

Segmentation d'image par seuillage d'histogramme application à l'analyse des coupes histologiques osseuses

Wafa Abid^{*}, Khaled Taouil^{*}, Tarek Rebai^{**} M^{ed} Salim Bouhlel^{*}

^{*} *l'Unité Sciences Et Technologies de l'Image et des
Télécommunications .ISBS Sfax-Tunisie*

^{**} *Unité de Recherche en Anatomie Histologie Embryologie
à la faculté de médecine de Sfax*

wafa_abid@webmails.com

khaledtaouil@yahoo.com

medsalim.bouhlel@enis.rnu.tn

tarek.rebai@fmsf.rnu.tn

Résumé: L'ostéoporose est définie comme une maladie générale affectant le tissu osseux. Il s'agit d'une diminution de la masse osseuse et d'une altération de la micro-architecture osseuse conduisant à une fragilité excessive des os et à des fractures qui surviennent pour des traumatismes mineurs. Le diagnostic de cette maladie se fait à partir des coupes histologiques osseuses. La segmentation a pour rôle d'extraire de la biopsie osseuse le réseau trabéculaire des espaces médullaires et du tissu ostéoïde. La quantification transforme la coupe histologique à traiter en un ensemble de paramètres numériques qui permettent de donner un diagnostic valide et fiable aux histologistes.

Mots clés: segmentation, seuillage d'histogramme, squelettisation...

1 Présentation médicale :

Parmi les maladies de l'os métaboliques, l'ostéoporose [4] est de loin la plus connue. La maladie est définie par une basse masse de l'os et une détérioration microscopique architecturale du tissu osseux menant à la fragilité de l'os rehaussée. D'une manière clinique, l'ostéoporose est associée à un risque augmenté de fractures des os vertébrales.

L'estimation clinique exacte de la résistance de l'os et du risque fracturaire est importante pour le traitement des ostéopathies tel que l'ostéoporose. Les techniques courantes tel que la densitométrie fournissent des évaluations exactes de la masse de l'os mais ne fournissent pas une évaluation fiable de la résistance de l'os et du risque fracturaire [5]. La constitution et la microarchitecture trabéculaire sont des facteurs importants à considérer dans la détermination de la résistance de l'os [Kle85], sachant que dans le squelette humain, les pièces squelettiques sont constitués par :

- le tissu osseux qui ne représente que 30 à 35% environ du volume global
- les espaces médullaires qui contiennent les cellules de la moelle hématopoïétique et les adipocytes.

Au sein de chaque pièce squelettique, le tissu osseux constitue d'une part les corticales qui limitent et donnent la forme générale de l'os et d'autre part le réseau trabéculaire, interne dont les travées limitent les espaces médullaires, (cf figure1).

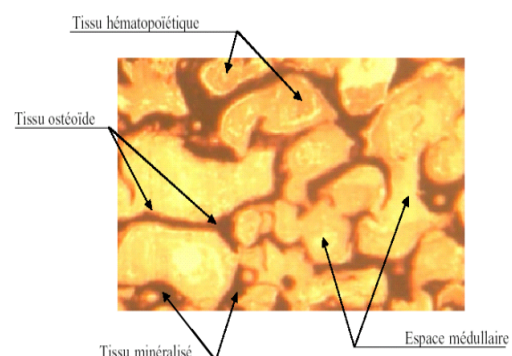


Figure1 . coupes histologiques de l'os iliaque.

Les aspects structuraux, architecturaux et cellulaires du tissu osseux peuvent être étudiés et quantifiés par l'histomorphométrie osseuse. Grâce aux techniques d'analyse d'images, il est possible de déterminer les différents paramètres d'une coupe de tissu osseux

iliaque.

2 Objectifs

L'analyse quantitative d'une biopsie osseuse à partir d'un microscope optique se fait par l'histomorphométrie osseuse [CLBA97]. Cette dernière consiste en une analyse visuelle au microscope de coupes histologiques de l'aile iliaque. Le but de cette étape est de dégager des paramètres quantitatifs permettant d'établir un diagnostic fiable et valide. Cette analyse quantitative manuelle est difficile, fastidieuse, consommatrice de temps et est décrite comme un travail intense, particulièrement complexe et subjectif. Elle est basée sur le comptage des points tombants. Un état d'accoutumance se produit et des erreurs d'inattention peuvent survenir. L'automatisation de tout ou d'une partie de cette analyse facilite le travail et réduit considérablement sa durée.

L'outil informatique peut apporter à l'histologiste dans ce domaine l'assurance de la qualité ainsi qu'une analyse réellement objective. Le rôle d'un tel outil est de fournir au médecin des informations quasi-exactes et à moindre coût sur le contenu de l'image. Ces informations sont extraites par le biais d'une chaîne de processus qui conduit de la perception d'une image, à l'interprétation que l'on en fait, passant nécessairement par les étapes de segmentation et de quantification.

3. Segmentation

Les images ont été numérisées en vraies couleurs en utilisant la chaîne d'acquisition représentée par la figure 2, qui est formée par une caméra CCD installée sur le microscope et reliée à un PC, et ces images sont représentées dans le système couleur RVB avec une résolution de 8 bits par pixel et par composante couleur ce qui correspond à 24 bits par pixel et un codage sur 256 niveaux de chacune des trois composantes R, V et B.

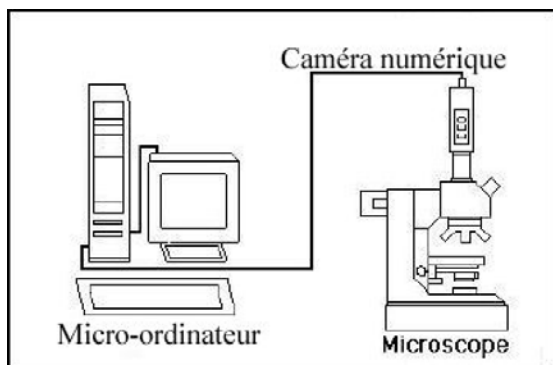


Figure 2 . Chaîne d'acquisition des images.

la segmentation consiste à extraire des zones d'intérêts dans une image. Dans notre cas les coupes osseuses représentent trois régions : le réseau trabéculaire, l'espace médullaire et le tissu ostéoïdes. la principale zone d'intérêt est le réseau trabéculaire et notre objectif consiste à le délimiter de l'espace médullaire et de déterminer aussi précisément que

possible son contour. Celui-ci est généralement net, mais plusieurs cas de coupes histologiques de l'os iliaque présentent une zone floue sur la bordure constituée de pixels ne pouvant être certainement attribués au réseau trabéculaire ou à l'espace médullaire. Ces zones floues sont dues à la confusion entre l'ostéoïdes (appartenant au réseau trabéculaire) et le tissu hématopoïétique présent dans l'espace médullaire.

Nous avons étudié différentes représentations de la couleur tels que les espaces : XYZ, $L^*a^*b^*$, RVB, $L^*u^*v^*$, TSV, I1I2I3 ainsi que différentes méthodes de segmentation basées sur le seuillage d'histogramme tels que l'algorithme Minimum, Intermode, Moments, Entropy, Inter-moyenne Itératives, Inter-moyenne, Triangle.

Nous avons retenu la variable luminance du modèle LST qui représente les niveaux de gris de l'image et la méthode d'Otsu pour la segmentation.

L'algorithme de Inter-moyenne de Otsu cherche à maximiser l'expression suivante :

$$X_j = A_j (A_n - A_j) (\mu_j - v_j)^2 \text{ pour } j=0 \dots n-1 \quad (1)$$

La valeur du seuil t est celle de j qui maximise X_j . Avec

$$\begin{cases} \mu_t = B_t / A_t \\ v_t = (B_n - B_t) / (A_n - A_t) \end{cases}$$

$$A_j = \sum_{i=0}^j h(i) \quad \text{et} \quad B_j = \sum_{i=0}^j i h(i) \quad \text{pour } j = 0, \dots, n :$$

La formulation mathématique de cet algorithme a pour effet de positionner le seuil t au milieu des moyennes des deux classes de l'image.

Nous avons procédé en deux étapes. La première étape divise l'image en deux régions : le réseau trabéculaire et l'espace médullaire.

La seconde étape permet de distinguer le tissu ostéoïdes de l'os calcifier et ces deux régions se trouvent dans le réseaux trabéculaire. puis faire la squelettisation [1] qui a pour définition la représentation d'une forme très utilisée car il conserve les propriétés topologiques de la forme qu'il représente. Il a été introduit pour la première fois par Blum [2] pour l'étude des objets minces. En effet, pour de telles figures, il est certain que l'allure d'une représentation filiforme qui est plus importante. Elle sert à la détermination des différents paramètres nécessaires à la description quantitative du réseau trabéculaire se dégagent à partir de son squelette. Pour cela nous avons appliqué la méthode de squelettisation par amincissement. et par les résultats de segmentation on dégage les paramètres quantitatifs des coupes histologiques osseuses.

4. Paramètres

Les paramètres [3] peuvent être répartis en deux groupes qui sont les paramètres de constitution et les paramètres architecturaux.

4.1 Paramètres de constitution

Ces paramètres sont obtenus par le biais de méthodes stéréologiques.

- Volume trabéculaire osseux (en %) : (BV/TV) il est donné par le rapport de la surface du réseau trabéculaire (BV) et de la surface totale de la coupe (TV).
- Volume ostéoïde (en %) : (OV/BV) il est donné par le rapport de la surface du tissu ostéoïde (OV) et de la surface du réseau trabéculaire (BV).
- surfaces ostéoïdes : (OS/BS) (en %) : elle est donnée par le rapport du périmètre des surfaces ostéoïdes (OS) et du périmètre du réseau trabéculaire (BS) formé par celui du tissu ostéoïde et celui du tissu minéralisé.
- nombre de trabécules : (Tb.N)
- épaisseur moyenne des trabécules (en μm) : (Tb.Th)
- épaisseur moyenne des bordures ostéoïdes (en μm) : (O.Th)
- séparation inter-trabéculaire (en μm) : (Tb.Sp)

Ces quatre derniers paramètres se dégagent à partir des volumes relatifs et des surfaces relatives des trabécules et du tissu ostéoïde en utilisant les formules de Parfitt [Par83].

4.2 Paramètres architecturaux :

- Index d'interconnectivité des espaces médullaires : (ICI).

Ce paramètre est obtenue à partir du résultat issue d'une technique de morphologie mathématique, la squelettisation, permet de réduire une particule (en l'occurrence les espaces médullaires) à une ligne. Sur le squelette ainsi obtenu on peut définir: le nombre total de nœuds (N), les branches reliant deux nœuds (NN), les branches ayant une seule extrémité libre (NF), le nombre d'arbres (T) qui correspondent à des interconnexions de branches. L'index d'interconnectivité est donné par :

$$\text{ICI} = (N * \text{NN}) / (T * (\text{NF} + 1)) \quad (2)$$

- Descriptif du réseau trabéculaire

par une méthode de squelettisation, on peut compter avec précision les différents paramètres suivantes :

- Les extrémités libres (en jaune),
- Les nœuds (en rouge),
- Les segments reliant 2 nœuds (en vert),
- Les segments reliant 1 nœud et 1 extrémité libre (en bleu) et,
- Les segments reliant 2 extrémités libres (en noir).

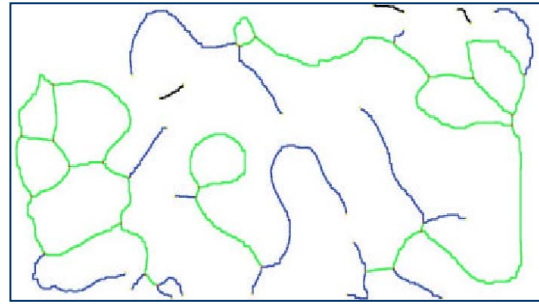


Figure 3 . Descriptif du réseau trabéculaire

- Nombre d'Euler-Poincaré (E) :

Le nombre d'Euler est $E = n - m$.

n : le nombre d'arbres présents dans l'espace trabéculaire.

m : le nombre de cavités médullaires circonscrites par les travées.

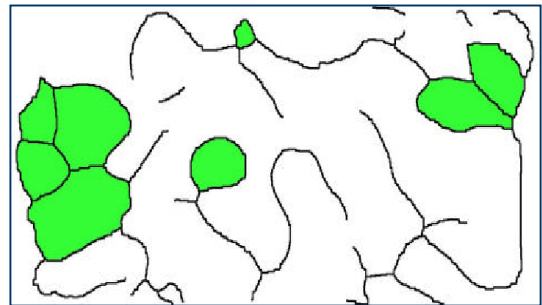


Figure4 . Détermination du nombre d'Euler-Poincaré. Les cavités médullaires circonscrites par les travées sont vertes et les arbres sont noirs.

- Le facteur du modèle trabéculaire (TBPf) :

est obtenue par l'utilisation de la morphologie mathématique. Après la détermination de la surface des travées (B.Ar) et de leur périmètre (B.Pm) à partir d'une image donnée Y, une dilatation de Y est exécutée ($Y + \{x\}$) où $\{x\}$ est un octaèdre utilisé comme élément structurant. Les nouvelles valeurs de la surface et du périmètre (B.Ar2 et B.Pm2) sont mesurées. TBPf est défini comme:

$$\text{TBPf} = (B.Pm - B.Pm2) / (B.Ar - B.Ar2) \quad (3)$$

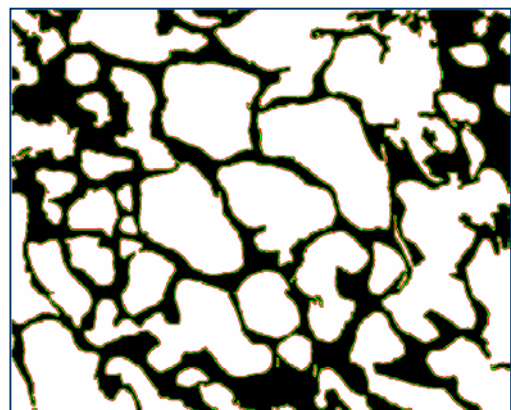
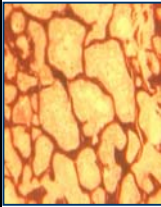
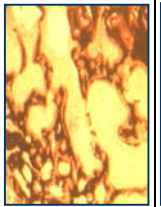
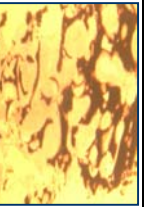
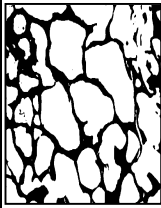


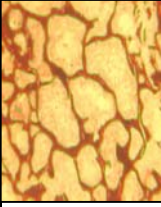
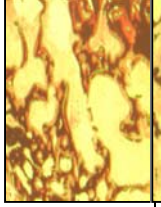
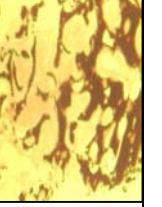
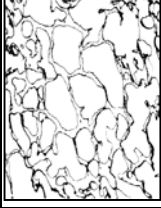


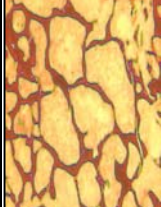
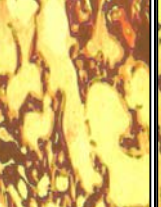
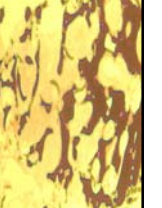


Figure 5 . Détermination du TBPf. Le premier périmètre est vert et le périmètre après dilatation est rouge

5. Résultats

Tableau1 . Résultats de segmentation par seuillage d'histogramme.

	Image1	Image2	Image3
Image original			
Binarisation par Otsu			
Superposition du contour sur l'image original			
Extraction du tissu ostéoïde			
Superposition du contour sur l'image original			

A partir des résultats obtenus on peut calculer les paramètres suivantes :

Tableau 2 . Valeurs de quelques paramètres de constitution

	Volume trabéculaire (en %)	Volume ostéoïde (en %)	Surface ostéoïde (en %)
Image 1	29.63	35.2	49.78
Image 2	41.37	46.36	48.49
Image 3	23.27	24.43	48.18

Image 4	21.75	23.64	46.04
Image 5	39.62	51.47	47.24
Image 6	38.44	26.06	47.84
Image 7	55.28	36.97	38.44
Image 8	38.14	44.26	48.23
Image 9	22.26	31.31	49.16
Image 10	40.17	44.63	46.72
Image 11	28.84	32.72	47.05
Image 12	34.69	33.01	48.19
Image 13	37.78	18.93	45.95
Image 14	29.56	32.35	50.34
Image 15	38.27	53.6	42.72
Image 16	61.04	28.71	38.23
Image 17	36.54	26.27	50.06
Image 18	32.10	39.88	48.81
Image 19	17.27	16.19	45.49
Image 20	36.50	57.63	48.31
Image 21	22.60	28.06	50.42
Image 22	52.76	43.87	40.42
Image 23	30.11	31.37	50.97
Image 24	16.96	23.08	47.95
Image 25	18.34	20.45	45.72

Conclusion

Les résultats de la segmentation et de la quantification semblent satisfaisants et prometteurs. Ils permettent de bien extraire le réseau trabéculaire des espaces médullaires de manière complémentaire. Mais on a la difficulté de prendre l'image de la biopsie en totalité avec une résolution spatiale suffisante pour que l'image ne paraisse pas floue. Aussi on a intérêt à chercher la possibilité de partager l'image par exemple en 4 parties et d'extraire de chaque partie les différents paramètres. Ces paramètres seront regroupés et comparés à ceux obtenus à partir de l'image entière avec une résolution moins importante.

Références

- [1] S. Beucher, Digital skeleton in Euclidean and geodesic spaces. *Signal Processing*, 38: 127-141. 1994
- [2] H. Blum, A transformation for extracting new descriptors of shape. In *Models for perception of speech and visual form* : 362-380. 1967
- [3] D. Chappard, M. F. Basle, Le tissu osseux trabéculaire, *3èmes Journées du Collège Universitaire et hospitalier des Histologistes, Embryologistes, Cytologistes et Cytogénétiiciens Dourdan*, Mars 1998.
- [4] D. Chappard, E. Legrand, M. Audran, Suivi de l'ostéoporose par l'évaluation de la microarchitecture, *La Lettre du Rhumatologue* - n° 293 - juin 2003, Inserm EMI 0335, LHEA, Faculté de médecine Angers.
- [5] Cummings S. R. et al. Bone density at various sites for prediction of hip fracture. *Lancet*, 341, 72-5, 1993.
- [Kle85] Kleerekoper M. et al. The role of three dimensional trabecular microstructure in the pathogenesis of vertebral compression fracture. *Calcif Tissue Int*, 37, 594-7, 1985.
- [Lan80] C. Lantuéjoul, Skeletonization in Quantitative Metallography, in *Issues of Digital Image Processing*, R.M. Haralick and J.C. Simon, Editors. 1980,
- [Le92] Le H. M. et al. computed quantitative analysis of the interconnectivity of porous biomaterials. *Acta Stereol*, 11 S1, 267-72, 1992.
- [Lev85] M.D. Levine., *Vision in Man and Machine*. McGraw-Hill, New York, 1985.
- [Ots78] N. Otsu., "A threshold selection method from gray-level histogram". *IEEE Trans.Systems Man Cybernet.* SMC-8, 62-66, 1978.
- [Par83] Parfitt A. M. et al. Relationships between surface, volume and thickness of iliac trabecular in aging and in osteoporosis. Implications for the microanatomic and cellular mechanisms of bone loss. *J Clin Invest*, 72, 1396-409, 1983.
- [Tou87] J.J TOUMAZET, traitement de l'image sur micro-ordinateur, Sybex 1987
- [Tou90] J.J TOUMAZET, Traitement d'image par l'exemple, Sybex 1990.