur moyenne et du degré d'invagination.

L'ensemble des mesures qui seront réalisées vont reposer sur le squelette du derme isolé. Bien que la détermination du squelette de l'image soit possible, ayant à traiter une image binarisée, l'aspect dentelé des contours du derme, il est peu probable que le squelette obtenu après skeletonization soit correct. Ci dessous un exemple de ce qui est obtenu après skeletonization immédiate :



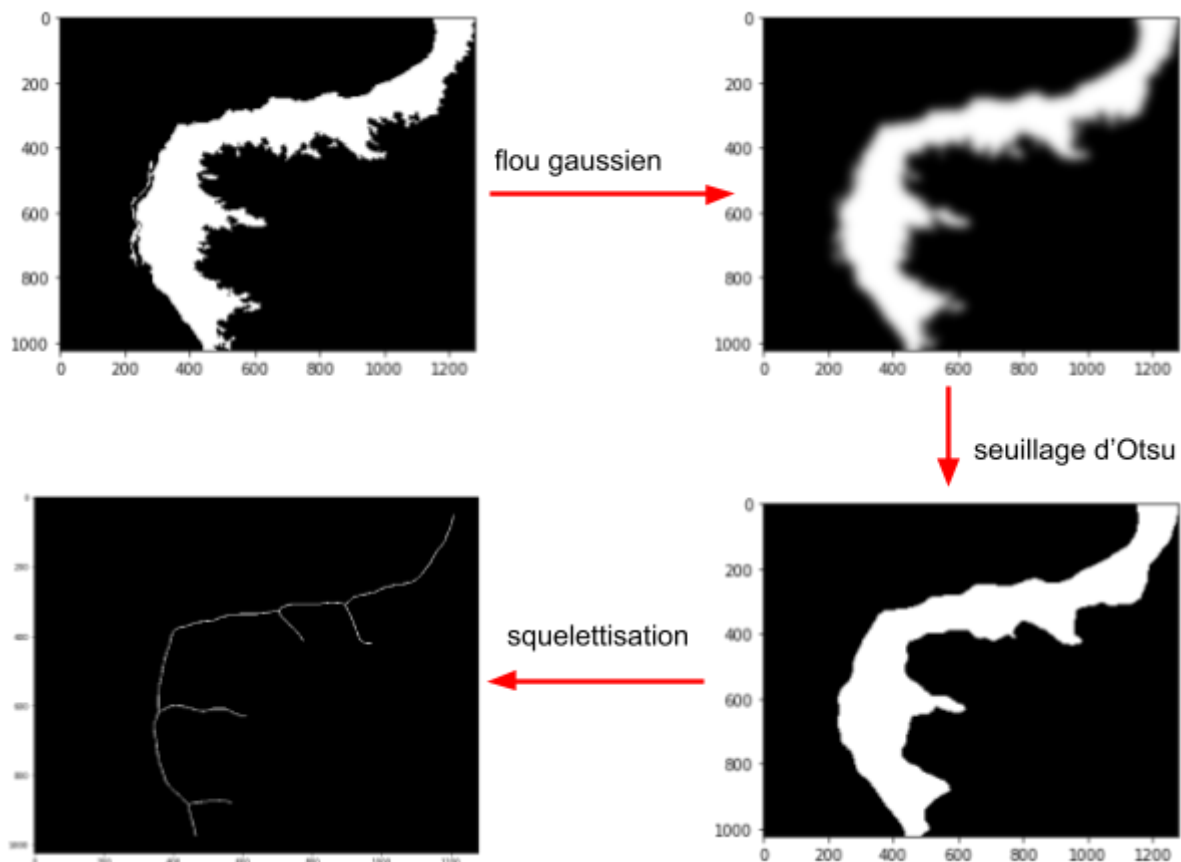
Compte tenu du fait que la skeletonization soit une transformation homotypique et que par conséquent, la topologie de l'image initiale est conservée, la formation de boucles est inévitable avec des contours si peu lisses.

Nous cherchons à avoir un squelette constitué d'une partie principale depuis laquelle dérivent des branches correspondant à chacune des invaginations. Afin d'obtenir un tel squelette, il est nécessaire d'avoir un contour du derme isolé plus lisse.

Nous proposons un lissage en deux temps :

- Application d'un flou gaussien d'écart type 15
- Seuillage de l'image floutée

En effet, en temps normal l'application d'un filtre gaussien présente l'inconvénient de "gommer" les contours. Or dans notre cas, le contour est très net puisqu'il s'agit d'une image binarisée. Ainsi l'application du filtre Gaussien va permettre de lisser les contours et permettre d'obtenir un squelette plus convenable. Il sera toutefois nécessaire de procéder à un nouveau seuillage en raison de la formation de nouvelles valeurs de niveau de gris pour les pixels de la bordure, suite aux moyennes effectuées lors de la convolution par le filtre Gaussien. Nous avons fait le choix d'utiliser la méthode d'Otsu compte tenu de la disparité des valeurs de niveau de gris générées afin d'obtenir le seuillage optimal en minimisant la variance intra classe.



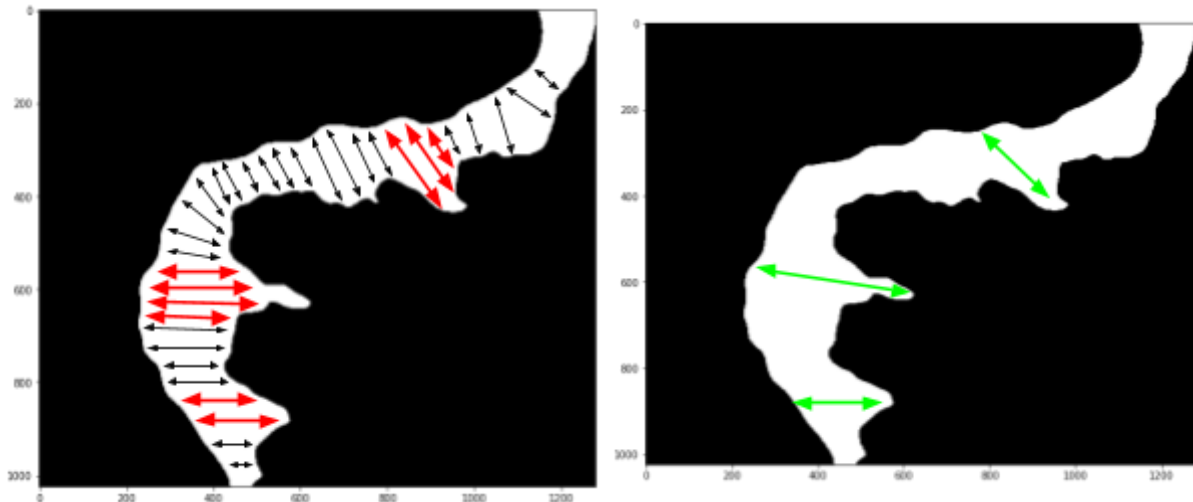
→ Les contours du derme isolés sont ici nettement plus nets, donnant ainsi un squelette plus “simple” sur lequel les mesures pourront être réalisées. Il convient maintenant de réaliser ces mesures.

## Troisième étape : relevé des mesures

Dans le cadre de ce projet deux mesures vont principalement nous intéresser à savoir :

- l'épaisseur moyenne du derme, c'est à dire la distance moyenne entre les couples de points se faisant face de part et d'autre du derme (frontières Hypoderme/Derme et Derme/Épiderme).
- Le degré d'invagination, c'est à dire le rapport entre l'épaisseur moyenne du derme et la distance maximale de entre deux points de part et d'autre du derme, se faisant, avec un point situé au niveau d'une des invaginations présentes.

Ci dessous, une représentation schématique des mesures allant être effectuées :



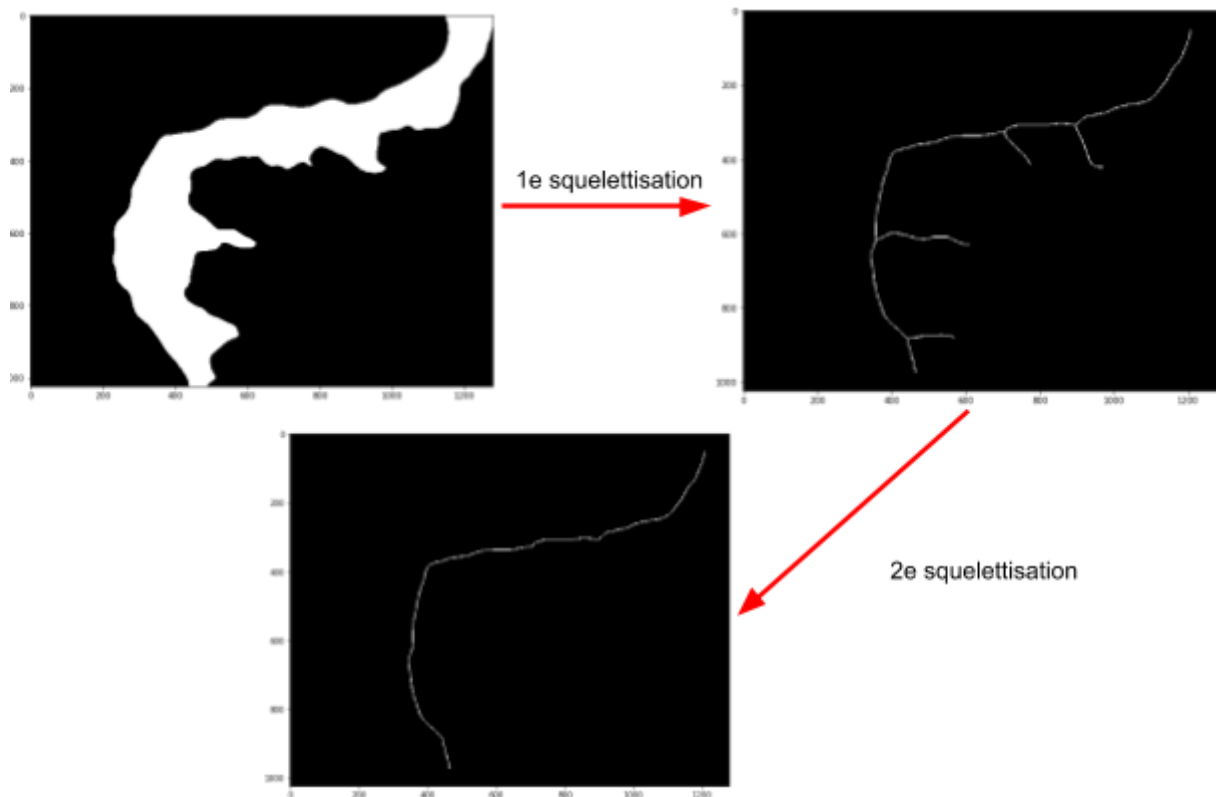
L'épaisseur moyenne du derme correspondra à la "moyenne" des distances symbolisées par les doubles flèches de l'image de gauche. Il est à noter que plusieurs mesures d'épaisseur moyenne sont réalisables en fonction de si les invaginations sont considérées pour le calcul de ce paramètre (distances symbolisées par les doubles flèches rouges).

D'autre part la profondeur de l'invagination correspondra à la distance maximale entre le squelette et l'extrémité d'une invagination symbolisées par les doubles flèches vertes.

## Mesure de l'épaisseur moyenne du derme

Suite à nos réflexions, nous proposons de réaliser 3 mesures de l'épaisseur moyenne, reposant sur 3 définitions différentes de l'épaisseur moyenne du derme.

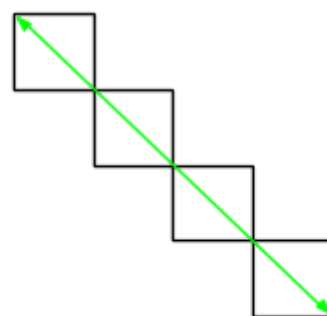
- Mesure 1 : cette première mesure ne tient pas compte des invaginations dans la détermination de l'épaisseur moyenne. L'idée est de travailler sur le squelette sans les "branches" issues des invaginations du derme. Afin d'obtenir un tel squelette, nous partons de l'image obtenue par segmentation du derme, et réalisons une première squelettisation. Ce squelette (réalisé par la fonction `skeletonize` de `scikit-image`), qui lui comporte des branches liées aux invaginations va subir une squelettisation à l'aide de la fonction de squelettisation de `Pink` qui permet d'éliminer les "branches" compte tenu du paramètre d'inhibition défini à `-1`. Afin d'éviter que la partie centrale du squelette ne se résorbe, on choisit d'appliquer un cadre de largeur conséquente avant la seconde squelettisation, cadre que l'on retirera immédiatement après.



L'idée est ensuite de pondérer ce squelette par la distance entre un pixel du dit squelette et le bord du derme. Pour cela on réalise la carte des distances à l'aide de la fonction "distc" de Pink. En effet, on retrouvera sur cette carte le maximum des distances aux bords du derme isolé. Ainsi la multiplication du squelette par la carte des distances va permettre de changer chaque pixel de valeur "1" du squelette par la valeur de distance correspondante à la position du pixel dans la carte des distances. A supposer qu'il existe une "symétrie" du derme de part et d'autre du squelette (sans branches) il suffit de multiplier par 2 l'ensemble des valeurs pondérées du squelette, et faire la moyenne des valeurs différentes de 0 afin d'obtenir l'épaisseur moyenne. Cependant, considérer que le nombre de pixels dont la valeur initiale est 1 avant pondération correspond à sa longueur est juste dans la mesure où ces derniers sont alignés à la verticale ou à l'horizontale. Si les pixels sont "connectés de manière diagonale" cette longueur est plus importante.



pixels connectés verticalement

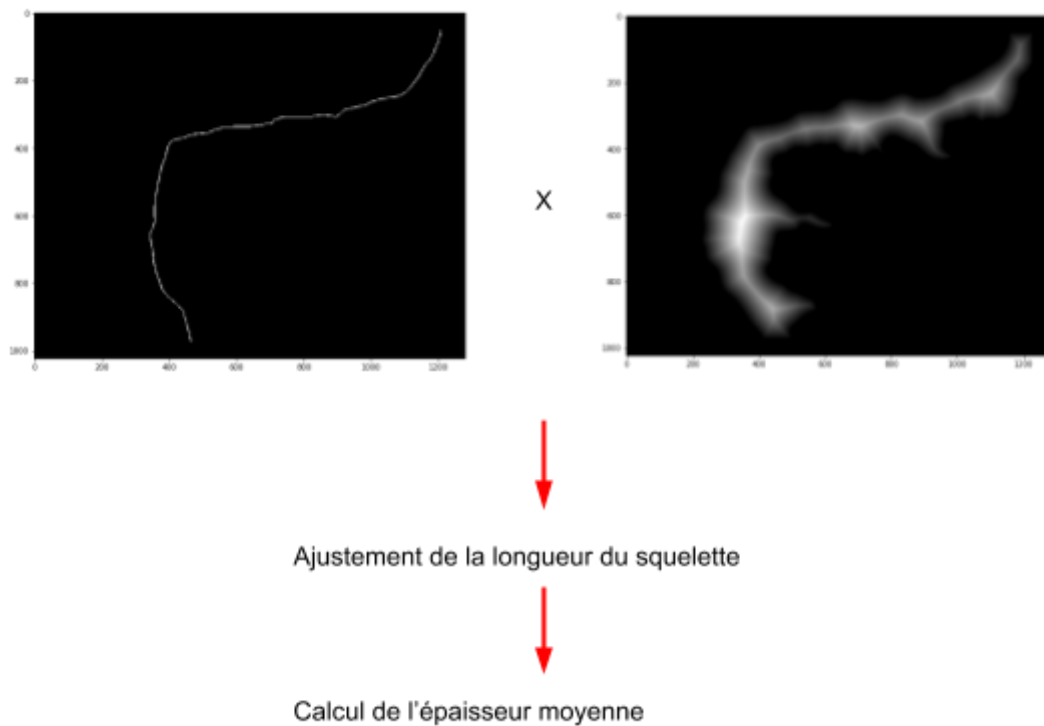


pixels connectés par la diagonale



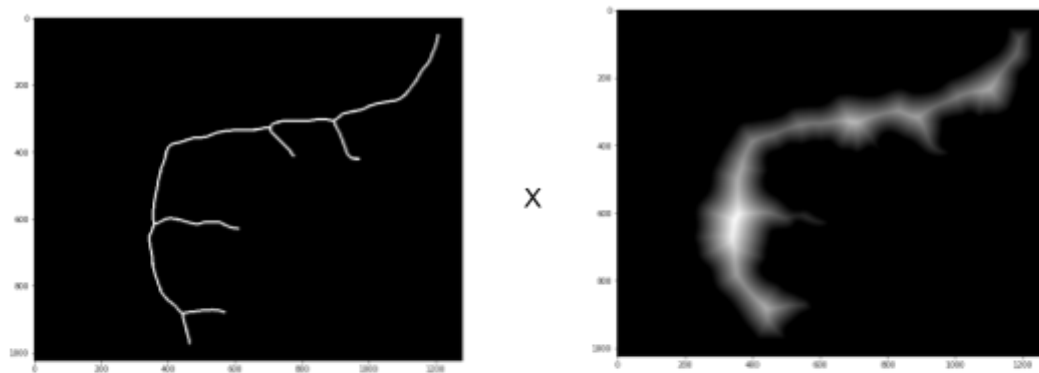
Ici la longueur verte (connexion diagonale) est nécessairement plus importante que la longueur rouge (connexion verticale).

Afin de s'affranchir de ce problème de longueur, nous avons fait le choix de dilater le squelette par une genball de rayon 3. Ainsi la longueur ajustée sera le nombre de pixel de valeur différente de 0, divisé par 7.



Sur ce schéma le squelette a été dilaté afin d'être visible, mais la multiplication par la carte des distance se fait sur le squelette non dilaté.

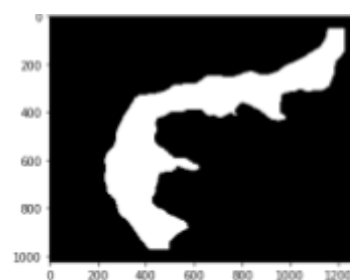
- Mesure 2 : cette seconde mesure va tenir compte des invaginations dans la détermination de l'épaisseur moyenne. L'idée est de travailler sur le squelette complet, avec les "branches" issues des invaginations du derme. Comme précédemment, on procède ensuite à une multiplication du squelette par la carte des distances, puis à une division par la longueur ajustée du squelette sans branches.



Ajustement de la longueur du squelette

Calcul de l'épaisseur moyenne

- Mesure 3 : cette dernière mesure va tenir compte des invaginations dans la détermination de l'épaisseur moyenne. L'idée est de travailler sur le squelette complet, sans les "branches" issues des invaginations du derme. Un calcul de l'aire du derme segmenté est mis en oeuvre par la sommation des pixels de valeur 1. Cette valeur sera ensuite divisée par la longueur ajustée du squelette sans branches.



Calcul de l'aire du derme

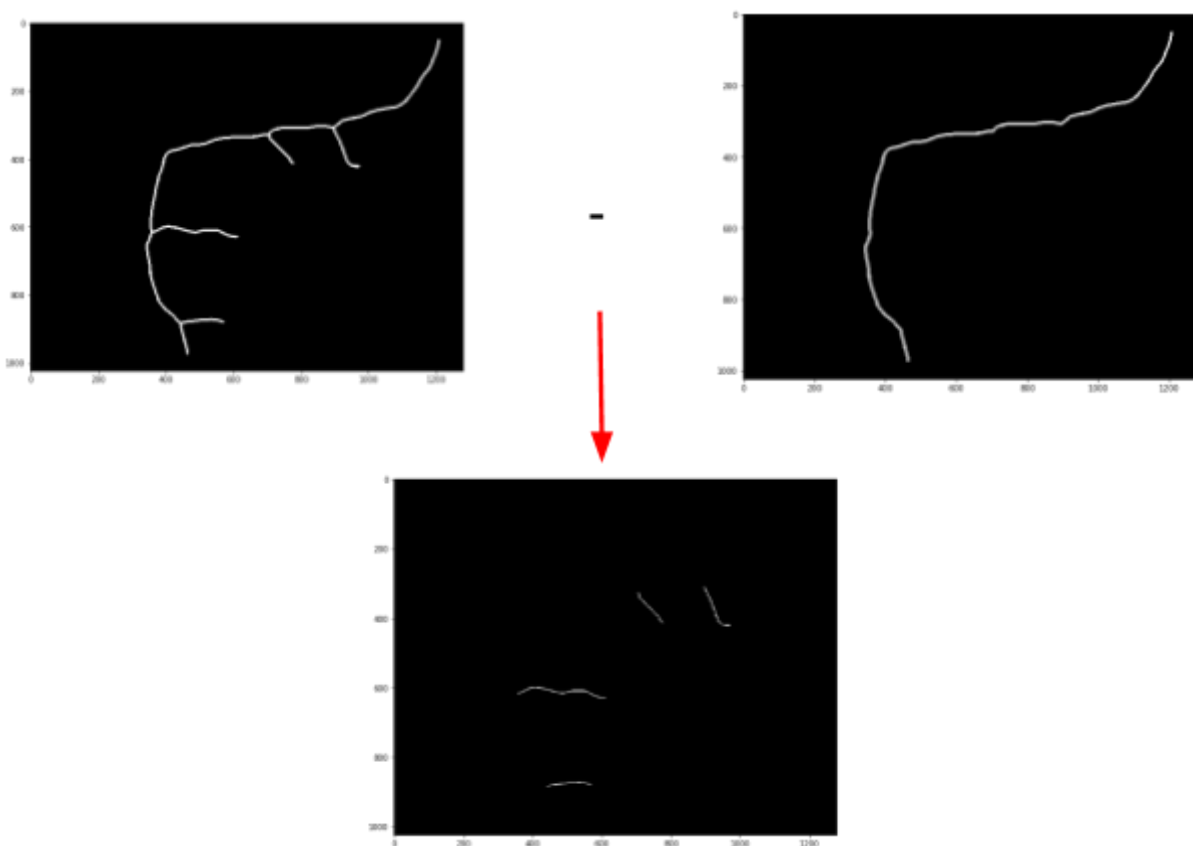
Ajustement de la longueur du squelette

Calcul de l'épaisseur moyenne

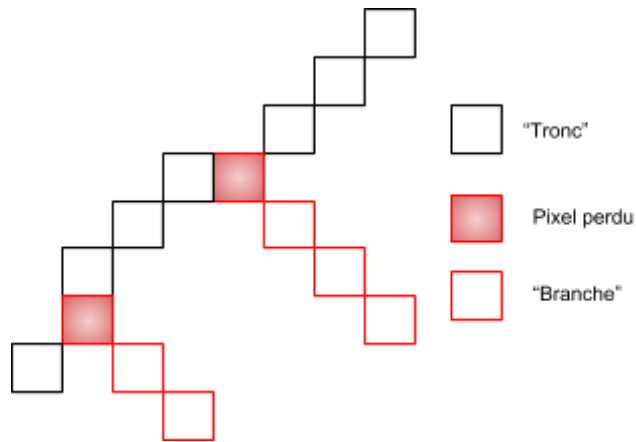
## Mesure de la profondeur des invaginations et calcul du degré d'invagination du derme

La mesure de la profondeur des invaginations présentes dans le derme repose elle aussi sur une analyse du squelette du derme segmenté. Auparavant, nous avons été capables d'extraire la partie "centrale" du squelette en éliminant les branches. Nous souhaitons maintenant récupérer ces branches, que nous allons mesurer afin de déterminer la profondeur maximale parmi l'ensemble des invaginations.

A ce stade l'extraction des branches est triviale, il suffit de soustraire la partie principale du squelette au squelette complet.

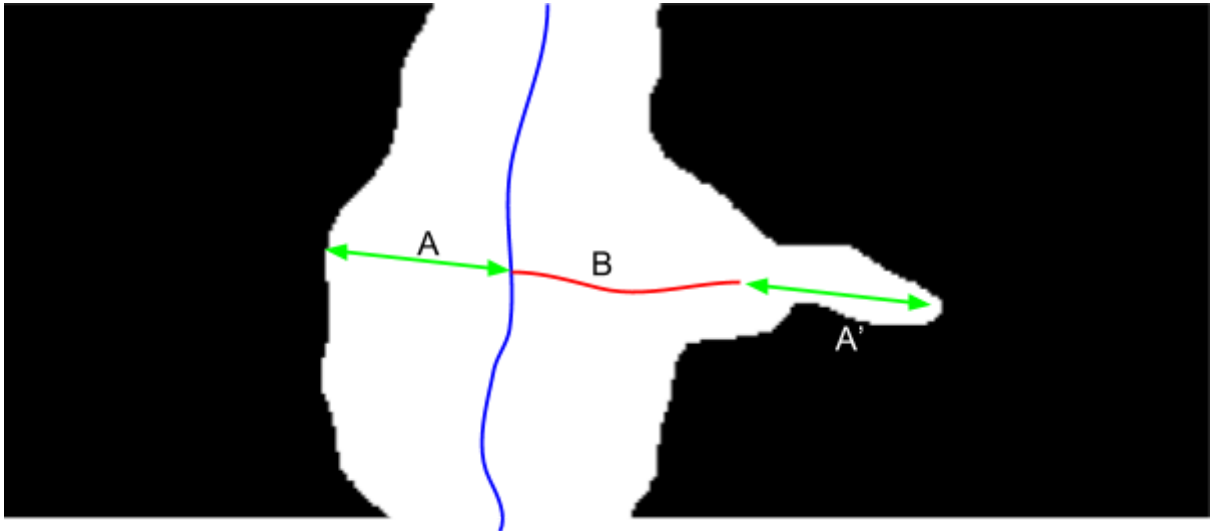


Avant de procéder à un quelconque relevé, il convient de rétablir les branches du squelette dans leur intégralité. En effet, après soustraction du "tronc" du squelette du derme au squelette complet, les points d'embranchements sont éliminés de chacune des branches, comme schématisé ci-dessous :



Ces pixels perdus sont nécessaires pour le calcul du degré d'invagination. Pour se faire, nous avons procédé à une localisation des points triples de l'image du squelette complet, c'est à dire au relevé des position des pixels de valeur 1 ayant 3 voisins. Ces pixels seront donc replacés sur leurs branches respectives.

Nous avons fait le choix de mesurer la profondeur d'invagination comme suit :



Profondeur d'invagination =  $2xA + B$  en considérant que des distances A et A' sont à peu de chose prêt équivalentes.

Afin de mesurer les longueurs de chaque branche (en rouge dans le schéma ci-dessus), on procède à une labellisation de l'image des branches isolées, puis à une dilatation afin de réaliser la mesure de longueur corrigée (division par 7 comme précédemment). Pour mesurer la longueur A (en vert sur le schéma ci-dessus), on réalise un calcul de "distc" au niveau du pixel perdu et ré-attribué à chaque branche.

On ne conservera ensuite que la valeur maximale de profondeur. Cett valeur servira alors à déterminer le degré d'invagination qui n'est autre que le rapport entre l'épaisseur moyenne du derme calculée avec l'une des trois méthodes précédemment explicités et la profondeur maximale parmi les invaginations du derme.

A noter que pour certaines images, la procédure d'automatisation conduit à des cas où le squelette ne peut être déterminé, où les branches sont circulaires. Dans ces cas précis, les

valeurs des mesures sont déclarées comme “Nan” pour ne pas fausser les statistiques ou avoir des valeurs aberrantes. D’autre part, il arrive lors de la procédure de reconstitution des branches, que certains points triples ne soient pas en lien avec les branches. Afin d’éviter une mauvaise recombinaison, on procède à une comparaison des indices de labellisation des branches et points triples afin de s’assurer de la correspondance et de la qualité de la reconstruction.

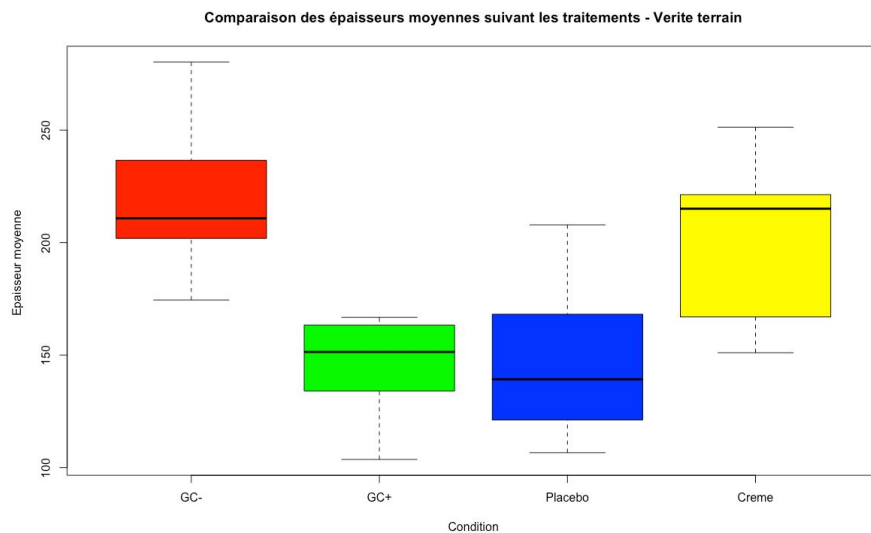
## Exploitation des mesures réalisées

Il convient désormais de s’assurer de la pertinence de nos mesures. Etant donné que les définitions choisies pour la mesure de l’épaisseur moyenne et celle du degré d’invagination ne correspondent pas forcément à celles choisies pour les vérités terrain.

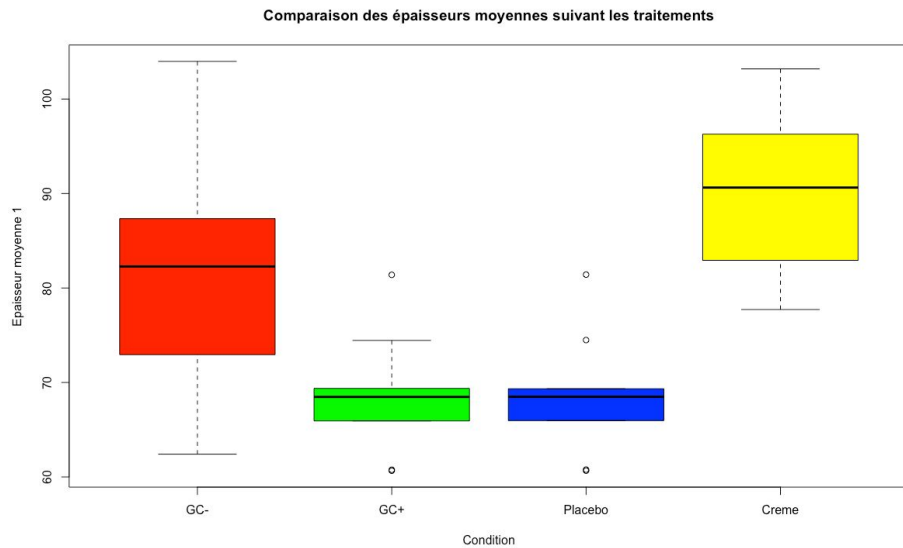
On ne cherchera donc pas à avoir des mesures proches de celles des vérités terrain, mais plutôt à s’assurer de la logique/corrélation entre les mesures réalisées et la vérité terrain/biologique.

### Mesure de l’épaisseur moyenne

- Vérité terrain

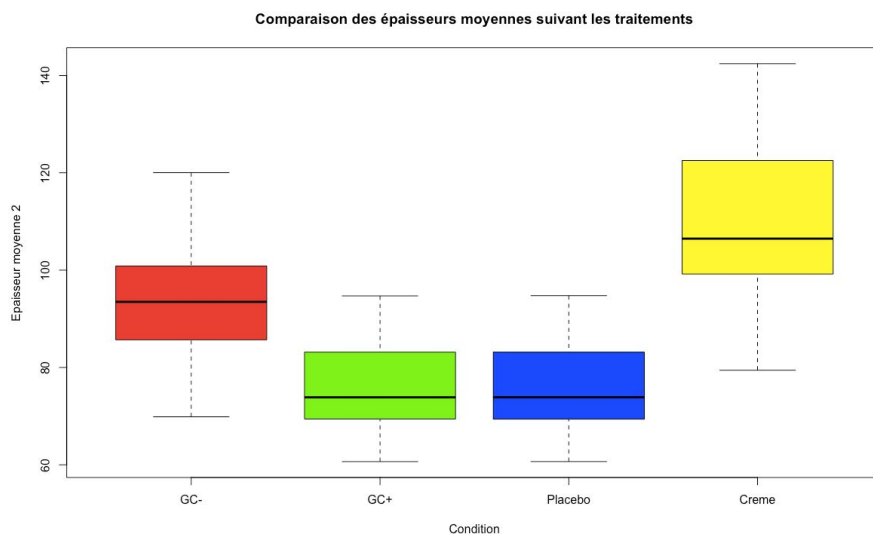


- Méthode 1



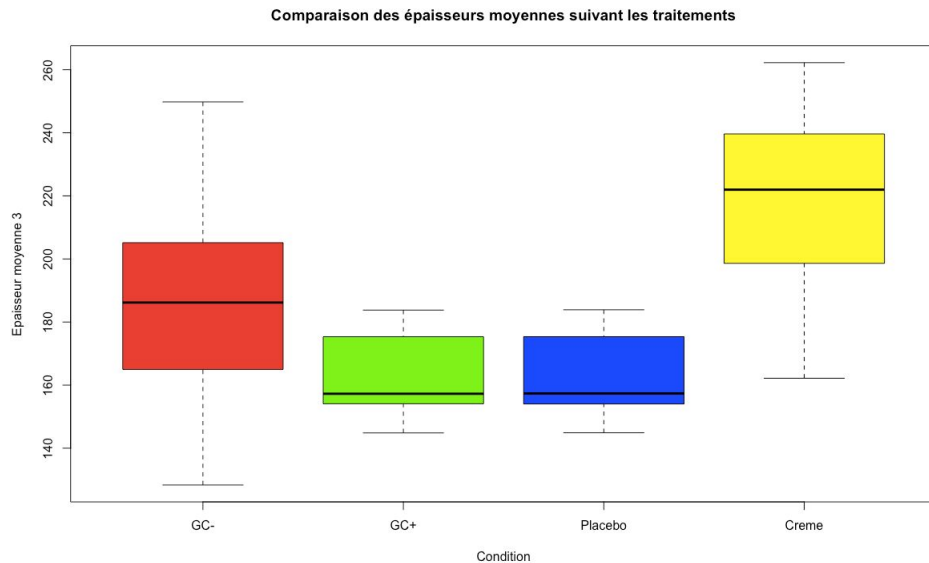
La première méthode de détermination de l'épaisseur moyenne donne de bons résultats. On distingue bien deux groupes avec une valeur d'épaisseur moyenne plus haute, à savoir GC- et le groupe avec crème, ce qui tend à confirmer la "vérité biologique" : l'épaisseur du derme est plus importante sans action de glucocorticoïdes ou dans le cas d'un traitement à la crème rajeunissante. On observe bien une épaisseur moyenne plus basse pour les groupes traités au glucocorticoïdes et glucocorticoïdes + placebo pour lesquels le derme s'est aminci. On remarque que les valeurs relevées sont inférieures aux vérités terrain, mais la tendance/corrélation est bonne et permet la distinction entre les groupes.

- Méthode 2 :



Même conclusion que précédemment, on distingue les deux mêmes groupes. Les mesures tendent à confirmer la réalité biologique et les observations à l'oeil nu. Le groupe GC- se distingue un peu moins bien des groupes GC+ et GC + + Placebo. Toutefois les valeurs restent éloignées de celles données en vérité terrain.

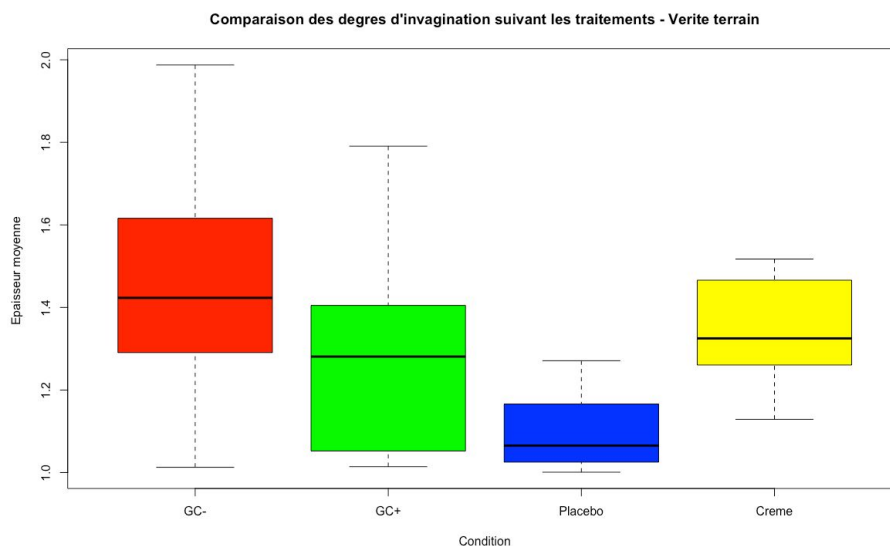
- Méthode 3 :



Même conclusion que précédemment, on distingue les deux mêmes groupes. Les mesures tendent à confirmer la réalité biologique et les observations à l'oeil nu. Le groupe GC- se distingue un peu moins bien des groupes GC+ et GC + + Placebo. Cette fois les valeurs sont proches de celles données en vérité terrain.

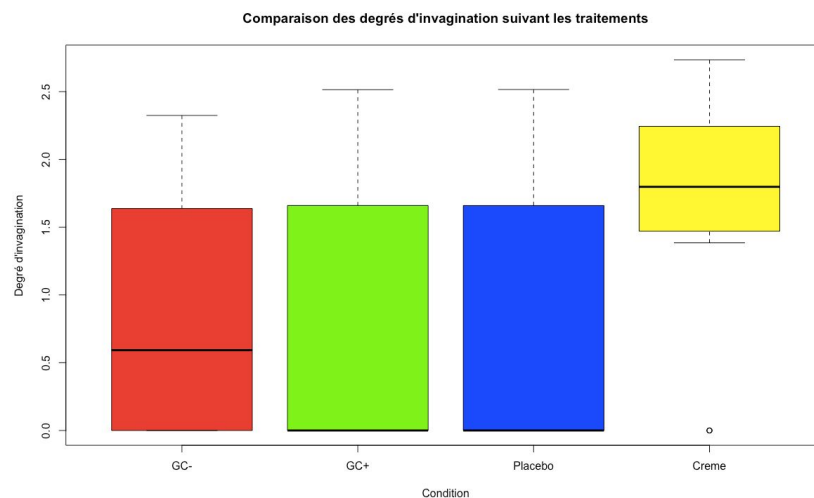
## Degré d'invagination

- Vérité terrain :



L'utilisation du degré d'invagination comme marqueur du vieillissement cutané est moins évidente. Les groupes se distinguent moins qu'avec les épaisseur moyennes. Toutefois on remarque que le degré d'invagination est plus élevé chez les groupes GC- et GC+ + crème, ce qui confirme la "réalité biologique".

- Mesure réalisée :



Au niveau de nos mesures, seul le groupe GC+ + crème se distingue, avec un degré d'invagination plus élevé. Si l'on considère la médiane de ces séries de mesures, le groupe GC- tend à se distinguer lui aussi, moins que GC+ + crème mais reste relativement bas. La corrélation avec la "réalité biologique" est moins évidente.

En regardant dans le détail les mesures réalisées, il s'avère que dans le groupe GC- peu d'images présentent de réelles invaginations. Or nous avons fait le choix de placer le degré d'invagination à 0 dans ces cas de figure. Ainsi il est logique que les statistiques établies pour ce groupe baissent et que la distinction soit moins évidente et que nous nous éloignons de la vérité terrain. Aussi, notre définition du degré d'invagination est probablement différente de celle utilisée pour la vérité terrain et peut expliquer la faible distinction.

## Conclusion

Au cours de ce projet nous avons pu nous rendre compte de la difficulté de l'analyse d'images et du relevé de mesure. Il est important de définir des indicateurs pertinents dès le départ afin d'orienter la stratégie de traitement d'image vers des méthodes adaptées. L'expérience nous aura montré qu'il est plus "facile" de traiter les images au cas par cas, mais que la généralisation du processus en vue d'une automatisation soulève certaines difficultés, notamment dans le choix des éléments structurants pour le traitement en morphologie mathématique ou pour le choix des valeurs seuils dans les étapes de binarisation. Certaines images nécessitent également l'élaboration de stratégies particulières de traitement que nous n'avions pas forcément anticipé.

Concernant nos résultats la distinction des deux groupes, appuyée par la réalité biologique est discutable. Celle-ci est bonne lorsque nous utilisons l'épaisseur moyenne comme marqueur de vieillissement cutané. Cette même distinction par l'utilisation du degré d'invagination est elle moins évidente. Toutefois cette performance moindre peut s'expliquer par le choix de la définition du degré d'invagination qui n'est pas forcément la même que celle utilisée pour l'établissement des vérité terrain, mais aussi par le choix que nous avons



fait de placer les degrés d'invagination à 0 pour les images ne présentant pas d'invaginations.

D'autre part, la volonté d'automatisation du processus, suivant la stratégie choisie, conduit à des choix en terme de paramètres d'éléments structurants et de seuil notamment. Ainsi pour certaines images les résultats obtenus, et notamment les squelettes sur lesquels s'appuie notre réflexion, sont de bonne qualité tandis que dans d'autres, la qualité est plus discutable. Dans un souci d'efficacité, l'automatisation du procédé est une réponse à la volonté de gain de temps, mais peut présenter quelques soucis de robustesse/performances.