UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

ÉCOLE DOCTORALE 269
Mathématique, sciences de l'information et de l'ingénieur
Laboratoire ICube UMR 7357

T H È S E présentée par

Romain PERRIN

soutenue le 23 septembre 2024

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université de Strasbourg**
Discipline : **Informatique**

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

THÈSE dirigée par :

M. WEMMERT Cédric	PR, Université de Strasbourg
M. NAEGEL Benoît	PR, Université de Strasbourg

THÈSE encadrée par :

M^me^ LEBORGNE Aurélie	MCF, Université de Strasbourg

RAPPORTEURS :

M^me^ MARCOTEGUI Béatriz	PR, Mines Paristech
M. KURTZ Camille	PR, Université Paris Cité

EXAMINATEURS :

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

Remerciements

Un grand merci à Benoît Naegel et Cédric Wemmert mes deux directeurs de thèse ainsi qu'à Aurélie Leborgne pour leur accompagnement constant, leur soutient et leurs précieux conseils prodigués tout au long de ces quatre années. Merci à Cédric Wemmert, mon directeur de thèse, qui m'a pleinement initié au monde de la recherche. Merci à Benoît Naegel, mon co-directeur de thèse, avec qui j'ai découvert la morphologie mathématique lorsque j'étais étudiant en Master.

Un grand merci à Germain Forestier et Vincent Noblet pour leur soutient, leurs critiques ainsi que leurs conseils prodigués pendant les comités de suivi de thèse. Un grand merci à Camille Kurtz et Béatriz Marcotegui qui ont accepté de rapporter ma thèse. Un grand merci à Stéphanie Bricq, Vincent Noblet et Nicolas Passat qui ont accepté de faire partie de mon jury de thèse en tant qu'éxaminateurs.

Un grand merci à Nicolas Passat avec qui j'ai eu le privilège de travailler et de publier sur la structure d'arbre des coupes multi-échelle, la principale contribution de cette thèse, et avec qui j'ai eu le plaisir d'échanger lors de certaines conférences. Un grand merci au Dr. Gerlinde Lang-Avérous, pathologiste aux Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ainsi qu'aux internes Sylvain Mayeur et Arthur Bénédic qui m'ont initié à l'histologie et avec qui nous avons développé un score immunitaire adapté au cancer du pancréas.

Un bonjour amical à toute l'équipe du département d'informatique de l'IUT Robert Schuman où j'ai le plaisir d'enseigner et de m'épanouir depuis ma première année de thèse et où je travaille actuellement comme ATER. Plus particulièrement, merci à Pierre Gançarski, Julien Gossa, Michelle Klœss, Adrien Krähenbühl, Étienne Le Quentrec, Romain Ohrand, Véronique Richard et Mathieu Zimmermann.

Un bonjour amical à l'Association des Jeunes Chercheurs de l'ICube (AJCI) dont j'ai eu l'honneur d'être le secrétaire pendant un an et qui m'a permis de faire des rencontres fort sympathiques. En particulier, merci à Samuel Berthe, Léo Coulon, Éléonore Dufresne, Thibaut Eloy, Alexandre Stenger et Luc Vedrenne.

J'ai une pensée pour Philippe Haubenestel et Christophe Marchant, mes professeurs de mathématiques au lycée Marcel Rudloff, qui m'ont fait découvrir l'informatique et sans qui je ne serais probablement pas en train d'écrire ces lignes. Enfin, un grand merci à ma famille qui m'a soutenu tout au long de cette thèse et qui a dû supporter mes nombreuses tentatives de vulgarisation informatique.

Table des matières

I Morphologie mathématique et structures hiérarchiques 12

1 Notions de base et algorithmes en morphologie mathématique 13
- 1.1 La morphologie mathématique . . . 13
- 1.2 La morphologie ensembliste . . . 14
  - 1.2.1 Les opérateurs de base . . . 14
  - 1.2.2 Les opérateurs composés simples . . . 17
  - 1.2.3 Les autres opérateurs composés . . . 19
  - 1.2.4 Les reconstructions géodésiques . . . 19
- 1.3 La morphologie fonctionnelle . . . 24
  - 1.3.1 Les opérateurs de base . . . 25
  - 1.3.2 Les opérateurs composés . . . 27
  - 1.3.3 Les reconstructions géodésiques . . . 31
  - 1.3.4 La morphologie plate . . . 32

2 Les structures hiérarchiques 36
- 2.1 Motivations . . . 36
- 2.2 Les familles de représentations de l'image . . . 37
- 2.3 Les représentations de l'image . . . 38
  - 2.3.1 La représentation sous forme de graphes . . . 39
  - 2.3.2 La manipulation des composantes d'une image . . . 41
- 2.4 Les hiérarchies . . . 42
- 2.5 Les hiérarchies d'inclusion et de partitionnement . . . 43
  - 2.5.1 Les arbres d'inclusion . . . 43
  - 2.5.2 Les arbres de partitionnement . . . 44
  - 2.5.3 L'indexation des hiérarchies . . . 45
- 2.6 Les structures hiérarchiques monovaluées . . . 46
  - 2.6.1 L'arbre des coupes . . . 46
  - 2.6.2 L'arbre des formes . . . 49

2.6.3 L'arbre de partitionnement binaire 50
2.6.4 L'α-arbre 53
2.6.5 L'(ω)-arbre 55
2.6.6 L'hyperarbre des coupes 58
2.7 Les structures hiérarchiques et le cas des images multivaluées 59
2.7.1 Le traitement marginal 60
2.7.2 Le traitement vectoriel 60
2.8 Les structures hiérarchiques multivaluées 61
2.8.1 Le graphe des coupes 61
2.8.2 L'arbre des coupes multivalué 63
2.8.3 L'arbre des formes multivalué 64
2.9 Conclusion 65

3 Le MSCT : un arbre des coupes multi-échelles 67
3.1 Motivations 67
3.2 L'arbre des coupes multi-échelles 69
3.2.1 Le principe général 69
3.2.2 L'algorithme général de construction 70
3.3 La construction détaillée d'un MSCT 71
3.3.1 Le processus de sous-échantillonnage 72
3.3.2 La hiérarchie globale 72
3.3.3 Le processus de sur-échantillonnage 73
3.3.4 Le choix des nœuds d'intérêt 74
3.3.5 Le calcul des arbres des coupes partiels 75
3.3.6 La fusion des hiérarchies partielles et totales 76
3.3.7 Le MSCT totalement enrichi 83
3.4 Complexité algorithminque 84
3.4.1 Complexité temporelle 84
3.4.2 Complexité spatiale 85
3.4.3 Les mesures avec des images synthétiques 85
3.5 Conclusion 90

II Traitement d'images histologiques 91

4 Cancer, histologie et imagerie 92
4.1 Introduction 92
4.2 Les cancers en France métropolitaine 93
4.3 Un cas d'étude : le pancréas 94

4.3.1 Le pancréas . . . 94
4.3.2 Les cancers du pancréas . . . 95
4.3.3 Le diagnostic et les traitements . . . 96
4.4 L'histologie . . . 97
4.4.1 La préparation des lames histologiques . . . 97
4.4.2 Le principe de la coloration immunitaire . . . 98
4.4.3 L'immunohistochimie (IHC) . . . 100
4.4.4 L'immunofluorescence (IF) . . . 102
4.4.5 Le multiplexing . . . 103
4.5 Le micro-environnement tumoral (MET) . . . 105
4.6 État de l'art des méthodes de segmentation cellulaire en histologie . . . 108
4.6.1 L' imagerie histologique classique « uniplexing » . . . 108
4.6.2 L'imagerie histologique multiple « multiplexing » . . . 109
4.7 État de l'art des représentations graphiques du micro-environnement tumoral 111
4.8 Les jeux de données utilisés . . . 114
4.8.1 Le jeu de données HUS . . . 114
4.8.2 Le jeu de données ROCHE . . . 117
4.8.3 Le jeu de données MI*EDGE . . . 119
4.8.4 Le jeu de données KAGGLE . . . 119

5 La définition d'un immunoscore pour la caractérisation de l'infiltrat immunitaire dans le cancer du pancréas 121
5.1 La définition d'un imunoscore adapté au pancréas . . . 121
5.1.1 Le principe général . . . 121
5.1.2 L'algorithme de quantification nucléique . . . 122
5.1.3 L'extraction du signal nucléique . . . 123
5.1.4 Le filtrage morphologique du signal . . . 125
5.1.5 La quantification nucléique . . . 125
5.1.6 L'estimation surfacique du tissu . . . 127
5.1.7 La définition d'un immunoscore . . . 128
5.2 La qualification de l'infiltrat immunitaire dans le cancer du pancréas . . . 129
5.2.1 Les objectifs de l'étude . . . 129
5.2.2 Le protocole de traitement . . . 129
5.2.3 La définition d'un immunoscore avec QuPath . . . 130
5.2.4 Les résultats et perspectives . . . 132

6 La segmentation cellulaire avec le modèle ColorAE-UNet 143
6.1 Motivations . . . 143
6.2 Le modèle ensembliste ColorAE-UNet . . . 144
6.2.1 Le sous-modèle ColorAE . . . 146
6.2.2 Le sous-modèle U-Net . . . 146
6.2.3 Le modèle ensembliste . . . 147
6.3 Les paramètres de l'expérimentation . . . 147
6.3.1 Les vecteurs de référence . . . 147
6.3.2 Les annotations finales . . . 149
6.3.3 Les paramètres d'entraînement **ROCHE** . . . 150
6.3.4 Les paramètres d'entraînement **MI*EDGE** . . . 150
6.4 Les résultats de l'expérimentation . . . 151
6.4.1 Le jeu de données **ROCHE** . . . 151
6.4.2 Le jeu de données **MI*EDGE** . . . 154
6.5 Conclusion . . . 156

7 La segmentation d'images histologiques à partir du MSCT 157
7.1 Motivations . . . 157
7.2 L'algorithme de segmentation . . . 158
7.2.1 La sélection des nœuds de l'arbre . . . 158
7.2.2 La simplification du MSCT . . . 160
7.2.3 Le filtrage des nœuds des sous-arbres simplifiés . . . 160
7.2.4 La séparation en objets individuels . . . 161
7.3 L'amélioration de l'algorithme de segmentation . . . 162
7.4 La segmentation cellulaire sur **KAGGLE** . . . 164
7.5 Conclusion . . . 168

8 La segmentation et la classification d'images histologiques multiplex à partir du MSCT 169
8.1 Motivations . . . 169
8.2 La segmentation cellulaire . . . 170
8.3 La construction de vecteurs de caractéristiques . . . 171
8.4 La classification des cellules . . . 174
8.5 La segmentation et la classification des noyaux sur le jeu de données **MI*EDGE** . . . 174
8.5.1 Les résultats de segmentation . . . 174
8.5.2 Les résultats de classification . . . 175
8.6 Conclusion . . . 177

9 La définition d'un graphe du MET à partir du MSCT **178**
9.1 Motivations 178
9.2 La construction du graphe du MET 178
9.2.1 La segmentation des noyaux 178
9.2.2 La classification des noyaux 179
9.2.3 La construction du graphe 179
9.3 Discussion 183
9.4 Conclusion 183

Table des figures

1.1 Exemple de dilatation morphologique sur une image binaire. 15
1.2 Exemple d'érosion morphologique sur une image binaire. 16
1.3 Exemple d'ouverture morphologique sur une image binaire. 17
1.4 Exemple de fermeture morphologique sur une image binaire. 18
1.5 Exemple de transformée tout-ou-rien sur une image binaire. 20
1.6 Exemple de reconstruction géodésique par dilatation sur une image binaire. 21
1.7 Exemple de reconstruction géodésique par érosion sur une image binaire. 22
1.8 Exemple d'ouverture par reconstruction sur une image binaire par une boule unitaire en 4-connexité. 23
1.9 Exemple de fermeture par reconstruction sur une image binaire par une boule unitaire en 4-connexité. 24
1.10 Illustration de l'ombre $U(F)$ d'une courbe F. 27
1.11 Exemple de dilatation plate. 28
1.12 Exemple d'érosion morphologique plate par un élément structurant non symétrique. 29
1.13 Exemple de dilatation morphologique plate par un élément structurant non symétrique. 29
1.14 Exemple de dilatation et d'érosion plates sur une courbe complexe. . . . 30

2.1 Illustration des hiérarchies de partitionnement et d'inclusion. 44
2.2 Illustration d'arbres des coupes (*min-tree* et *max-tree*). 47
2.3 Illustration de l'arbre des formes. 49
2.4 Illustration de l'arbre de partitionnement binaire. 51
2.5 Illustration d'un α-arbre. 54
2.6 Illustration d'un (ω)-arbre. 56
2.7 Illustration d'un graphe des coupes. 62
2.8 Illustration de la construction d'un arbre des coupes multivalué. 64
2.9 Illustration de la construction d'un arbre des formes multivalué. 66

3.1 Illustration du principe de construction du MSCT. 70
3.2 Illustration du sous-échantillonnage par application de la stratégie maximale de *max-pooling*. 73
3.3 Illustration du processus de sous-échantillonnage de l'image. 73
3.4 Illustration du calcul de stabilité MSER sur les nœuds d'un MSCT. . . . 76
3.5 Illustration de l'algorithme 2. 77
3.6 Illustration du calcul d'un *max-tree* partiel. 78
3.7 Illustration du principe de fusion des *max-trees* partiels avec le MSCT. . 83
3.8 Illustration d'images synthétiques utilisées pour évaluer les performances du MSCT. 87
3.9 Illustration des différences temporelles du MSCT et du *max-tree*. 88
3.10 Illustration des différences spatiales entre le MSCT et le *max-tree*. 89

4.1 Illustrations de l'anatomie du pancréas. 95
4.2 Illustration d'images colorées par IHC et IF. 99
4.3 Illustration d'un tissue microarray (TMA). 100
4.4 Illustration des techniques d'IHC. 101
4.5 Illustration des techniques d'IF. 102
4.6 Illustration d'images *multiplex*. 103
4.7 Illustration de la composition du micro-environnement tumoral. 106
4.8 Illustration des élements constitutifs du MET du pancréas. 107
4.9 Illustration de la composition de la cohorte **HUS** et durées de survie des groupes $\mathbf{HUS_{adj}}$ et $\mathbf{HUS_{adj}}$. 115
4.10 Exemple d'images multiplex issues du jeu de données **ROCHE**. 118
4.11 Exemple d'images multiplex issues du jeu de données **MI*EDGE** 120
4.12 Exemple d'images issues du jeu de données **KAGGLE** 120

5.1 Exemple de déconvolution des couleurs par la méthode de Ruifrok et Johnston [201]. 124
5.2 Exemple de filtrage morphologique sur le signal DAB. 126
5.3 Exemple d'estimation de quantification nucléique sur une image H&E. . 127
5.4 Exemple d'estimation de la surface du tissu sur un punch complet en H&E. 128
5.5 Exemple de quantification nucléique avec QuPath [15]. 131
5.6 Moyennes des immunoscores sur la cohorte **HUS**. 133
5.7 Moyennes des immunoscores morphologiques sur les deux sous-cohortes $\mathbf{HUS_{adj}}$ et $\mathbf{HUS_{nadj}}$. 135
5.8 Moyennes des immunoscores morphologiques sur les trois groupes de survivants **HUS**. 139

5.9 Courbes de survie (Kaplan-Meier) pour les marqueurs CD3, CD4 et CD8 avec les deux scores immunitaires. 140

6.1 Illustration du modèle ensembliste ColorAE-UNet. 145
6.2 Illustration des vecteurs représentatifs pour le jeu de données **ROCHE**. . 148
6.3 Illustration du principe de construction des annotations **ROCHE** et **MI*EDGE**. 149
6.4 Illustration des seuillages appliqués en sortie du modèle pour les images de **ROCHE**. 152
6.5 Exemples de segmentations par ColorAE-UNet sur **ROCHE**. 153
6.6 Exemples de segmentations par ColorAE-UNet sur **MI*EDGE**. 155

7.1 Illustration de la procédure de simplification d'un sous-arbre du MSCT. . 160
7.2 Illustration des méthode de *watershed* (algorithme 8) et *watershed + DTECMA* (algorithme 9). 163
7.3 Illustration de reconstructions à partir du MSCT. 165
7.4 Illustration de segmentations MSCT sur **KAGGLE**. 166
7.5 Illustration des scores de segmentation IoU sur **KAGGLE**. 167

8.1 Illustration de segmentation MSCT sur **MI*EDGE**. 171
8.2 Illustration des masques de segmentation du canal *DAPI*. 172
8.3 Illustration des projections des masques de segmentation sur les canaux des images de **MI*EDGE**. 173
8.4 Illustration des segmentations du canal *DAPI* de **MI*EDGE** avec vérités terrain. 175
8.5 Illustration des performances de classification binaire des cellules de **MI*EDGE** à partir des vecteurs de caractéristiques. 176

9.1 Illustration des RCC8. 181
9.2 Illustration du graphe du MET proposé. 182

Introduction générale

Les images numériques font désormais partie intégrante de notre vie quotidienne. L'humanité produit une quantité phénoménale d'images de toutes formes, tailles, modalités, *etc*. Avec les progrès technologiques, nous produisons à un rythme croissant, des images aux tailles, richesses, modalités et complexités toujours plus élevées.

Dans ce contexte, le domaine médical est source de nombreuses modalités d'images et leur interprétation est une tâche critique nécessitant des spécialistes expérimentés. En effet, l'imagerie médicale utilise diverses techniques pour acquérir des images telles que l'utilisation de champs magnétiques comme l'imagerie par résonance magnétique (IRM) ou la magnétoencéphalographie (MEG), la radioactivité comme la tomographie d'émission monophotonique (TEMP/SPECT) ou la tomographie par émission de positons (TEP/PET), les rayons X comme la radiographie ou l'imagerie volumétrique par faisceau conique (Cône beam), les ultrasons comme l'échographie ou encore les différentes modalités d'images microscopiques.

Plus particulièrement, l'**histologie** s'intéresse aux tissus et aux cellules les composant (cytologie). Dans ce contexte où de grandes images sont quotidiennement produites et analysées afin de diagnostiquer des cancers, le traitement automatisé par un ordinateur devient de plus en plus concret et ce, notamment grâce à l'avènement de l'**apprentissage profond**. Cependant, la mise en place de méthodes d'apprentissage profond implique l'élaboration de segmentations de référence (annotations) difficiles à obtenir de manière fiable de part la grande variation inter-observateur existante entre les spécialistes et la quantité de données à traiter.

Dans ce contexte particulier où les propriétés intrinsèques des objets cellulaires forment la base de leur analyse par les pathologistes, la **morphologie mathématique** peut produire des outils efficaces et robustes, plus proches du travail manuel effectué par les pathologistes et plus interprétables car ne souffrant pas de la nature *boîte noire* des méthodes d'apprentissage profond.

Cette thèse explore la définition de nouveaux outils de morphologie mathématique, et plus particulièrement des structures dites **morphologiques hiérarchiques** pour traiter ces images histologiques (représentation, segmentation, classification). Elle aboutit à la définition d'une nouvelle structure morphologique hiérarchique baptisée **arbre des coupes multi-échelles** (ou MSCT de l'anglais *multi-scale component-tree*), inspirée de l'arbre des coupes (plus spécifiquemment du *max-tree*) et incluant dans sa construction, une **dimension multi-échelles sur le plan spatial**. Les possibilités offertes par cette nouvelle structure sont illustrées par plusieurs **applications** (quantification cellulaire, segmentation et classification) qui aboutissent, ensemble, à la définition d'une stucture de **graphe** servant à caractériser l'agencement spatial des cellules composant le micro-environnement tumoral.

Après une introduction générale, ce manuscrit est organisé en deux grandes parties. La partie I concerne les développements théoriques en morphologie mathématique. Le chapitre 1 introduit les notions de base en morphologie mathématique, de la morphologie ensembliste à la morphologie fonctionnelle, en passant par la morphologie plate. Le chapitre 2 détaille les structures morphologiques hiérarchiques les plus courantes, d'abord définies sur les images monovaluées (chapitre 2.6), puis leurs extensions aux images multivaluées (chapitre 2.7). Le chapitre 3 définit la structure d'arbre des coupes multi-échelles (abrégé MSCT), une nouvelle structure morphologique hiérarchique inspirée de l'arbre des coupes, et qui est la contribution théorique principale de cette thèse.

La partie II concerne le traitement des images médicales, et plus spécifiquement des images histologiques. Le chapitre 4 introduit les notions d'histologie, de marquages immunitaires (section 4.4), de micro-environnement tumoral (section 4.5), donne des états de l'art des méthodes de segmentation cellulaire (section 4.6) et de représentation du micro-environnement tumoral sous forme de graphes (section 4.7) et introduit les jeux de données utilisés pour les applications suivantes (section 4.8). Les chapitres suivants décrivent des contributions applicatives en traitement d'images histologiques. Le chapitre 5 détaille la définition d'un score immunitaire adapté au cancer du pancréas et son application au sein d'une cohorte des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg. Le chapitre 6 décrit l'application d'un modèle d'apprentissage profond ensembliste sur des images histologiques multiplex à des fins de segmentation cellulaire. Le chapitre 7 décrit une nouvelle méthode de segmentation cellulaire basée sur l'application du MSCT dans un contexte d'imagerie histologique classique. Le chapitre 8 décrit une nouvelle méthode de segmentation et de classification cellulaire basée sur l'application du MSCT dans un contexte d'imagerie histologique multiplex. Le chapitre 9 décrit une nouvelle proposition de construction d'un graphe représentatif du micro-environnement tumoral basée sur les applications précédentes du MSCT avant la conclusion générale.

Cette thèse a fait l'objet de plusieurs publications aux audiences nationales et internationales. La définition de la structure morphologique, hiérarchique et multi-échelles d'arbre des coupes multi-échelles et ses procédures de construction et de segmentation ont été présentées lors de la conférence internationale **DGMM** (Discrete Geometry and Mathematical Morphology) à Florence (Italie) en 2024 [183]. Nous avons étendu ces travaux en proposant une nouvelle approche de segmentation et de classification cellulaire à partir du MSCT sur des images histologiques *multiplex* qui a été présentée lors de la conférence nationale **IABM** (Colloque Français d'Intelligence Artificielle en Imagerie Biomédicale) à Grenoble (France) en 2024 [182], puis à la conférence internationale **ISBI** (International Symposium on Biomedical imaging) à Athènes (Grèce) en 2024 [184].

Première partie

Morphologie mathématique et structures hiérarchiques

Chapitre 1

Notions de base et algorithmes en morphologie mathématique

1.1 La morphologie mathématique

La morphologie mathématique est une branche du traitement d'images originellement développée en France à partir de 1964. Ses pères fondateurs, Georges Matheron et Jean Serra ont défini les concepts et outils de base qui ont été progressivement étendus. La morphologie mathématique fait toujours l'objet de recherches actives de nos jours, notamment en ce qui concerne le développement d'algorithmes efficaces, le traitement de très grandes images et la prise en compte des images multivaluées.

La morphologie mathématique définit un cadre d'analyse dans lequel l'image n'est pas une simple matrice de pixels mais un **ensemble d'objets** eux-mêmes composés d'ensembles de pixels. Cette approche se fait *a contrario* des outils de traitement du signal, une part importante du traitement d'images, qui considèrent une image comme une combinaison de fréquences sinusoïdales. Ces objets dont il est question en morphologie mathématique se définissent par leurs formes géométriques et/ou leurs profils d'intensité. Il est donc possible d'analyser les **relations spatiales** entre les objets composant une image.

L'avantage de ce cadre d'analyse réside dans la nature même des images. Généralement, les valeurs d'une image correspondent à une quantification d'un signal, c'est-à-dire une mesure physique. Dans le cas des images naturelles (médicales, microscopiques ou satellites) en niveaux de gris ou en couleurs, les objets de l'image correspondent à des **objets sémantiques**. Il est donc d'autant plus intéressant d'analyser ces objets plutôt que leurs pixels sous-jacents.

La morphologie mathématique fut dans un premier temps développée afin d'analyser des images binaires, autrement dit des ensemble de points, au moyen d'**opérations ensemblistes**. On dénote généralement ce sous-ensemble par le terme de **morphologie ensembliste**. Afin d'étendre le concept aux images en niveaux de gris, c'est-à-dire aux fonctions numériques, une généralisation des opérations ensemblistes telles que les notions d'inclusion, d'intersection et d'union fut nécessaire. Cette extension s'est basée sur les notions de **supremum** (plus petit majorant) et d'**infimum** (plus grand minorant). On dénote généralement ce sous-ensemble par le terme de **morphologie fonctionnelle** dont il existe un cas particulier appelé **morphologie plate**. La morphologie mathématique repose de fait sur la notion de **treillis complet** caractérisant ainsi les opérateurs de base.

1.2 La morphologie ensembliste

Dans la suite de ce chapitre, X, A et B sont des images binaires considérées comme des ensembles. X est l'image d'entrée et A et B sont appelés **éléments structurants**.

1.2.1 Les opérateurs de base

La plupart des opérations morphologiques reposent sur deux opérateurs de base : la **dilatation** et l'**érosion**. Ces deux opérateurs se définissent respectivement par l'utilisation de la **somme de Minkowski** $\oplus$ (1.1) et de la **différence de Minkowski** $\ominus$ (1.2) [145, 86].

Soit $E = \mathbb{R}^n$ ou $\mathbb{Z}^n$. Soit $X \subseteq E$, le **complément** de $X \subseteq E$ est $X^c = E \setminus X$ et le **symétrique** de X est $\check{X} = \{-x \mid x \in X\}$. Pour chaque $p \in E$, la **translation** par p est l'application $E \to E : x \mapsto x + p$, transformant chaque sous-ensemble X de E en son **translaté par** p, $X_p = \{x + p \mid x \in X\}$.

$$\begin{aligned} X \oplus B &= \bigcup_{b \in B} X_b \\ &= \bigcup_{x \in X} B_x \\ &= \{x + b \mid x \in X \text{ et } b \in B\} \end{aligned} \tag{1.1}$$

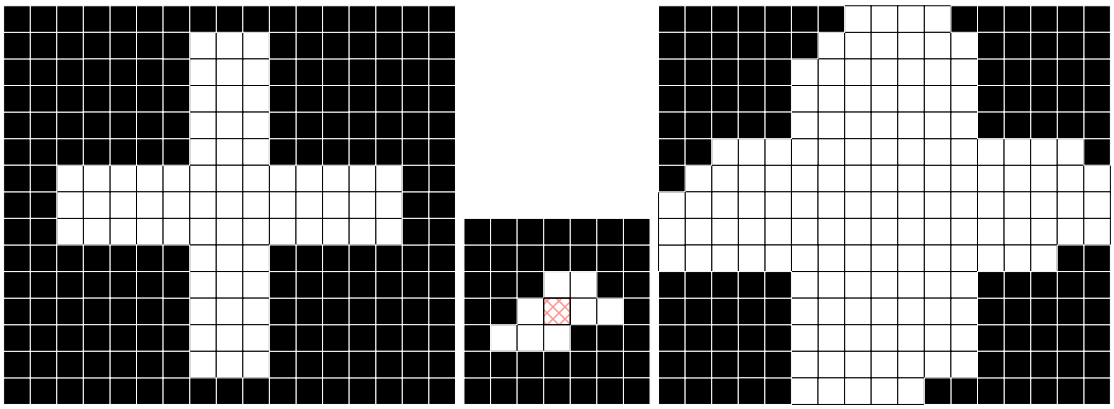
$$\begin{aligned} X \ominus B &= \bigcap_{b \in B} X_{-b} \\ &= \left\{p \in E \mid B_p \subseteq X\right\} \end{aligned} \tag{1.2}$$

La dilatation morphologique

La dilatation de X par B se définit comme $\delta_B : \mathcal{P}(E) \rightarrow \mathcal{P}(E) : X \mapsto X \oplus B$. Informellement, δ_B est l'union des translatés par B tels que le centre de l'élément structurant B appartient à X (1.1). La dilatation est **associative**, c'est-à-dire que l'application de deux ou plusieurs dilatations peut être effectuée dans n'importe quel ordre (1.3). La dilatation est également une opération **monotone** conservant les relations d'inclusion (1.4). Un exemple de dilatation morphologique est donné dans la figure 1.1.

$$(X \oplus A) \oplus B = (X \oplus B) \oplus A = X \oplus (A \oplus B) \tag{1.3}$$

$$X_1 \subseteq X_2 \Rightarrow X_1 \oplus B \subseteq X_2 \oplus B \tag{1.4}$$



(a) X (b) B (c) $X \oplus B$

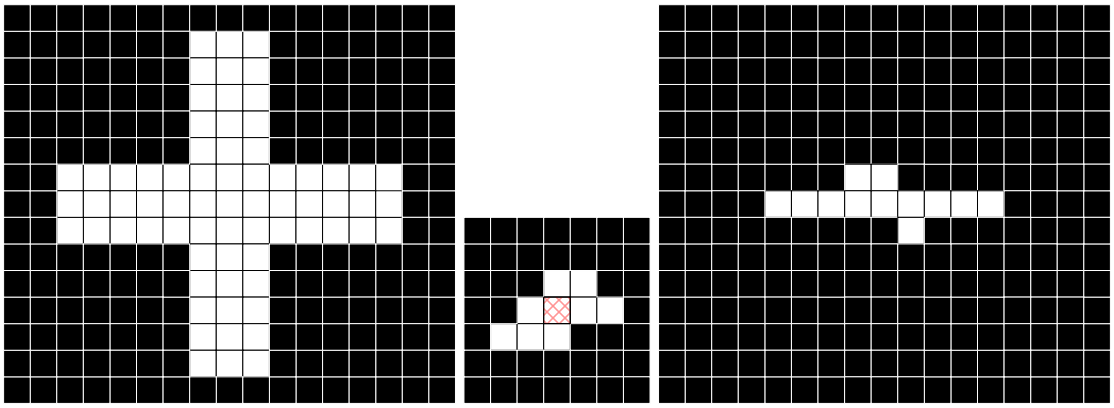
FIGURE 1.1 – Exemple de dilatation morphologique sur une image binaire. (a) Image binaire X. (b) Élément structurant B dont l'origine est le pixel central hachuré en rouge. (c) Dilatation de X par B soit $X \oplus B$.

L'érosion morphologique

L'érosion de X par B se définit comme $\varepsilon_B : \mathcal{P}(E) \to \mathcal{P}(E) : X \mapsto X \ominus B$. Informellement, ε_B est l'ensemble des points p tels que le translaté de B par p, B_p est inclu dans X (1.2). Tout comme la dilatation, l'érosion est **associative** (1.5) et est une opération **monotone** (1.6). Un exemple d'érosion morphologique est donné dans la figure 1.2.

$$(X \ominus A) \ominus B = (X \ominus B) \ominus A = X \ominus (A \oplus B) \tag{1.5}$$

$$X_1 \subseteq X_2 \Rightarrow X_1 \ominus B \subseteq X_2 \ominus B \tag{1.6}$$



(a) X (b) B (c) $X \ominus B$

FIGURE 1.2 – Exemple d'érosion morphologique sur une image binaire. (a) Image binaire X. (b) Élément structurant B dont l'origine est le pixel central hachuré en rouge. (c) Érosion de X par B soit $X \ominus B$.

La dilatation et l'érosion sont des opérations **duales par complémentation** (1.7). Ainsi, la dilatation d'un ensemble est équivalente à l'érosion du complémentaire de cet ensemble avec le symétrique de l'élément structurant.

$$\begin{aligned} (X \oplus B)^c &= X^c \ominus \check{B} \\ (X \ominus B)^c &= X^c \oplus \check{B} \end{aligned} \tag{1.7}$$

1.2.2 Les opérateurs composés simples

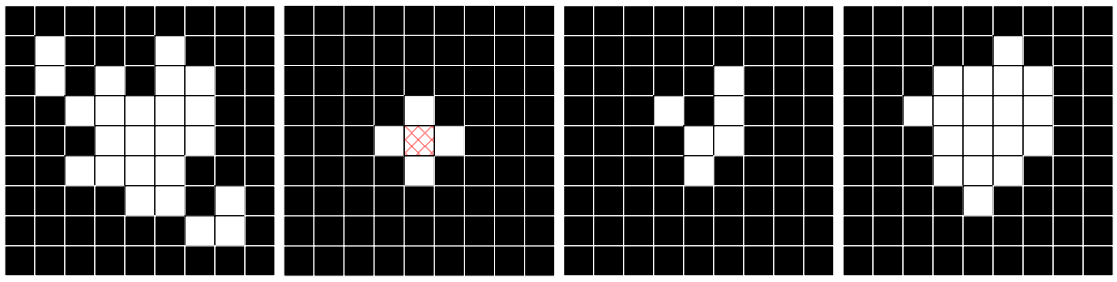
Les deux principaux opérateurs combinant érosion et dilatation sont les opérateurs d'**ouverture**, noté $\circ$ et de **fermeture**, noté $\bullet$.

L'ouverture morphologique

L'opérateur $\gamma_B : \mathcal{P}(E) \rightarrow \mathcal{P}(E) : X \mapsto X \circ B$ (1.8), appelé **ouverture par B**, est la composition de l'érosion ε_B, suivie de la dilatation δ_B. L'ouverture est une opération **idempotente**, c'est-à-dire que l'application successive d'ouvertures par le même élément structurant est identique à l'application d'une seule ouverture par cet élément structurant (1.9). L'ouverture supprime les chemins fins du fond dont la taille est inférieure à celle de l'élément structurant et déforme les sommets convexes de la forme. Un exemple d'ouverture morphologique est donné dans la figure 1.3.

$$\begin{aligned} X \circ B &= (X \ominus B) \oplus B \\ &= \bigcup \left\{ B_p \mid p \in E, B_p \subseteq X \right\} \end{aligned} \tag{1.8}$$

$$(X \circ B) \circ B = X \circ B \tag{1.9}$$



(a) X (b) B (c) $X \ominus B$ (d) $(X \ominus B) \oplus B$

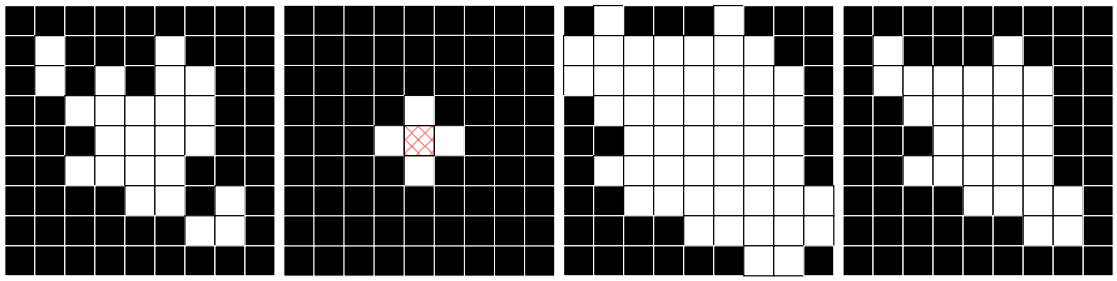
FIGURE 1.3 – Exemple d'ouverture morphologique sur une image binaire. (a) Image binaire X. (b) Élément structurant B dont l'origine est le pixel central hachuré en rouge. (c) Érosion de X par B soit $X \ominus B$. (d) Ouverture de X par B soit $X \circ B$ obtenue par la dilatation de $X \ominus B$ par B.

La fermeture morphologique

L'opérateur $\varphi_B : \mathcal{P}(E) \rightarrow \mathcal{P}(E) : X \mapsto X \bullet B$ (1.10), appelé **fermeture par B**, est la composition de la dilatation δ_B, suivie de l'érosion ε_B. La fermeture est également une opération **idempotente** (1.11). La fermeture supprime les chemins fins de la forme dont la taille est inférieure à celle de l'élément structurant et déforme les sommets convexes de la forme. Une exemple de fermeture morphologique est donné dans la figure 1.4.

$$X \bullet B = (X \oplus B) \ominus B \tag{1.10}$$

$$(X \bullet B) \bullet B = X \bullet B \tag{1.11}$$



(a) X (b) B (c) $X \oplus B$ (d) $(X \oplus B) \ominus B$

FIGURE 1.4 – Exemple de fermeture morphologique sur une image binaire. (a) Image binaire X. (b) Élément structurant B dont l'origine est le pixel central hachuré en rouge. (c) Dilatation de X par B. (d) Fermeture de X par B obtenue par l'érosion de $X \oplus B$ par B.

L'ouverture et la fermeture sont des opérations **duales par complémentation** (1.12).

$$\begin{aligned} (X \circ B)^c &= X^c \bullet \check{B}, \\ (X \bullet B)^c &= X^c \circ \check{B} \end{aligned} \tag{1.12}$$

1.2.3 Les autres opérateurs composés

La transformée tout-ou-rien

Un exemple courant d'opérateur composé est la **transformée tout-ou-rien** (*hit-or-miss transform* en anglais) notée $\otimes$ (1.13). Cette dernière fait appel à une paire composée de deux éléments structurants disjoints. Soient $A \subseteq E$ et $B \subseteq E$, avec $A \cap B = \varnothing$. A est appelé **élément structurant de la forme** et B est appelé **élément structurant du fond**. La transformée tout-ou-rien permet d'obtenir l'ensemble des pixels de X pour lesquels simultanément, A correspond à la forme et B correspond au fond. Un exemple de transformée tout-ou-rien est donné dans la figure 1.5.

$$\begin{aligned} X \otimes (A, B) &= \left\{ p \in E \mid A_p \subseteq X \text{ et } B_p \subseteq X^c \right\} \\ &= (X \ominus A) \cap (X^c \ominus B) \\ &= (X \ominus A) \setminus (X \oplus \check{B}) \end{aligned} \tag{1.13}$$

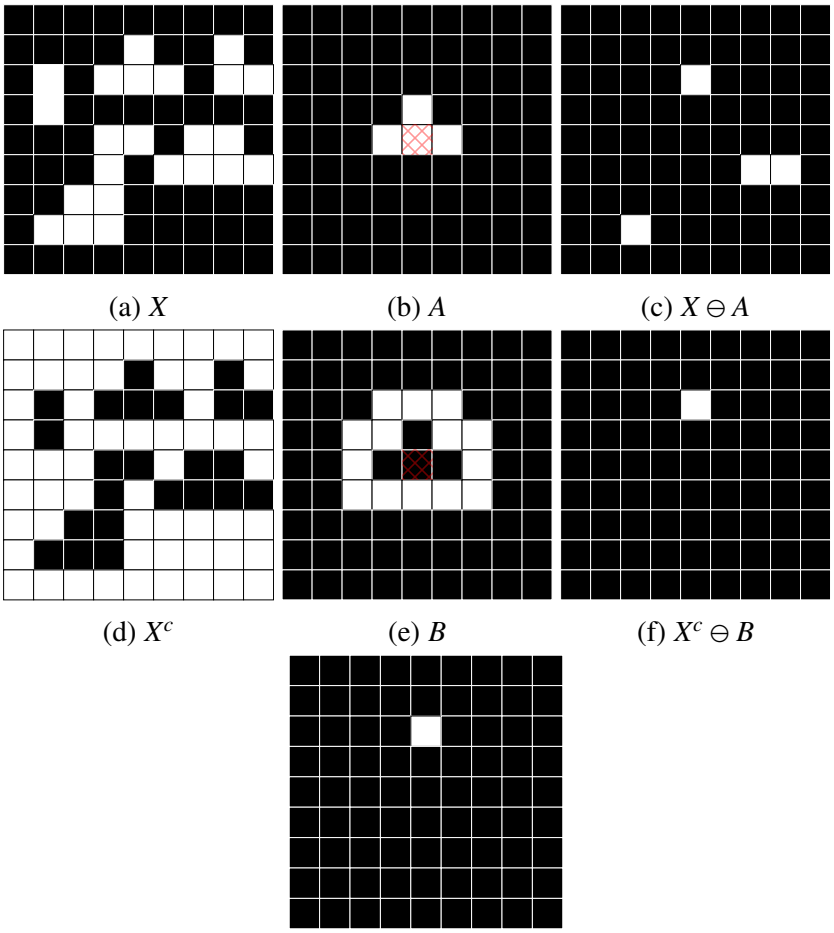
Les autres compositions

D'autres opérateurs peuvent être obtenus par composition des opérateurs d'ouverture et de fermeture. Ces opérateurs sont tous idempotents. De plus, aucun autre opérateur ne peut être obtenu par d'autres compositions pour deux éléments structurants fixés [214].

— $\varphi_B(\gamma_A(X))$: une ouverture suivie d'une fermeture.
— $\gamma_B(\varphi_A(X))$: une fermeture suivie d'une ouverture.
— $\gamma_C(\varphi_B(\gamma_A(X)))$: une ouverture suivie d'une fermeture, puis d'une ouverture.
— $\varphi_C(\gamma_B(\varphi_A(X)))$: une fermeture suivie d'une ouverture, puis d'une fermeture.

1.2.4 Les reconstructions géodésiques

Les opérateurs mentionnés précédemment ont néanmoins un inconvénient majeur. En effet, ils **déforment la bordure** entre la forme et le fond de l'image et ce, en fonction de la forme intrinsèque de l'élément structurant utilisé. À titre d'exemple, un élément structurant de forme ellipsoïdale aura tendance à arrondir les sommets de la forme. Pourtant, si l'on souhaite filtrer les petits objets ou les trous, on ne souhaite pas pour autant altérer la bordure ou les autres objets non filtrés. Pour ce faire, les opérateurs recherchés ne doivent pas agir au niveau des pixels mais sur les composantes connexes de la forme (appelés **grains**) ou du fond (appelés **pores**).



(a) X (b) A (c) $X \ominus A$

(d) X^c (e) B (f) $X^c \ominus B$

(g) $(X \ominus A) \bigcap (X^c \ominus B)$

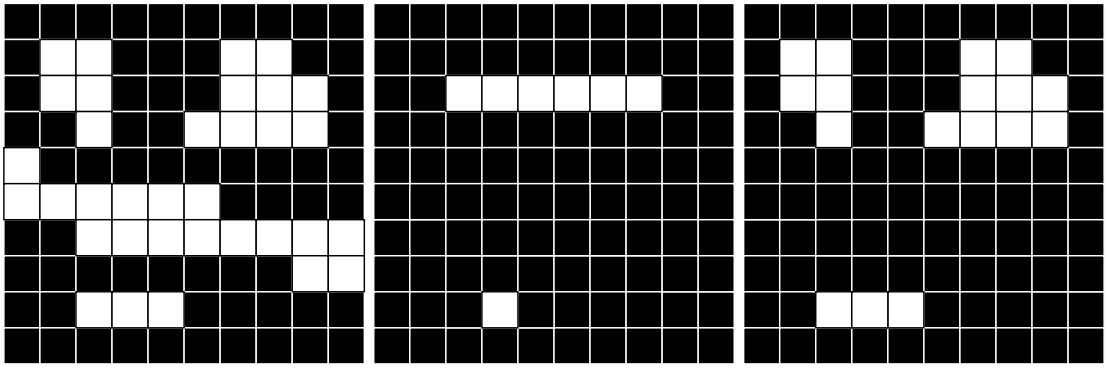
FIGURE 1.5 – Exemple de transformée tout-ou-rien sur une image binaire. (a) Image binaire X. (b) Élément structurant de la forme A dont l'origine est le pixel central hachuré en rouge. (c) Érosion de X par A soit $X \ominus A$. (d) Complémentaire de X soit X^c. (e) Élément structurant du fond B dont l'origine est le pixel central hachuré en rouge. (f) Érosion de X^C par B soit $X^C \ominus B$. (g) Transformée tout-ou-rien obtenue par l'intersection de $X \ominus A$ et $X^C \ominus B$ soit $(X \ominus A) \bigcap (X^C \ominus B)$.

La reconstruction géodésique par dilatation

Soit $E = \mathbb{Z}^n$ un espace discret et une connexité émanant d'un graphe d'adjacence sur E. Typiquement, on considère la 4- ou 8-connexité sur $\mathbb{Z}^2$ et la 6- ou 26-connexité sur $\mathbb{Z}^3$. Soit V un élément structurant composé d'une origine o et des pixels adjacents à l'origine, tels que pour tout pixel p, l'ensemble contient p et ses voisins V_p. Étant donné un ensemble F appelé **masque** et un sous-ensemble $R \subseteq F$ appelé **marqueur**, on définit la **reconstruction géodésique par dilatation de R dans F** comme la limite (1.14) de la suite croissante des ensembles $R_n, n \in \mathbb{N}$ (1.15). Le résultat est l'union de tous les grains de F marqués par le marqueur R, c'est-à-dire intersectant R. Un exemple de reconstruction géodésique par dilatation est donné dans la figure 1.6.

$$rec_{\oplus}(F, R) = \bigcup_{n \in \mathbb{N}} R_n \tag{1.14}$$

$$\begin{aligned} R_0 &= R \cap F \\ \forall n \in \mathbb{N}, R_{n+1} &= (R_n \oplus V) \cap F \end{aligned} \tag{1.15}$$



(a) F (b) R (c) $rec_{\oplus}(F, R)$

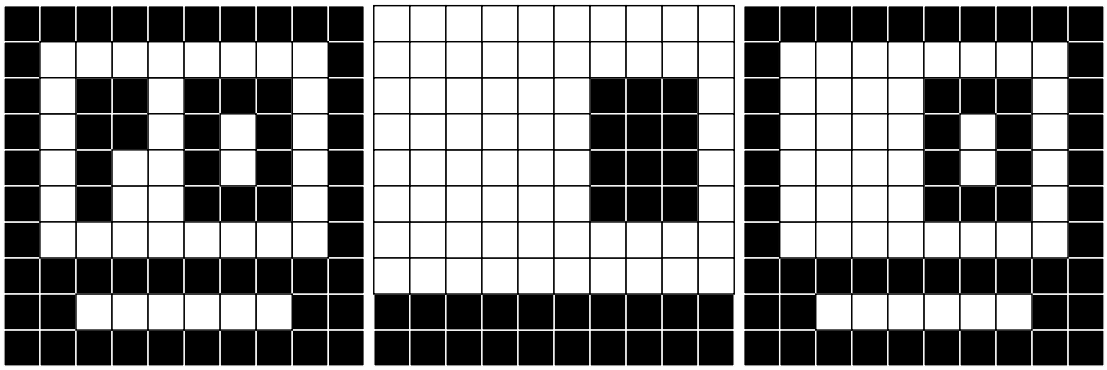
FIGURE 1.6 – Exemple de reconstruction géodésique par dilatation sur une image binaire. (a) Image binaire F. (b) Image marqueur R. (c) Reconstruction géodésique par dilatation de R dans F soit $rec_{\oplus}(F, R)$.

La reconstruction géodésique par érosion

L'opération duale est la **reconstruction géodésique par érosion**. Le marqueur R est un sur-ensemble de F ($F \subseteq R$). On définit cette reconstruction géodésique par érosion comme la limite (1.16) de la suite décroissante des ensembles $R_n, n \in \mathbb{N}$ définie récursivement par (1.17). $rec_{\ominus}$ reconstruit tous les pores de F qui ne sont pas entièrement dans R, c'est-à-dire que toutes les composantes connexes du fond F^c incluses dans R sont ajoutées à F. Un exemple de reconstruction géodésique par érosion est donné dans la figure 1.7.

$$rec_{\ominus}(F, R) = [rec_{\oplus}(F^c, R^c)]^c \tag{1.16}$$

$$\begin{aligned} R_0 &= R \cup F \\ \forall n \in \mathbb{N}, R_{n+1} &= (R_n \ominus V) \cup F \end{aligned} \tag{1.17}$$



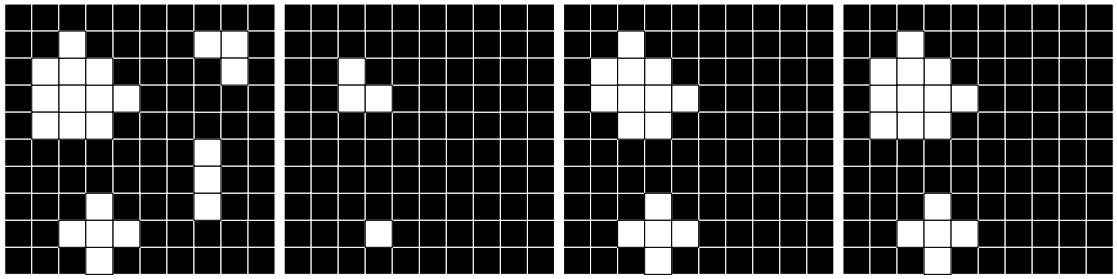
(a) F (b) R (c) $rec_{\ominus}(F, R)$

FIGURE 1.7 – Exemple de reconstruction géodésique par érosion sur une image binaire. (a) Image F. (b) Image marqueur R. (c) Reconstruction géodésique par érosion de R dans F soit $rec_{\ominus}(F, R)$.

L'ouverture par reconstruction

Étant donné une ouverture morphologique γ, on définit l'**ouverture par reconstruction** γ_{rec} comme étant la reconstruction géodésique par dilatation utilisant l'ouverture morphologique comme marqueur (1.18). Un exemple est donné dans la figure 1.8.

$$\gamma_{rec}(X) = rec_{\oplus}(X, \gamma(X)) \tag{1.18}$$



(a) F (b) $\varepsilon_{B_4}(F)$ (c) $\gamma_{B_4}(F)$ (d) $\gamma_{rec}(F)$

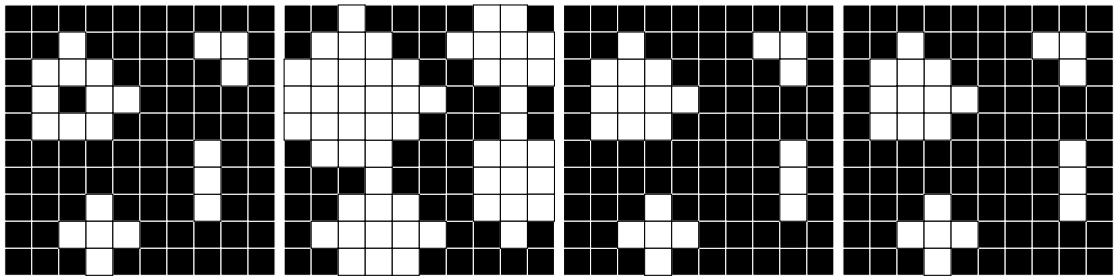
FIGURE 1.8 – Exemple d'ouverture par reconstruction sur une image binaire par une boule unitaire en 4-connexité. (a) Image binaire F. (b) Érosion de F par B_4 soit $\varepsilon_{B_4}(F)$. (c) Ouverture de F par B_4 soit $\gamma_{B_4}(F)$ obtenue par dilatation de (b). (d) Ouverture par reconstruction de F soit $\gamma_{rec}(F)$ obtenue par dilatations successives jusqu'à stabilité.

La fermeture par reconstruction

Symétriquement, étant donné une fermeture morphologique φ, on définit la **fermeture par reconstruction** φ_{rec} comme étant la reconstruction géodésique par érosion utilisant la fermeture morphologique comme marqueur (1.19). Un exemple est donné dans la figure 1.9.

$$\varphi_{rec}(X) = rec_{\ominus}(X, \varphi(X)) \tag{1.19}$$

Les opérations d'ouverture et de fermeture par reconstruction sont des opérateurs idempotents. L'ouverture par reconstruction supprime les petits grains tandis que la fermeture par reconstruction remplit les petits pores. Les bordures entre le fond et la forme (hors grains supprimés et pores remplis), ne sont pas altérées. Il est possible, comme pour les opérateurs cités précédemment dans la section 1.2.1 et la section 1.2.2, de définir des compositions d'opérateurs telles que l'ouverture ou la fermeture d'aire.



(a) F (b) $\delta_{B_4}(F)$ (c) $\varphi_{B_4}(F)$ (d) $\varphi_{rec}(F)$

FIGURE 1.9 – Exemple de fermeture par reconstruction sur une image binaire par une boule unitaire en 4-connexité. (a) Image binaire F. (b) Dilatation de F par B_4 soit $\delta_{B_4}(F)$. (c) Fermeture de F par B_4 soit $\varphi_{B_4}(F)$ obtenue par érosion de (b). (d) Fermeture par reconstruction de F soit $\varphi(F)$ obtenue en érodant itérativement δ_F jusqu'à stabilité.

1.3 La morphologie fonctionnelle

Jusqu'à présent, les opérations présentées s'appliquent sur des images binaires. Cependant, la plupart des applications de traitement d'images consistent à traiter des images en **niveaux de gris** ou des **images multispectrales**. Classiquement, les niveaux de gris sont représentés par des valeurs numériques. Les valeurs faibles correspondent à des pixels sombres tandis que les valeurs élevées correspondent à des pixels clairs.

En morphologie mathématique, ces images en niveaux de gris sont représentées par des fonctions numériques $E \to T$ où $E \subseteq \overline{\mathbb{R}} = \mathbb{R} \cup \{-\infty, \infty\}$ est l'espace des points et T est l'espace des niveaux de gris. Les niveaux de gris sont munis d'un ordre total et les opérations morphologiques calculent en chaque point de E une combinaison de **suprema** et d'**infima** de niveaux de gris. T est un **treillis complet**. Généralement, T est choisi parmi les ensembles suivants :

— $\overline{\mathbb{R}} = \mathbb{R} \cup \{-\infty, \infty\}$.
— $\overline{\mathbb{Z}} = \mathbb{Z} \cup \{-\infty, \infty\}$.
— $[a, b] = \left\{x \in \overline{\mathbb{R}} \mid a \leq x \leq b\right\}$ avec $a, b \in \overline{\mathbb{R}}$ et $a \leq b$.
— $[a \ldots b] = [a, b] \bigcap \overline{\mathbb{Z}}$ avec $a, b \in \overline{\mathbb{Z}}$ et $a \leq b$.

On note t_0 pour le plus petit élément de T et t_1 pour le plus grand élément de T. De fait, pour $T = \overline{\mathbb{R}}$ ou $T = \overline{\mathbb{Z}}$, $t_0 = -\infty$ et $t_1 = \infty$ et pour $T = [a, b]$ ou $T = [a \ldots b]$, $t_0 = a$ et $t_1 = b$. L'ensemble T^E des fonctions $E \to T$ hérite de l'ordre numérique sur T par l'ordonnancement des fonctions (1.20). Il s'agit, pour les fonctions, de l'opération analogue à

l'inclusion pour les ensembles. L'opération analogue pour les fonctions, à l'union des ensembles est le **supremum** (1.21). L'opération analogue, pour les fonctions, à l'intersection des ensembles est quant à elle, l'**infimum** (1.22).

$$F \leq G \iff \forall p \in E, F(p) \leq G(p) \tag{1.20}$$

$$\bigvee_{i \in I} F_i : E \to T : p \mapsto \sup_{i \in I} F_i(p) \tag{1.21}$$

$$\bigwedge_{i \in I} F_i : E \to T : p \mapsto \inf_{i \in I} F_i(p) \tag{1.22}$$

On écrit $F \bigvee G$ pour le supremum (respectivement l'union) et $F \bigwedge G$ pour l'infimum (respectivement l'intersection) de deux fonctions. Les opérations binaires $\bigvee$ et $\bigwedge$ sont **commutatives** et **associatives**. On peut donc écrire $F_1 \vee \ldots \vee F_n$ et $F_1 \wedge \ldots \wedge F_n$, respectivement égales à $\bigvee_{i \in \{1,\ldots,n\}} F_i$ et $\bigwedge_{i \in \{1,\ldots,n\}} F_i$. Les fonctions *plus petite* et *plus grande* sont celles à valeurs constantes t_0 et t_1 et sont respectivement les analogues de l'ensemble vide $\emptyset$ et l'espace complet E.

Étant donné une fonction $F : E \to T$ et un point $p \in E$, la **translation de** F **par** p est la fonction F_p dont le graphe est obtenu par translation du graphe $\{(x, F(x)) \mid x \in E\}$ par p sur la première coordonnée (1.23).

$$\begin{aligned} \{(y, F_p(y)) \mid p \in E\} &= \{(x + p, F(x)) \mid x \in E\} \\ \forall y \in E, F_p(y) &= F(y - p) \end{aligned} \tag{1.23}$$

1.3.1 Les opérateurs de base

Les opérations analogues sur les fonctions pour l'union, l'intersection et la translation permettent désormais de définir les opérations de base à savoir la dilatation, l'érosion, l'ouverture et la fermeture. Il existe également une méthode systématique permettant d'étendre les opérateurs sur ensembles aux fonctions [94, 93, 195] en s'appuyant sur les notions de **seuillage** et d'**empilement**.

Étant donné une fonction $F : E \to T$, l'**ombre** ou **hypographe** de F est l'ensemble $U(F)$ (1.24). Pour toute valeur $t \in T$, l'**ensemble des seuils** $X_t(F)$ est (1.25). De fait, $(p, t) \in U(F) \iff p \in X_t(F)$.

$$U(F) = \{(p,t) \mid p \in E, t \in T, F(p) \geq t\} \tag{1.24}$$

$$X_t(F) = \{p \in E \mid F(p) \geq t\} \tag{1.25}$$

Étant donné un opérateur $\psi : \mathcal{P}(E) \to \mathcal{P}(E)$, l'**opérateur plat correspondant à** ψ (ou **extension plate de** ψ) est l'opérateur $\psi^T : T^E \to T^E$ construit comme il suit :

1. **Seuillage** : Pour tout $t \in T$, on prend la section horizontale de l'ombre $U(F)$ au niveau t, c'est-à-dire l'ensemble $X_t(F) \times \{t\}$.
2. **Opération horizontale** : On applique ψ horizontalement à chaque section, c'est-à-dire, pour tout $t \in T$ on obtient l'ensemble $\psi(X_t(F)) \times \{t\}$.
3. **Empilement** : L'enveloppe supérieure des ensembles $\psi(X_t(F)) \times \{t\}, t \in T$, définissent une fonction donnant $\psi^T(F)$.

La figure 1.10 illustre ce processus de construction avec $\psi = \delta_B$ c'est-à-dire la dilatation par un élément structurant B. Les valeurs de $\psi^T(F)$ sont données par (1.26).

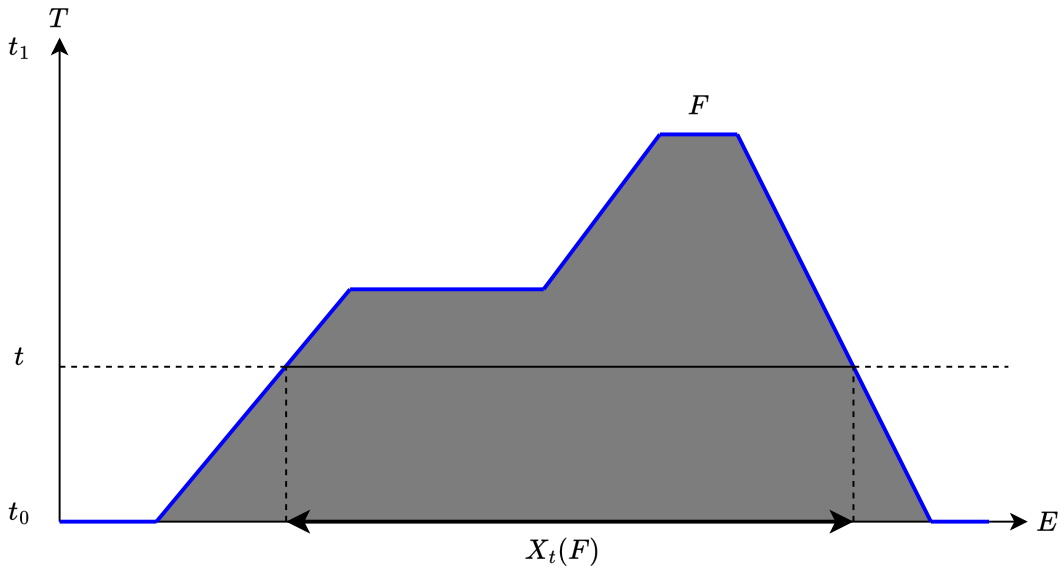
$$\forall p \in E, \psi^T(F)(p) = \bigvee \{t \in T \mid p \in \psi(X_t(F))\} \tag{1.26}$$

L'extension plate des opérateurs transforme les opérations ensemblistes en opérations fonctionnelles. $\forall X \in \mathcal{P}(E)$ et $\forall F \in T^E$:

— **Identité** : Si $\psi(X) = X$, alors $\psi^T(F) = F$.
— **Translation** : Si $\psi(X) = X_p$, alors $\psi^T = F_p$.
— **Union** : Si $\psi(X) = \bigcup_{i \in I} \xi_i(X)$, alors $\psi^T(F) = \bigvee_{i \in I} \xi_i^T(F)$.
— **Intersection** : Si $\psi(X) = \bigcap_{i \in I} \xi_i(X)$, alors $\psi^T(F) = \bigwedge_{i \in I} \xi_i^T(F)$.
— **Composition** : Si $\psi(X) = \eta(\zeta(X))$, alors $\psi^T(F) = \eta^T(\zeta^T(F))$.

À partir de ces propriétés, les extensions plates de l'érosion, de la dilatation, de l'ouverture et de la fermeture peuvent être définies. Sachant que $\delta(X) = \bigcup_{b \in B} X_b$ et que $\varepsilon_B(X) = \bigcap_{b \in B} X_{-b}$, pour tout $F \in T^E$, l'**extension plate de** δ_B et l'**extension plate de** ε_B, respectivement notées δ_B^T et ε_B^T sont définies par l'équation (1.27).

$$\begin{aligned} \delta_B^T(F) &= \bigvee_{b \in B} F_b \\ \varepsilon_B^T(F) &= \bigwedge_{b \in B} F_{-b} \end{aligned} \tag{1.27}$$



(a)

FIGURE 1.10 – Le graphe de F représenté par la courbe bleue avec son ombre $U(F)$ représentée en gris. Pour $t \in T$, la droite horizontale au niveau t intersecte l'ombre $U(F)$ en une coupe dont la projection sur E est l'ensemble des seuils $X_t(F)$.

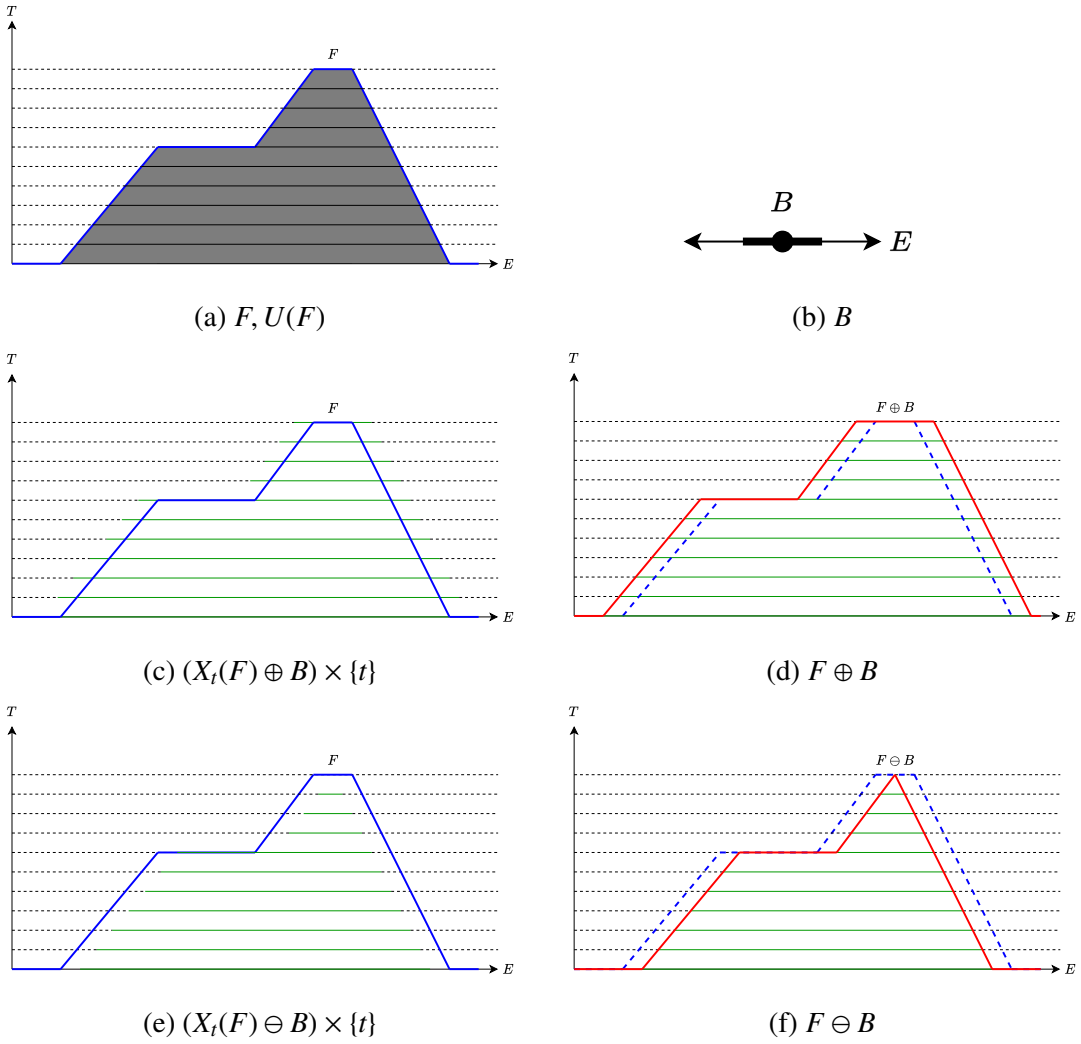
Pour tout $p \in E$,

$$\begin{aligned} \delta_B^T(F)(p) &= \sup_{b \in B} F(p-b) &&= \sup_{q \in (\check{B})_p} F(q) \\ \varepsilon_B^T(F)(p) &= \inf_{b \in B} F(p+b) &&= \inf_{q \in B_p} F(q) \end{aligned} \tag{1.28}$$

Similairement aux opérateurs binaires, on note $F \oplus B$ pour $\delta_B^T(F)$ et $F \ominus B$ pour $\varepsilon_B^T(F)$. D'après l'équation (1.8), on définit $F \circ B = (F \ominus B) \oplus B = \gamma_B^T(F)$ et d'après l'équation (1.10), on définit $F \bullet B = (F \oplus B) \ominus B = \varphi_B^T(F)$. Un exemple de dilatation plate est donné dans la figure 1.13, un exemple d'érosion plate est donné dans la figure 1.12. Un exemple de dilatation et d'érosion sur une courbe plus complexe est donné dans la figure 1.14.

1.3.2 Les opérateurs composés

Tous les opérateurs obtenus par combinaisons d'unions, d'intersections et de translations d'érosions et de dilatations s'étendent naturellement en tant qu'**opérateurs plats**.

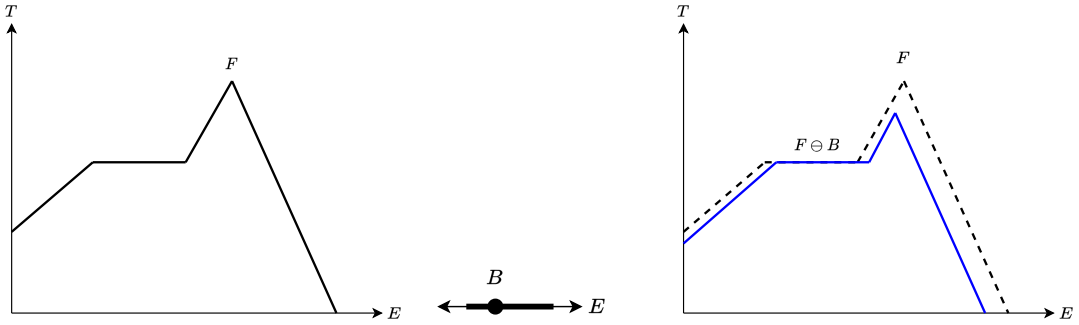


(a) $F, U(F)$ (b) B

(c) $(X_t(F) \oplus B) \times \{t\}$ (d) $F \oplus B$

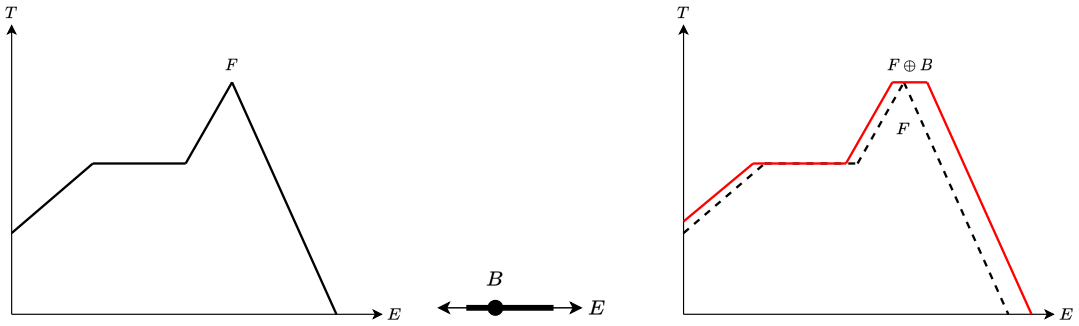
(e) $(X_t(F) \ominus B) \times \{t\}$ (f) $F \ominus B$

FIGURE 1.11 – Exemple de dilatation plate. (a) Graphe de F représenté par la courbe en bleue avec son ombre $U(F)$ représentée en gris et les coupes horizontales $X_t(F) \times \{t\}$ de l'ombre représentées en pointillés. (b) Élement structurant B. (c) Application de la dilatation δ_B par B horizontalement sur les coupes $X_t(F) \times \{t\}$ qui permet d'obtentir des ensembles $(X_t(F) \oplus B) \times \{t\}$. (d) Fonction dilatée $\delta_B^T(F)$ représentée en rouge, c'est-à-dire $F \oplus B$, obtenue par l'enveloppe supérieure des coupes dilatées. (e) Ensembles $(X_t(F) \ominus B) \times \{t\}$ obtenus par application de l'érosion ε_B par B horizontalement sur les coupes $X_t(F) \times \{t\}$. (f) Fonction érodée $\varepsilon_B^T(F)$ représentée en rouge, c'est-à-dire $F \ominus B$ obtenue par l'enveloppe supérieure des coupes érodées.



(a) F (b) B (c) $F \ominus B$

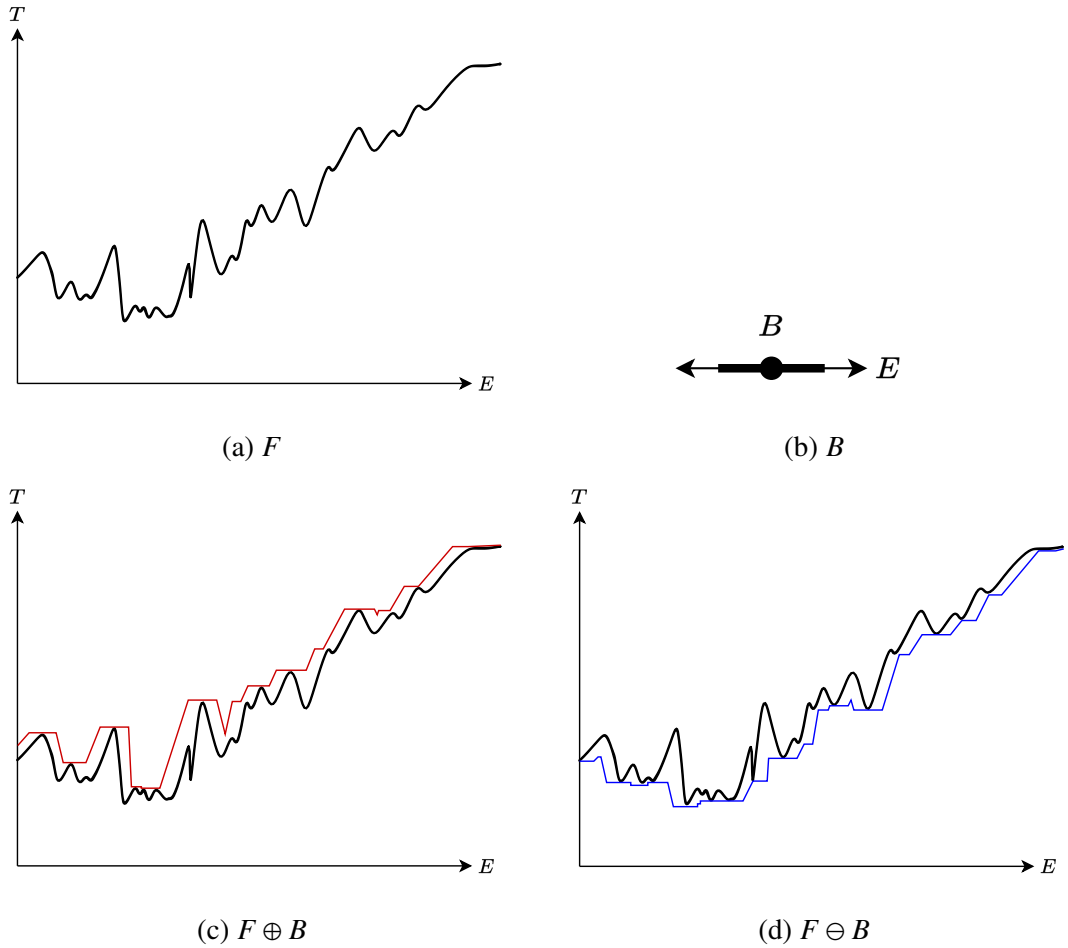
FIGURE 1.12 – Exemple d'érosion morphologique plate par un élément structurant non symétrique. (a) Courbe F représentée en noir. (b) Élément structurant B. (c) Érosion plate de F par B soit $F \ominus B$ en bleu.



(a) (b) (c)

FIGURE 1.13 – Exemple de dilatation morphologique plate par un élément structurant non symétrique. (a) Courbe F représentée en noir. (b) Élément structurant B. (c) Dilatation plate de F par B soit $F \oplus B$ en rouge.

De même, les propriétés des opérateurs binaires se transmettent directement dans leurs extensions en opérateurs plats. Ainsi, les opérateurs plats agissent sur les **zones claires** et **zones foncées** d'une image en niveaux de gris de manière similaire à ce que leurs opérateurs binaires correspondants agissent sur respectivement **la forme** et **le fond** d'une image binaire.



(a) F (b) B

(c) $F \oplus B$ (d) $F \ominus B$

FIGURE 1.14 – Exemple de dilatation et d'érosion plates sur une courbe complexe. (a) Courbe F représentée en noir. (b) Élément structurant B. (c) Dilatation plate de F par B soit $F \oplus B$ représentée par la courbe rouge. (d) Érosion plate de F par B soit $F \ominus B$ représentée par la courbe bleue.

Par extension, la **dilatation** élargit les zones claires et réduit les zones foncées tout en déformant les sommets convexes clairs, au contraire de l'**érosion** qui élargit les zones foncées et réduit les zones claires tout en déformant les sommets convexes foncés. L'**ouverture** assombrit les fins chemins clairs tout en déformant les sommets convexes foncés tandis que la **fermeture** éclaircit les fins chemins foncés. Les filtres à base d'ouverture et fermeture peuvent être employés pour supprimer les petits artéfacts d'une image tels que ceux provoqués par le bruit de type tavelure.

La dualité entre dilatation-érosion et ouverture-fermeture est toujours présente. Soit n une **inversion de** T, c'est-à-dire une bijection $T \to T$ inversant l'ordre $t' < t \iff n(t) < n(t')$. Si, par exemple, $T = [a \dots b]$, on a $n(t) = a + b - t$. On étend l'inversion n comme une inversion N sur les fonctions en posant $N(F) : p \mapsto n(F(p))$. L'équation (1.29) montre ces dualités.

$$\begin{aligned} N(F \oplus B) &= N(F) \ominus \check{B} \\ N(F \ominus B) &= N(F) \oplus \check{B} \\ N(F \circ B) &= N(F) \bullet \check{B} \\ N(F \bullet B) &= N(F) \circ \check{B} \end{aligned} \tag{1.29}$$

1.3.3 Les reconstructions géodésiques

Une extension plate des reconstructions géodésiques définies dans la section 1.2.4 est également possible. Soient une **fonction masque** F et une **fonction marqueur** R telle que $R \leq F$.

La reconstruction géodésique par dilatation

On définit la **reconstruction géodésique par dilatation**

$$rec_{\oplus}(F, R) = \bigvee_{n \in \mathbb{N}} R_n \tag{1.30}$$

où les fonctions $R_n, n \in \mathbb{N}$ sont définies récursivement par

$$\begin{aligned} R_0 &= R \wedge F \\ \forall n \in \mathbb{N}, R_{n+1} &= (R_n \oplus V) \wedge F \end{aligned} \tag{1.31}$$

La reconstruction géodésique par érosion

On définit la **reconstruction géodésique par érosion** pour $R \geq F$

$$rec_{\ominus}(F, R) = \bigwedge_{n \in \mathbb{N}} R_n \tag{1.32}$$

où les fonctions $R_n, n \in \mathbb{N}$ sont définies récursivement par

$$\begin{aligned} R_0 &= R \vee F \\ \forall n \in \mathbb{N}, R_{n+1} &= (R_n \ominus V) \vee F \end{aligned} \tag{1.33}$$

Ces opérations sont duales

$$rec_{\ominus}(F, R) = N[rec_{\oplus}(N(F), N(R))] \tag{1.34}$$

1.3.4 La morphologie plate

De la même manière que les reconstructions géodésiques sur ensembles agissent sur les **grains** et les **pores** d'une image binaire, des composantes connexes respectivement de la **forme** et du **fond**, les opérateurs de reconstructions géodésiques plats agissent sur les **zones plates** d'une image en niveaux de gris, des ensembles connexes maximaux ayant une valeur de niveau de gris constante.

Cette extension de la morphologie ensembliste aux fonctions est appelée **morphologie plate**. En effet, on travaille sur la structure horizontale des fonctions, d'où cette terminologie. Il n'est alors plus possible de considérer un intervalle borné pour l'ensemble des niveaux de gris T pour éviter un dépassement de borne dû aux opérations arithmétiques. T doit donc s'étendre de $-\infty$ à ∞. Soit $T' = T \setminus \{-\infty, \infty\}$ avec les pré-requis suivants :

- T est fermé sous les opérations numériques non nulles de supremum et infimum, autrement dit T est un treillis complet.
- T' est fermé sous les opérations d'addition et soustraction, autrement dit T' est un sous-groupe de $\mathbb{R}$.

De fait, soit $T = \overline{\mathbb{R}}$ et $T' = \mathbb{R}$, soit il existe $a > 0$ tel que $T' = a\mathbb{Z} = \{az \mid z \in \mathbb{Z}\}$ et $T = \overline{a\mathbb{Z}} = a\mathbb{Z} \cup \{-\infty, \infty\}$. Dans le second cas, une mise à l'échelle des niveaux de gris par $\frac{1}{a}$ peut être effectuée et permettre, sans perte de généralité, de supposer que $T = \overline{\mathbb{Z}}$ et $T' = \mathbb{Z}$.

Des fonctions analogues pour les opérations sur niveaux de gris ont été données pour certaines opérations ensemblistes. Ces analogies seont étendues plus loin. L'**ombre** ou l'**hypographe** d'une fonction $F : E \to T$ est redéfinie comme l'ensemble

$$U(F) = \{(p, t) \in E \times T' \mid t \leq F(p)\} \tag{1.35}$$

La différence par rapport à la précédente définition est que t est restreint à T' et non à T. Les points (p, t) de l'ombre $U(F)$ sont les analogues des points $x \in X$ pour un ensemble X. L'analogue d'un singleton, c'est-à-dire un ensemble $\{p\}$ vérifiant $\{p\} \subseteq X \iff p \in X$, est l'**impulsion** $i_{p,t}$, pour $(p, t) \in E \times T'$ telle que

$$\forall x \in E, i_{p,t}(x) = \begin{cases} t & \text{if } x = p, \\ -\infty & \text{if } x \neq p. \end{cases} \tag{1.36}$$

On vérifie que pour une fonction F et une impulsion $i_{p,t}$, on a $i_{p,t} \leq F \iff (p,t) \in U(F)$. On appelle le **support** de la fonction F, l'ensemble

$$supp(F) = \{p \in E \mid F(p) > -\infty\} \tag{1.37}$$

$p \in supp(F)$ si et seulement s'il existe $t \in T'$ avec $(p,t) \in U(F)$. Les points en dehors du support produisent des calculs redondants et l'on peut supposer que F est uniquement définie sur son support, ou que si F n'est définie que sur un sous-ensemble S de E, on peut l'étendre sur E en posant $F(p) = -\infty$ pour tout $p \in E \setminus S$.

La translation d'une fonction par un point a été définie précédemment. On étend cette définition à la translation par un couple (p,t). Étant donnés une fonction $F : E \to T$ et un couple $(p,t) \in E \times T'$, la **translation de F par** (p,t) est la fonction $F_{(p,t)}$ dont le graphe est obtenu par translation du graphe $\{(x, F(x)) \mid x \in E\}$ par p sur la première coordonnée et par t sur la seconde coordonnée, c'est-à-dire

$$\{(y, F_{(p,t)}(y)) \mid p \in E\} = \{(x+p, F(x)+p) \mid x \in E\} \tag{1.38}$$

autrement dit

$$\forall y \in E, F_{(p,t)}(y) = F(y-p) + t \tag{1.39}$$

par analogie, on peut désormais définir la somme de Minkowski et la différence de Minkowski de deux fonctions $E \to T$. Étant données deux fonctions $F, G : E \to T$, on définit la somme de Minkowski $F \oplus G$ et la différence de Minkowski $F \ominus G$ par

$$\begin{aligned} F \oplus G &= \bigvee_{(p,t) \in U(G)} F_{(p,t)} \\ &= \bigvee G_{(p,t)} \\ &= \bigvee \{i_{p+p',t+t'} \mid (p,t) \in U(F), (p',t') \in U(G)\} \\ F \ominus G &= \bigwedge_{(p,t) \in U(G)} F_{(-p,-t)} \\ &= \bigvee \{i_{(p,t)} \mid (p,t) \in E \times T', G_{(p,t)} \leq F\} \end{aligned} \tag{1.40}$$

Généralement, F est une image en niveaux de gris tandis que G est l'analogue de l'élément structurant appelé **fonction structurante**. On peut donner une expression numérique

pour les valeurs de $F \oplus G$ et $F \ominus G$. Pour tout $p \in E$, on a

$$\begin{aligned}(F \oplus G)(p) &= \sup_{h \in E}(F(p-h) + G(h)) \\ &= \sup_{h \in supp(G)}(F(p-h) + G(h)) \\ (F \ominus G)(p) &= \inf_{h \in E}(F(p+h) - G(h)) \\ &= \inf_{h \in supp(G)}(F(p+h) - G(h))\end{aligned} \tag{1.41}$$

La convention suivante est appliquée pour traiter les expressions de la forme $(+\infty - \infty')$: si $F(p-h)+G(h)$ prend la forme $+\infty - \infty$, alors on assigne $-\infty$, alors que si $F(p+h) - G(h)$ prend la forme $+\infty - \infty$, on assigne $+\infty$.

Les opérateurs $\delta_G : T^E \to T^E : F \mapsto F \oplus G$ et $\varepsilon_G : T^E \to T^E : F \mapsto F \ominus G$ sont respectivement appelés **dilatation par** G et **érosion par** G. On peut désormais définir les opérations binaires $\circ$ et $\bullet$ comme pour les ensembles. Ainsi, $F \circ G = (F \ominus G) \oplus G$ menant à l'**ouverture par** G, $\gamma_G : T^E \to T^E : F \mapsto F \circ G$ et $F \bullet G = (F \oplus G) \ominus G$ menant à la **fermeture par** G, $\varphi_G : T^E \to T^E : F \mapsto F \bullet G$. Notons que

$$F \circ G = \bigvee \{G_{(p,t)} \mid (p,t) \in E \times T', G_{(p,t)} \leq F\} \tag{1.42}$$

On définit le **transposé** ou **symétrique** de $\tilde{G}$ de G par $\tilde{G}(x) = G(-x)$. On rappelle l'inversion de niveaux de gris N sur les fonctions $N(F)(p) = -F(p)$. On obtient alors

$$\begin{aligned}N(F \oplus G) &= N(F) \ominus \tilde{G} \\ N(F \ominus G) &= N(F) \oplus \tilde{G} \\ N(F \circ G) &= N(F) \bullet \tilde{G} \\ N(F \bullet G) &= N(F) \circ \tilde{G}\end{aligned} \tag{1.43}$$

Toutes les propriétés des opérations $\oplus$, $\ominus$, $\circ$ et $\bullet$ dans la cas ensembliste s'étendent dans le cas fonctionnel. Les opérateurs sur fonctions $E \to T$ construits au moyen de suprema et infima à partir de ces opérations constituent la **morphologie des niveaux de gris** ou **morphologie fonctionnelle**.

À noter que la dilatation et l'érosion fonctionnelle par un élément structurant de type ensemble est un cas particulier de la dilatation et de l'érosion par un élément structurant

fonctionnel. Étant donné une ensemble $B \subseteq E$, on définit la fonction $B_0 : E \to T$ ayant la valeur 0 en B et la valeur $-\infty$ ailleurs :

$$\forall x \in E, \quad B_0 = \begin{cases} 0 & \text{si } x \in B \\ -\infty & \text{si } x \notin B \end{cases} \tag{1.44}$$

Alors, pour toute fonction $F : E \to T$, on a $F \oplus B = F \oplus B_0$ et $F \ominus B = F \ominus B_0$. La fonction B_0 est appelée **fonction structurante plate**. La morphologie plate est un cas particulier de la morphologie sur niveaux de gris, lorsque les fonctions structurantes sont restreintes aux fonctions structurantes plates (pour d'autres propriétés des opérateurs plats, voir [194]).

Comme cela a été expliqué précédemment, les opérateurs plats agissent sur les zones claires et foncées d'une image en niveaux de gris d'une manière similaire aux opérateurs ensemblistes agissant sur la forme et le fond d'une image binaire. C'est toujours le cas ici, à la différence près que ces opérateurs n'agissent pas uniquement sur la forme des objets mais également sur les profils des niveaux de gris. À titre d'exemple, la dilatation et l'ouverture déforment les profils des pics, tandis que l'érosion et la fermeture déforment les profils de niveaux de gris sur les vallées.

Chapitre 2

Les structures hiérarchiques

2.1 Motivations

Les structures hiérarchiques sont des représentations **hiérarchiques** des images et visent à proposer des régions complexes qui correspondent à des objets (au sens visuel) significatifs [104, 205]. Elles permettent, en plus de la représentation, l'**analyse multi-échelles** des images. En effet, elles décomposent les images en **régions d'intérêt** (partitions) de l'échelle microscopique (pixel) à l'échelle macroscopique (image complète) et mettent ces régions en relation en fonction de leurs propriétés spatiales (connexité).

Le reste du chapitre est organisé ainsi. La section 2.2 détaille les familles de représentations des images. La section 2.3 explicite la représentation des images sous la forme de graphes. La section 2.4 définit le concept de hiérarchie et la section 2.5 décrit les différentes hiérarchies. La section 2.6 fait un état de l'art des structures hiérarchiques monovaluées. La section 2.7 présentes les stratégies d'extension des structures hiéarchiques aux images multivaluées et la section 2.8 fait un état de l'art des structures hiérarchiques multivaluées. Enfin, la section 2.9 conclut en donnant quelques perspectives autour des structures hiérarchiques.

2.2 Les familles de représentations de l'image

Considérons une image naturelle en niveaux de gris composée d'objets d'intérêt, c'est-à-dire d'élements présentant des caractéristiques communes. Il existe plusieurs manières pour représenter de telles images, selon le domaine d'application ou encore les propriétés des objets (précision, taille, ...) que l'on souhaite calculer et les relations que l'on souhaite matérialiser entre ces objets.

En reprenant la terminologie de Bosilj et al. [28], on peut établir les familles de représentations d'images et leurs caractéristiques suivantes.

Les représentations **à base de pixels** (ou représentations **pixellaires**) se caractérisent par un grand nombre d'éléments (lesdits pixels) liés par des relations de voisinage simples [223] et contenant de l'information non interprétée sur l'intensité [204].

Les représentations **à base de blocs** (sur images binaires [146, 70, 177] et sur images en niveaux de gris [111, 48, 47]) divisent l'image en un ensemble de tableaux rectangulaires de pixels. Ces représentations comportent moins d'éléments que les représentations à base de pixels et les données de l'image sont toujours non interprétées. Les applications les plus courantes incluent la compression d'images [146, 111, 48], la segmentation [177, 111] ainsi que l'extraction de caractéristiques et d'attributs [70, 177, 47].

Les représentations par **compression de domaine** ou par **fréquence** stockent l'image en un ensemble de coefficients dans une transformée de domaine telles que la transformée de Fourier [57, 262], la transformée en ondelettes [262, 129, 117], la transformée Ridgelet [63], des courbes de niveaux [62], etc. Les applications courantes incluent la compression d'images [262, 129], le débruitage [63, 130], la reconstruction [117] ainsi que l'analyse de textures et la segmentation [34]. Ces représentations offrent l'avantage d'un stockage réduit de l'image mais impliquent une sensibilité aux translations, rotations et mises à l'échelle [147] et rendent difficile la manipulation de contenu localisé.

Les représentations **à base de régions** groupent des pixels connectés et similaires à l'aide d'un algorithme de segmentation, lequel produit habituellement une sur-segmentation. Ces régions sont souvent désignées comme **superpixels** [3] et l'information d'adjacence des régions est stockée dans un **graphe d'adjacence de régions** (*region adjacency graph* en anglais ou RAG) [199] ou dans des **cartes combinatoires** [122]. Différentes approches incluent les coupes normalisées [219], la segmentation basée sur les graphes de Felzenszwalb et Huttenlocher [69] ainsi que la segmentation par ligne de partage des eaux (*watershed* en anglais) [114, 24, 265, 52]. Le nombre réduit de régions basées sur l'interprétation de l'information de l'image permet de conserver la précision de la représentation [204] mais de nouvelles unions de régions doivent être effectuées afin de détecter les structures sémantiques [264].

Les représentations **hiérarchiques** proposent les unions de régions les plus probables à différentes échelles de l'image, des plus fines aux plus grossières [264]. Les relations horizontales entre régions présentes dans des segmentations (partielles) [212, 197] sont enrichies par l'information verticale d'inclusion entre régions à différentes échelles. Initialement, ces représentations furent employées pour du filtrage d'images [204, 105, 205], segmentation [71, 142, 96] ainsi que la détection de contours [242].

2.3 Les représentations de l'image

Comme expliqué dans la section 2.2, différents modes de représentation de l'image existent. Dans cette thèse, nous nous intéressons aux structures hiérarchiques pour la richesse d'information qu'elles apportent à l'image sur laquelle elles sont construites. De par leur nature **hiérarchique**, ces structures représentent l'image sous la forme d'un **arbre des composantes** qui peut donc se représenter sous la forme d'un **graphe**. Cette section décrit les principales définitions issues de la théorie des graphes [22]. Elle explique l'interprétation des images en tant que graphes et décrit la terminologie associée aux composantes des images.

2.3.1 La représentation sous forme de graphes

Un **graphe non orienté** $\mathcal{G}$ est représenté par une paire ordonnée (V, E) dans laquelle V est l'ensemble des **nœuds** (*vertices* en anglais) et E est l'ensemble des **arêtes** (*edges* en anglais). Deux nœuds sont qualifiés d'**adjacents** s'ils sont reliés par une arête. Un graphe non orienté est dit **simple** s'il ne contient aucune boucle, c'est-à-dire qu'aucun nœud ne possède une arête vers lui-même, et s'il n'y a pas plus d'une arête entre deux nœuds.

Soit I une image en niveaux de gris composée d'un ensemble de pixels, et $f_I : I \to \mathbb{N}$, une fonction assignant à chaque pixel $p \in I$ sa valeur d'intensité de gris dans l'image. L'image **duale** de I, notée $-I$, contient le même ensemble de pixels que I tandis que sa fonction d'intensité est $f_{-I} = \lambda_{\max} - f_I(p)$ avec $\lambda_{\max}$ le niveau de gris maximal autorisé (dépendant de la quantification utilisée).

Il est possible de représenter une telle image sous la forme d'un graphe. Dans ce cas, les pixels correspondent à l'ensemble des nœuds V et les arêtes E sont déterminées en fonction du choix d'une **relation d'adjacence** ou de **connexité** [169, 168, 181, 198]. Les arêtes connectent les pixels entre eux et associent un graphe non orienté $\mathcal{G} = (V, E)$ à l'image. Une arête entre deux pixels adjacents p et q est notée $e_{p,q}$ ou $e_{q,p}$.

Un **chemin** $\mathcal{P}$ partant de p_1 et allant à p_n dans le graphe $\mathcal{G}$ est défini comme étant la suite des pixels $(p_1, \ldots, p_n)$, telle que pour tout $1 \leq i < n$, les pixels f_i et f_{i+1} sont adjacents. Si $p_1 = p_n$ et qu'aucune arête n'est dupliquée, alors le chemin est un **cycle**. Les pixels p et q sont **connexes** dans G si et seulement si il existe un chemin $\mathcal{P}$ dans $\mathcal{G}$ de p à q ou que $p = q$.

Un **sous-graphe** de $\mathcal{G}$ est généré par un ensemble de nœuds $V_\mathcal{X} \subseteq V$ et est défini par $\mathcal{X} = (V_\mathcal{X}, E_\mathcal{X})$ avec $E_\mathcal{X} = \{e_{p,q} \mid p, q \in V, e_{p,q} \in E\}$. Un **graphe partiel** de $\mathcal{G}$ est généré par un ensemble d'arêtes $E_\mathcal{X}$ et défini par $\mathcal{X} = (V, E_\mathcal{X})$. Un **sous-graphe partiel** $X \subseteq G$ de $\mathcal{G}$ est défini comme un sous-graphe d'un graphe partiel, $\mathcal{X} = (V_\mathcal{X}, E_\mathcal{X})$. $\mathcal{X} \subseteq G$ est connexe si tous les $p, q \in V_\mathcal{X}$ sont connexes dans $\mathcal{X}$.

Une **région** $\mathcal{R} = (V_\mathcal{R}, E_\mathcal{R})$ d'une image I générée par un sous-graphe partiel non vide $\mathcal{X} \subseteq \mathcal{G}$ est définie par $V_\mathcal{R} = V_\mathcal{X}$ et $E_\mathcal{R} = \{e_{p,q} \mid e_{p,q} \in \mathcal{G} \wedge p, q$ sont connexes dans $\mathcal{X}\}$. Une **région connexe** (ou **composante connexe**) d'une image I est une région $\mathcal{R} \subseteq \mathcal{G}$ connexe et d'étendue maximale, c'est-à-dire $\nexists \mathcal{R}' \in \mathcal{G}$ tel que $\mathcal{R} \subset \mathcal{R}'$. On peut également, pour une région $\mathcal{R}$, définir les composantes connexes comme les régions connexes $\mathcal{R}' \subset$

$\mathcal{R}$ d'étendues maximales. L'ensemble des composantes connexes d'une image I est noté $CC(I)$, et $CC(\mathcal{R})$ lorsqu'il s'agit d'une région $\mathcal{R}$.

Un **ensemble de régions** $\pi = \{\mathcal{R}_1, \ldots, \mathcal{R}_k\}, k \geq 1$ **partitionne** l'image s'il couvre la totalité du domaine de l'image, c'est-à-dire $(\bigcup_{\mathcal{R}_i \in \pi} V_{\mathcal{R}_i}) = V = I$ et si les éléments le composant sont tous mutuellements distincts, c'est-à-dire $\forall \mathcal{R}_i, \mathcal{R}_j \in \pi, i \neq j, V_{\mathcal{R}_i} \cap V_{\mathcal{R}_j} = \emptyset$. On peut également définir le partitionnement par une relation d'équivalence ou par l'association d'une classe en chaque point [212, 215].

Une **segmentation** est généralement amenée à déterminer les frontières entre les régions. Dans le cas où l'ensemble des régions obtenu par un algorithme de segmentation ne couvre pas entièrement le domaine de l'image et donc n'est pas une partition au sens de la définition précédente, il est possible de traiter cet ensenble dans le cadre des **partitions partielles** introduites par Ronse [197]. Les éléments de l'ensemble $\pi^* = \{\mathcal{R}_1, \ldots, \mathcal{R}_k\}, k \geq 1$ partitionnent partiellement l'image s'il sont disjoints mais la contrainte de couverture totale du domaine de l'image est levée.

L'ensemble $\text{supp}(\pi^*) = (\bigcup_{\mathcal{R}_i \in \pi^*} V_{\mathcal{R}_i})$ est appelé le **support de la partition partielle**, et π^* partitionne l'image sur son support $\text{supp}(\pi^*)$. Les familles de partitions et de partitions partielles d'un ensemble forment un **treillis complet** dont l'ordre entre les partitions est donné par $\pi_1 \leq \pi_2 \iff \forall \mathcal{R}_i \in \pi_1, \exists \mathcal{R}_j \in \pi_2, \mathcal{R}_i \subseteq \mathcal{R}_j$. Cette relation définit l'ordre de raffinement sur les partitions et est définie entre n'importe quelles partitions partielles π_1^* et π_2^* donnant l'ordre standard. Le plus grand élément du treillis est la partition en une région contenant l'ensemble complet. Le plus petit élément du treillis est la **partition vide** pour le treillis des partitions partielles et la **partition en singletons** pour le treillis des partitions [212, 197].

2.3.2 La manipulation des composantes d'une image

Une **région frontière** d'une région $\mathcal{R} = (V_\mathcal{R}, E_\mathcal{R})$ est définie comme l'ensemble des arêtes $E_{\text{front}}(\mathcal{R}) = \{e_{p,q} \in E \mid p \in V_\mathcal{R}, p \notin V_\mathcal{R}\}$. L'ensemble des pixels des frontières intérieures et extérieures est composé de tous les pixels des nœuds respectivement appartenant ou n'appartenant pas à la région $\mathcal{R}$. Autrement dit,

$$V_{\text{frontint}} = \{p \in V_\mathcal{R} \mid e_{p,q} \in E_{\text{front}}(\mathcal{R})\}$$
$$V_{\text{frontext}} = \{p \in V \mid q \notin V_\mathcal{R}, e_{p,q} \in E_{\text{front}}(\mathcal{R})\}$$

Tous les pixels de l'image n'appartenant pas à une région connexe $\mathcal{R}$ ($p \in V$ tel que $p \notin V_\mathcal{R}$) forment un ensemble de 0 ou plusieurs régions connexes de tailles maximales dans le domaine de l'image I, $\overline{\mathcal{R}} = \{\overline{\mathcal{R}_1}, \ldots, \overline{\mathcal{R}_k}\}, k \geq 0$. Une région $\overline{\mathcal{R}_i}$ ne contenant aucun pixel appartenant à la frontière de l'image (la frontière intérieure de la région contenant l'image complète) est appelé un **trou** de la région $\mathcal{R}$ en 2D, une **cavité** en 3D. Ainsi, l'opération de **remplissage des trous** d'une région connexe $H(.)$ ajoute à la région $\mathcal{R}$ tous les pixels contenus dans d'ensemble des trous de la région $\mathcal{R}$, c'est-à-dire $H(\mathcal{R}) = \mathcal{R} \bigcup (\bigcup_i \overline{\mathcal{R}_i}), i \geq 0$ tel que $\forall i, \overline{\mathcal{R}_i}$ est un trou dans $\mathcal{R}$.

Les **zones plates** d'une image sont les composantes connexes de l'image i sur le sous-graphe partiel de $\mathcal{G} = (V, E)$ généré par l'ensemble des arêtes E_0 tel que $e_{p,q} \in E_0 \iff f(p) = f(q) \wedge e_{p,q} \in E$, c'est-à-dire les régions connexes de tailles maximales comprenant exclusivement des pixels au même niveau de gris [216, 206]. Une zone plate F_k à un niveau de gris k peut être décrite par $F_k = \{p_1, \ldots, p_l\}, l \geq 1$ tel que $\forall p_i \in F_k, f(p_i) = k$ et $\forall p_j \notin F_k,$ si $e_{p_i,q_j} \in E,$ alors $f(p_j) \neq k$.

On appelle **zone plate** d'une image un maximum local F_k s'il est entouré de pixels aux niveaux de gris strictements inférieurs, autrement dit $\forall p \in V, (e_{p,q} \in E, q \in F_k, p \notin F_k) \implies f(p) < k$. Les minima locaux sont les zones plates entourées de pixels de niveaux de gris strictements supérieurs. Les minima et maxima locaux composent les extrema de l'image. Les **ensembles de niveaux supérieurs** notés L^k et **ensembles de niveaux inférieurs** notés L_k sont les ensembles des pixels de l'image dont les valeurs de niveaux de gris sont respectivement supérieures ou inférieures à k. Ainsi, $L^k = \{p \in I \mid f(p) \geq k\}$ et $L_k = \{p \in I \mid f(p) \leq k\}$. En outre, il est possible de définir $\mathcal{F}_k$, $\mathcal{L}^k$ et $\mathcal{L}_k$ en tant que sous-graphes générés par respectivement F_k, L^k et L_k.

2.4 Les hiérarchies

En segmentation morphologique d'images, une **hiérarchie** est usuellement définie comme une suite croissante de partitions (partielles) allant du plus petit au plus grand élément du treillis $\pi_0 \leq \cdots \leq \pi_n = 1_E$. Le plus petit élement est $\pi_0 = 0_E$, c'est-à-dire une partition de singletons, pour les partitions et $\pi_0 = \varnothing$, c'est-à-dire une partition vide, pour les partitions partielles [196, 144]. Cependant, la défitinion par la suite de partitions (partielles) ne découple pas la forme et l'inclusion d'informations depuis l'échelle imposée sur les régions par l'indexation de la hiérarchie, c'est-à-dire l'assignation de niveaux de gris. La hiérarchie $\mathcal{H}$ est alors définie, sans indexation et similairement à [158] :

1. $\mathcal{G} \in \mathcal{H}$
2. $\forall \mathcal{R}_1, \mathcal{R}_2 \in \mathcal{H}, \mathcal{R}_1 \cap \mathcal{R}_2 = \varnothing \implies \mathcal{R}_1 \subset \mathcal{R}_2$ ou $\mathcal{R}_2 \subset \mathcal{R}_1$

Afin de modéliser la structure de la hiérarchie, on peut employer les **arborescences** ou **arbres enracinés** introduits par Berge [22] sur les graphes orientés. Dans un **graphe orienté**, les **arcs** sont des paires ordonnées d'éléments et un arc $a_{n,m}$ de n à m n'induit pas nécessairement l'existence d'un arc réciproque $a_{m,n}$. Un **graphe quasi fortement connexe** $\mathcal{G}$ est un graphe dans lequel pour chaque paire de nœuds p, q il existe un nœud r tel qu'il existe un chemin de r à p et de r à q. Un arbre enraciné $\mathcal{T} = (M, P)$ est un graphe acyclique quasi fortement connexe. La définition d'un chemin $\mathcal{P}$ dans un arbre $\mathcal{T}$ est similaire à celle dans un graphe $\mathcal{G}$ donné dans la section 2.3.1 à la différence près que les arcs doivent être orientés $a_{p_i,p_{i+1}}$ pour tous les éléments consécutifs p_i, p_{i+1}.

S'il existe un arc $a_{m,n}$ dans un arbre, m est désigné comme le **parent** de n et n comme un **enfant** de m. Le nœud m est appelé **ancêtre** de n s'il existe un chemin $\mathcal{P}$ dans $\mathcal{T}$ allant de m à n. L'unique nœud n'ayant pas de parent dans $\mathcal{T}$ est appelé la **racine** de l'arbre. Les nœuds n'ayant quant à eux aucun enfant sont appelés les **feuilles** de l'arbre. Soit $C = \{n_1, \ldots, n_k\}$ un ensemble de nœuds. C est une **coupe** de l'arbre si tous les chemins $\mathcal{P}$ de la racine à n'importe quelle feuille de l'arbre ne passent que par un seul nœud $n_j \in C$.

Dans un arbre $\mathcal{T}_\mathcal{H} = (M, P)$ représentant les composantes d'une image, les nœuds de l'arbre modélisent les régions de la hiérarchie et les arcs modélisent les relations d'inclusion desdites régions. La région représentée par un nœud $n \in M$ est dénotée par $\mathcal{R}(n) = (V(n), E(n))$. Le nœud racine $r \in M$ correspond à la totalité de l'image tandis que les nœuds feuilles $n \in M$ sont tels que pour chacun $\nexists m \in M$ tel que $V(m) \subset V(n)$.

La relation entre une région parente et les régions représentées par ses enfants peut être formalisée ainsi. Si m est un nœud parent dans un arbre et $n_1, \ldots, n_k$ sont tous enfants de m, alors la règle suivante permet de construire m à partir de ses enfants : $V(m) = V(n_1) \bigcup \cdots \bigcup V(n_k) \bigcup S(m)$ avec $S(m) = \{p_0, \ldots, p_l\}, l \geq 0$ tel que $\forall i \in \{0, \ldots, l\}, p_i \in I$ et $\forall j \in \{1, \ldots, k\}, p_i \notin V(n_j)$. L'ensemble des arêtes du parent peut être représenté par $E(m) = \{e_{p,q} \in E \mid p \in V(m), q \in V(m)\}$ et l'ensemble des pixels $S(m)$ doît être tel que $\mathcal{R}(m) = (V(m), E(m))$ est une région connexe de I.

Afin de reconstruire une image à partir de son arbre des composantes associé, un **modèle** ou une **altitude** est nécessairement assigné à chaque nœud n qui introduit de nouveaux pixels dans la hiérarchie, ou qui est un nœud feuille, ou pour lequel $S(n) \neq \emptyset$. Lors de la création de l'image, un niveau de gris est assigné à tous les pixels lors de leur introduction dans la hiérarchie à l'altitude du nœud correspondant (indexation).

2.5 Les hiérarchies d'inclusion et de partitionnement

Les hiérarchies peuvent naturellement se classer en deux catégories : les **hiérarchies de partitions** (ou **hiérarchies de partitionnement**) et les **hiérarchies de partitions partielles** ou **hiérarchies d'inclusion**. Une autre classification introduite par Bosilj *et al.* [29, 28] distingue les hiérarchies en fonction des relations parent-enfants dans les représentations. Ainsi, on peut distinguer les représentations hiérarchiques en **arbres de partitionnement** pour les hiérarchies sur des treillis de partitions et en **arbre d'inclusion** pour le sous-ensemble des hiérarchies sur des treillis de partitions partielles. La figure 2.1 illustre les différences entre ces deux hiérarchies.

2.5.1 Les arbres d'inclusion

Les feuilles d'un arbre d'inclusion contiennent de petites régions ou des points, tels que des **maxima et minima locaux** [105, 205, 148] ou des marqueurs sur l'image [162]. Classiquement, dans une approche de construction *bottom-up*, les nœuds sont formés par un processus de **croissance de régions** partant des feuilles par addition d'un ou plusieurs pixels aux régions existantes (ou zones plates).

Le nouveau nœud devient le parent des nœuds fusionnés par cette action et ce processus est répété jusqu'à ce que le nœud racine couvre la totalité du domaine de l'image. Un processus de simplification d'image ou de filtrage à partir d'un tel arbre d'inclusion implique dès lors d'**élaguer** des branches depuis les feuilles jusqu'à une région satisfaisant

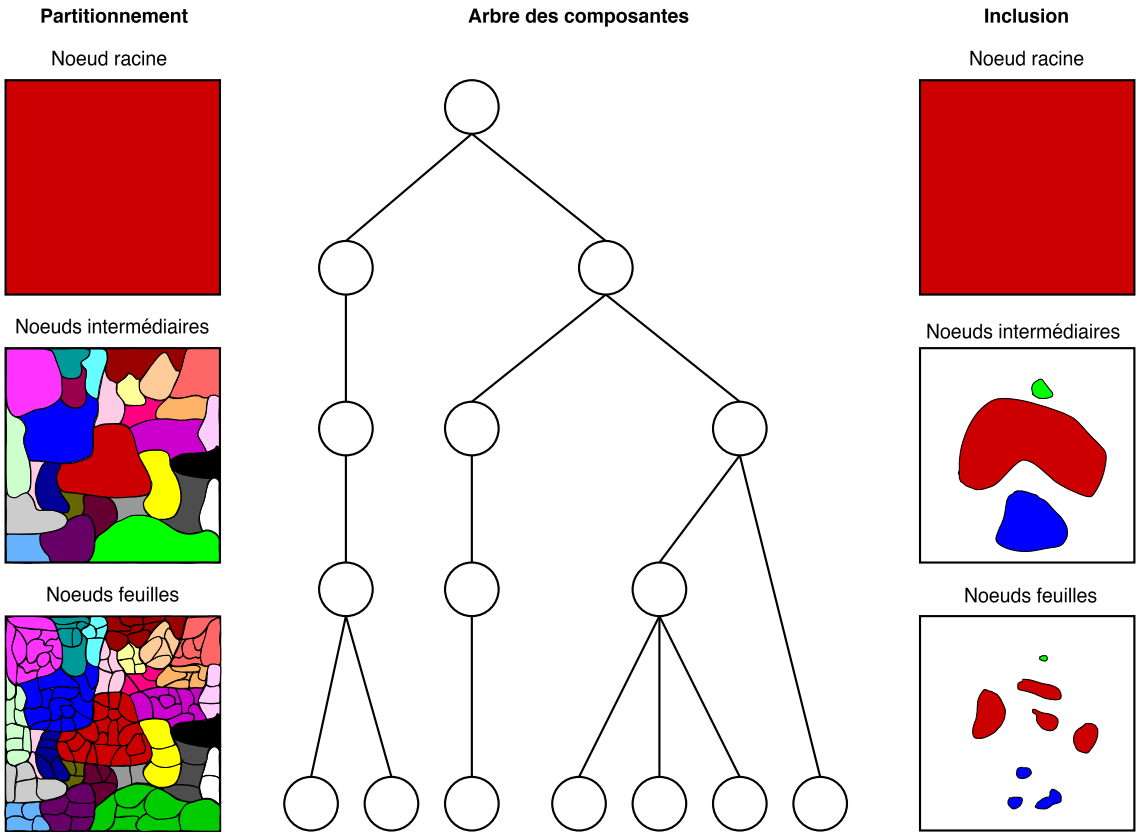


FIGURE 2.1 – Illustration des hiérarchies de partitionnement et d'inclusion.

un critère choisi et ensuite de fusionner toutes les régions supprimées à leurs plus proche ancêtre non supprimé.

Les arbres d'inclusion sont basés sur des niveaux de gris ou des contrastes entre les régions. Ils permettent ainsi de modéliser les **structures foncées ou claires** des images. Ainsi, le filtrage a pour effet de supprimer les petites structures contrastées sans pour autant altérer les principales structures de plus grandes tailles.

2.5.2 Les arbres de partitionnement

La différence principale avec les arbres d'inclusion est que dans un arbre de partitionnement, les feuilles ainsi que n'importe quelle coupe de l'arbre forment une **partition** de

l'image [85]. La partition initiale peut être n'importe quelle forme de **sur-segmentation** de l'image : pixels de l'image [85], zones plates [264, 221] ou segmentation par ligne de partage des eaux (*watershed*) [125].

Les nouvelles régions issues des nœuds intermédiaires sont formées par union de deux ou plusieurs régions adjacentes. Un point central de la construction des arbres de partitionnement est la notion de **fusion itérative** introduite par Garrido et al. [71] :

1. Un **modèle de régions** définit la manière dont les régions et leurs unions sont représentées et reflète les caractéristiques des régions utilisées lors du processus de construction.
2. Un **critère de fusion** ou une **mesure de (dis)similarité** basée sur le modèle de régions décrit l'intérêt de toutes les fusions possibles.
3. Un **ordre de fusion** définit les règles employées afin de fusionner les régions ainsi que la prochaine fusion à effectuer en fonction du critère de fusion.

La simplification d'images ou le filtrage à partir d'un tel arbre de partitionnement consiste alors à effectuer une coupe de l'arbre en fonction d'un critère choisi puis assigner un modèle ou une altitude à chaque nœud de la coupe pour la reconstruction. Contrairement aux arbres d'inclusion, les arbres de partitionnement ne sont pas spécifiquement centrés sur les extrema et peuvent de fait représenter des régions de **niveaux de gris intermédiaires**. Le filtrage d'un tel arbre supprime les faibles variations dans les niveaux de gris des régions perçues comme étant uniformes.

2.5.3 L'indexation des hiérarchies

Un arbre des composantes définit une hiérarechie quelconque à travers sa structure. Afin d'exploiter pleinement les informations d'échelle ainsi que les informations sémantiques produites par les différents algorithmes de construction, la hiérarchie est **indexée** en assignant à chaque nœud de l'arbre un attribut λ appelé **niveau** ou **agrégation**. Il s'agit toujours d'une **fonction non négative** des nœuds et croissante le long des branches de l'arbre des feuilles à la racine. Autrement dit, si m est un ancêtre de n, alors $\lambda(n) < \lambda(m)$. Une hiérarchie indexée correspond à la définition [196] par une suite croissante de partitions (partielles).

2.6 Les structures hiérarchiques monovaluées

Les structures hiérarchiques ont d'abord été développées à partir de la morphologie plate (voir la section 1.3) sur des **images monovaluées**. Il existe plusieurs stratégies de construction des arbres des composantes produisant des arbres d'inclusion et des arbres de partitionnement et permettant de représenter des **régions caractéristiques** de l'image (régions claires et/ou foncées, proximité de couleurs, *etc*.). Cette section présente les structures hiérarchiques monovaluées les plus utilisées.

2.6.1 L'arbre des coupes

Le terme générique d'**arbre des coupes** (généralement appelé *component-tree* en anglais) regroupe en réalité deux arbres d'inclusion duaux. Ces deux arbres sont généralement désignés par les termes de **min-tree** et de **max-tree**. La structure d'arbre des coupes a été introduite par Salembier *et al.* [205] en tant que *max-tree* et par Jones [105] en tant que *component tree*. La principale différence réside dans le stockage de la représentation [23].

Définition

Le **min-tree** représente les **structures sombres** d'une image. Il est basé sur les ensembles de niveaux inférieurs (voir la section 2.3.2) et les nœuds feuilles contiennent les **minima locaux** de l'image. Une composante connexe de l'ensemble de niveaux L_k n'appartenant pas à l'ensemble de niveaux L_{k-1} produit un nouveau nœud n_k avec une région $\mathcal{R}(n_k) = (V(n_k), E(n_k))$. Cette région $\mathcal{R}(n_k)$ devient alors :

- Soit un nœud **parent** de tous les nœuds précédemment construits aux niveaux inférieurs, ceux-ci sont alors inclus dans la région de ce nouveau nœud, c'est-à-dire $\mathcal{R}(n_{k'}) \subset \mathcal{R}(n_k), k' < k$.
- Soit un nœud **feuille** si $\mathcal{R}(n_k)$ n'inclut aucune région des nœuds précédents.

Au plus grand niveau de gris, il n'existe qu'une seule composante connexe couvrant la totalité du domaine de l'image, formant ainsi la racine de l'arbre. La hiérarchie correspond aux différentes composantes connexes des ensembles de niveaux inférieurs $\mathcal{H}_{\min} = \{\mathrm{CC}(\mathcal{L}_k) \mid k \leq \lambda_{\max}\}$.

Les minima locaux de l'image duale $-I$ correspondent aux maxima locaux de l'image originale I. Ainsi, en considérant les ensembles de niveaux supérieurs (voir la section 2.3.2) de I ou les ensembles de niveaux inférieurs de l'image duale $-I$, on obtient la hiérarchie duale du **max-tree** $\mathcal{H}_{\max} = \{\mathrm{CC}(\mathcal{L}^k) \mid k \leq \lambda_{\max}\}$. Si le *min-tree* est adapté pour manipuler les structures sombres de l'image, le *max-tree* est quant à lui adapté pour

manipuler les **structures claires**. La figure 2.2 donne un exemple de *min-tree* et de *max-tree*.

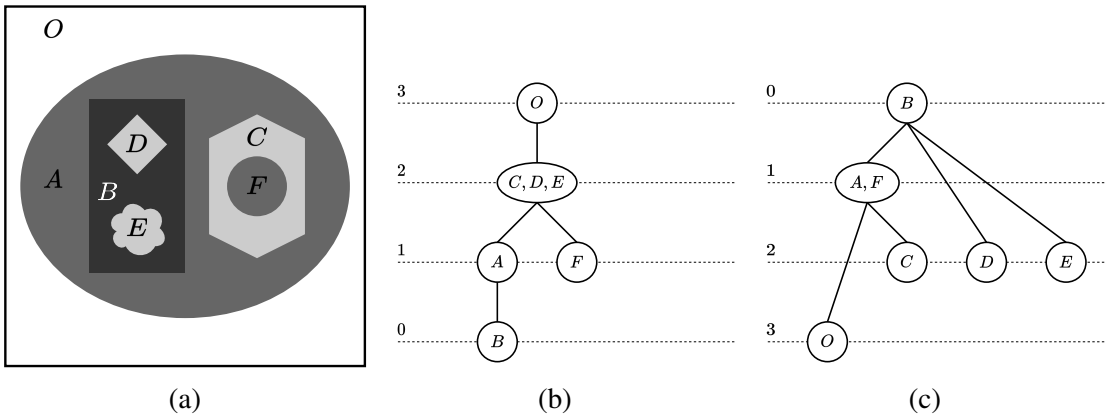


FIGURE 2.2 – Illustration d'arbres des coupes (*min-tree* et *max-tree*). (a) Image en niveaux de gris avec les composantes connexes indiquées par les lettre $A - F, O$. (b) *Min-tree* de (a). (c) *Max-tree* de (a).

Applications

Des hiérarchies plus complexes basées sur ces arbres sont développées afin d'utiliser des relations de connexité plus avancées, par exemple le *Dual Input Max-Tree* [169, 267] et les hiérarchies pour l'hyperconnexité [181]. Les *min-trees* ont également été calculés sur les hiérarchies d'inclusion plutôt que sur les images afin d'appliquer des opérations de filtrage dans l'espace des formes [274].

L'arbre des coupes est une structure hiérarchique populaire notament grâce à sa simplicité et son faible coût algorithmique. De part sa polyvalence, on retrouve cette structure dans beaucoup d'applications touchant au filtrage ou à la simplification d'images [105, 207, 274, 159, 178, 266, 108], à la segmentation d'images ou de vidéos [105, 205, 268, 253, 156, 178, 132]. Les arbres des coupes sont également utilisés à des fins de compression d'images [249], de détection d'objets et/ou de localisation [251, 244], de détection de features/d'arêtes [165], de description de features/pixels [77, 54, 31, 186], de recherche d'images par le contenu [165, 31, 249, 32], ou encore de classification [55, 252, 10]. En particulier, on peut noter une forte utilisation des arbres des coupes pour le traitement des images astronomiques [23, 178, 244, 41] et pour des applications liées à la télédétection [77, 55, 54, 185, 187, 186, 84, 32, 10, 112, 137].

Algorithmes

Il existe plusieurs algorithmes permettant de construire un arbre des coupes. On peut classer les différentes approches de construction en trois catégories : les approches par **immersion**, les approches par **inondation** et les approches par **fusion**. Une comparaison plus détaillée de différents algorithmes de construction d'arbre des coupes est proposée par Carlinet et Géraud [37].

Le premier algorithme efficace de construction d'un *min-tree* a été introduit par Salembier *et al.* [205] sous la forme d'un algorithme d'**inondation** consistant à effectuer une propagation en profondeur d'abord sur les éléments de l'image, celle-ci pouvant être récursive [205] ou utiliser une file hiérarchique [165]. L'algorithme proposé par Wilkinson [267] remplace la file hiérarchique par une file de priorité pour traiter des images ayant des valeurs quelconques.

Les algorithmes d'**immersion** comme ceux introduits par Berger *et al.* [23] et Najman et Couprie [159] consistent généralement à trier les N pixels de l'image selon l'ordre défini afin de former N ensembles disjoints composés de singletons. Ces ensembles sont par la suite fusionnés au moyen de l'algorithme de fusion *union-find* introduit par Tarjan [243] afin de former un arbre.

Les algorithmes de **fusion** sont principalement issus des travaux visant à paralléliser la construction d'arbre des coupes comme les travaux de Götz *et al.* [80], Moschini *et al.* [154] (parallélisation et mémoire distribuée) et Gazagnes et Wilkinson [72, 73] (très large images). Récemment, Blin *et al.* [25] ont proposé le premier algorithme parallèle entièrement GPU pour la construction d'arbre des coupes.

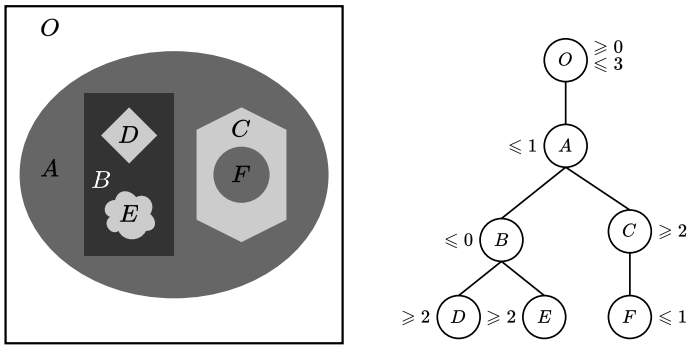
2.6.2 L'arbre des formes

L'**arbre des formes** (*tree of shapes* ou ToS en anglais) est un arbre d'inclusion combinant **max-tree** et **min-tree** introduit par Monasse et Guichard [148, 149]. Son principal intérêt est de permettre la représentation simultanée des structures claires et sombres.

Définition

Les feuilles de l'arbre des formes contiennent tous les **extrema locaux** tandis que les nœuds intermédiaires contiennent des formes obtenues par application de l'**opérateur de remplissage des trous** $H(.)$ (voir la section 2.3.2) sur toutes les composantes connexes des ensembles de niveaux inférieurs $\mathcal{L}_k$ et supérieurs $\mathcal{L}^k$. L'arbre des formes peut être défini par $\mathcal{H}_{\text{ToS}} = \{\mathcal{H}(\mathcal{R}) \mid \mathcal{R} \in \mathcal{H}_{\min}\} \bigcup \{\mathcal{H}(\mathcal{R}) \mid \mathcal{R} \in \mathcal{H}_{\max}\}$. Ces formes sont soit imbriquées, soit distinctes [232, 13].

Un nœud n d'un ToS est parent d'un autre nœud m s'il n'y a aucune forme $\mathcal{R}'$ telle que $\mathcal{R}(m) \subset \mathcal{R}' \subset \mathcal{R}(n)$. Le ToS est une structure **auto-duale**. En effet, les minima et maxima locaux ainsi que les ensembles de niveaux inférieurs et supérieurs sont inversés dans l'image duale $-I$, celle-ci produisant le même ToS que I. Tout comme l'arbre des coupes, le ToS est une représentation complète de l'image dans laquelle l'altitude d'un nœud n correspond au niveau h de la région émanant de l'ensemble des niveaux supérieurs $\mathcal{L}^k$ ou inférieurs $\mathcal{L}_k$ formant la forme $\mathcal{R}(n)$ assignée au nœud n. La figure 2.3 donne un exemple d'arbre des formes d'une image en niveaux de gris.



(a) (b)

FIGURE 2.3 – Illustration de l'arbre des formes. (a) Image en niveaux de gris avec les composantes connexes indiquées par les lettre $A - F, O$. (b) Arbre des formes de (a).

Applications

Assez logiquement, on retrouve beaucoup d'applications dans des domaines similaires à l'arbre des coupes. L'arbre des formes est largement utilisé à des fins de filtrage et/ou simplification d'images [148, 267, 272, 36, 271], de segmentation d'images ou de vidéos [36, 271, 270, 231, 35, 99], de compression d'images [99, 229], de détection de *features* et/ou d'arêtes [39, 60, 273, 27], de description de pixels et/ou de features [40, 187, 53] ainsi qu'en télédétection [40, 187, 53, 41]. On trouve également quelques applications en comparaison d'images [147] et en recherche d'images par le contenu [27].

Algorithmes

L'algorithme de référence pour le constuction d'arbres des formes est l'algorithme de Géraud *et al.* [75] (remplaçant les algorithmes [39, 230]) utilisant pour base les algorithmes d'**immersion** du *min-tree* avec une nouvelle étape de classement.

Dans un algorithme d'immersion, l'étape d'ordonnancement doit placer les éléments de l'image appartenant aux formes extérieures avant celles appartenant aux formes intérieures. La représentation de l'image sous la forme d'une carte à valeurs définies sur une grille de Khalimsky [161] permet la matérialisation des espaces inter-pixels et le l'ordonnancement des formes dans le bon ordre. Cette étape de classement repose sur l'utilisation d'une file hiérarchique ne pouvant traiter que des données quantifiées.

2.6.3 L'arbre de partitionnement binaire

L'**arbre de partitionnement binaire** (*binary partition tree* en anglais ou BPT) introduit par Salembier et Garrido [204] est un arbre de partitionnement qui, à la différence des arbres des coupes et arbre des formes, n'est pas orienté vers les extrema. Il est donc adapté à la représentation des objets de niveaux de gris **faibles, moyens et élevés**.

Définition

La construction du BPT débute par l'assignation d'un nœud à chaque région de la partition initiale basée sur les pixels, les zones plates ou des partitions pré-calculées [204, 71]. La hiérarchie dépend du choix d'un **modèle de régions** et d'un **critère de fusion**. Le modèle de région peut être très simple, par exemple une moyenne ou une médiane des niveaux de gris des pixels d'une région. Le critère de fusion est exprimé sous la forme d'une mesure de (dis)similarité entre les modèles de régions. L'ordre de fusion dans un BPT est

celui d'une fusion itérative des régions, celles ayant la plus grande/petite (dis)similarité à chaque étape. La figure 2.4 donne un exemple d'arbre de partitionnement binaire.

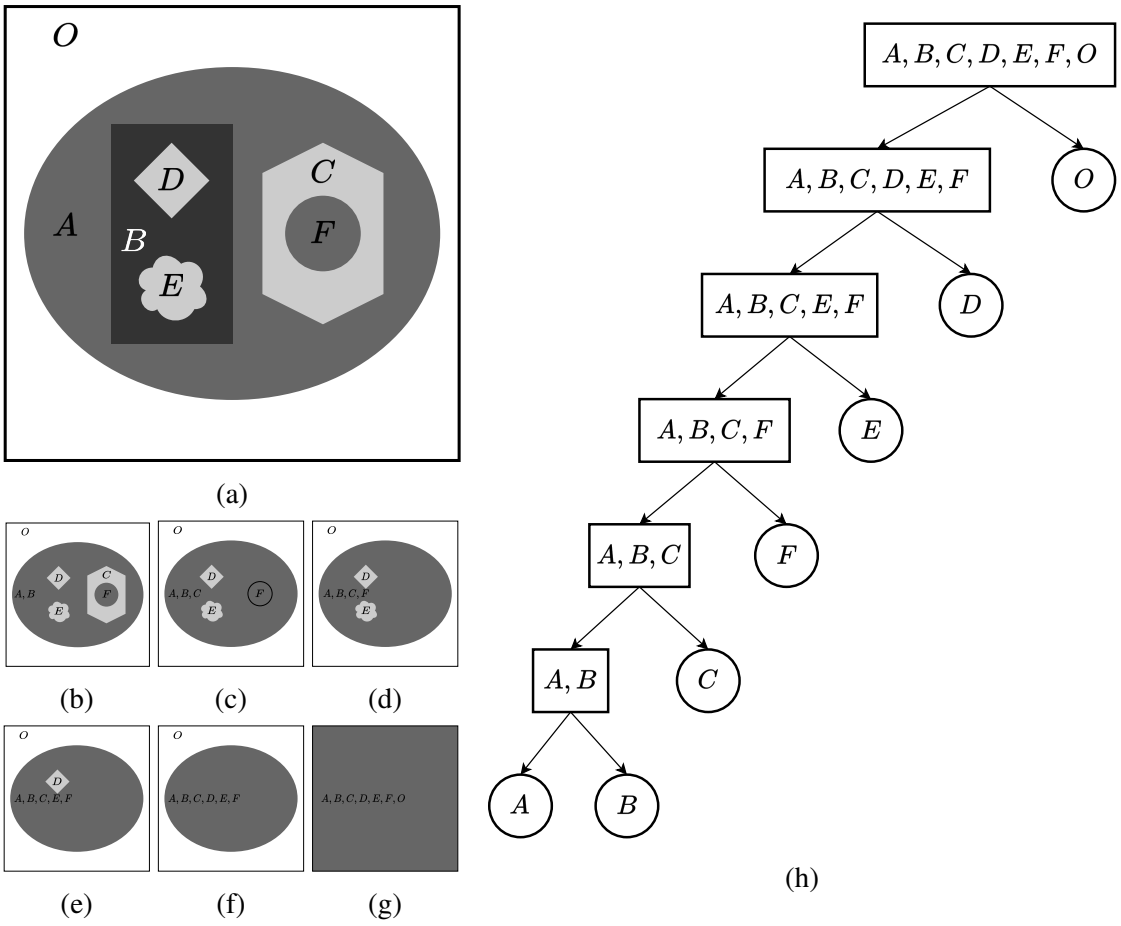


FIGURE 2.4 – Illustration de l'arbre de partitionnement binaire. (a) Image en niveaux de gris avec les composantes connexes indiquées par les lettre $A - F, O$. (b-g) Résultat de chaque étape de fusion. Le modèle de région est l'intensité de gris majoritaire (moyenne en cas d'égalité). Le critère de fusion est la plus petite différence d'intensités des régions. L'ordre de fusion est la plus grande surface obtenue après fusion. (h) Arbre de partitionnement binaire de (a).

Applications

Le BPT est une hiérarchie très **polyvalente**. Originellement introduite en morphologie par Salembier et Garrido [204] en gardant en mémoire les étapes de fusion itérative [71]. Ces travaux ont été poursuivis par Vilaplana *et al.* [264] en proposant un critère de fusion plus approprié et en appliquant le BPT à la détection d'objets. Des méthodes de simplification du BPT ont été étudiées par Lu *et al.* [125]. Beaucoup d'extensions mettent en lumière les relations entre le BPT et les autres arbres des composantes ainsi que des techniques de morphologie et spécialisent le BPT en fonction du domaine d'application [51, 160, 101, 263].

De même, beaucoup de représentations hiérarchiques conviennent bien au cadre offert par le BPT, notamment par l'utilisation de méthodes de segmentation telles que des variantes de la **ligne de partage de eaux** (*watershed* en anglais) et la segmentation Felzenszwalb-Huttenlocher afin de déterminer la partition initiale, et par la définition des modèles de régions et mesures de similarité basées sur les contours, couleurs, textures, tailles ou information de profondeur des régions [12, 95, 250]. À titre d'exemple, l'**arbre de partionnement binaire par ordonnancement d'altitude** (*binary partition tree by altitude ordering* en anglais) et les **hiérarchies de forêts couvrantes minimales** (*hierarchies of minimum spanning forests* an anglais) sont deux spécialisations du BPT qui ont été utilisées pour obtenir des hiérarchies sur des images représentées par des graphes aux arêtes pondérées plutôt qu'aux nœuds.

Le BPT est principalement utilisé à des fins de segmentation d'images ou de vidéos [204, 65, 143, 255, 259, 247, 191, 190], de détection d'objets et de localisation [264, 20, 256, 246], de télédétection [255, 259, 247, 20, 256, 203] et plus rarement de traitement de séries temporelles [4] et de filtrage et/ou segmentation d'images [207].

Algorithmes

L'algorithme de construction du BPT débute à partir d'une partition initiale de l'image. À chaque étape, les deux régions les plus similaires sont fusionnées en mettant à jour les similarités pour prendre en compte cette nouvelle région. Le processus itératif est répété jusqu'à l'obtention d'une unique région représentant le support de l'image. Dans le cas où aucune connexité particulière n'est imposée sur l'image, l'algorithme de construction itérative du BPT correspond à un clustering hiérarchique (ou agglomératif) [64]. L'utilisation d'une file hiérarchique permet de conserver l'information de similarité entre régions [71].

2.6.4 L'α-arbre

L'**α-arbre** introduit par Soille [221] est un arbre de partitionnement au même titre que le BPT. Contraitement au BPT qui s'appuie sur un ordre de fusion prédéfini mais peut être personnalisé au niveau du choix de la partition initiale, du modèle de région ainsi que du critère de fusion, l'α-arbre **contraint tous ces paramètres**.

Définition

La partition initiale d'un α-arbre est toujours une partition de l'image en **zones plates**. Le modèle de région pour chaque région $\mathcal{R}$ est la frontière de la région, c'est-à-dire $E_{\text{frontière}}(\mathcal{R})$. Le critère de fusion définit la similarité entre deux régions $\mathcal{R}$ et $\mathcal{R}'$ voisines comme étant la plus petite arête en terme de différence de niveaux de gris commune aux modèles des deux régions, c'est-à-dire $D(\mathcal{R}, \mathcal{R}') = \min\{|f(p) - f(q)| \mid e_{p,q} \in E_{\text{frontière}}(\mathcal{R}), e_{p,q} \in E_{\text{frontière}}(\mathcal{R}')\}$. L'ordre de fusion dicte qu'à la $i^{\text{ème}}$ étape, toutes les régions ayant une similarité égale à i doivent être fusionnées.

Une autre définition peut être donnée à partir des **α-composantes connexes** aussi appelées **quasi zones plates**. Les zones plates sont considérées comme des 0-composantes connexes. Une α-composante connexe, pour $\alpha > 0$, est évaluée au moyen du graphe de l'image contenant une arête entre deux pixels voisins si la différence entre leurs niveaux de gris est inférieur ou égale à α. Pour des valeurs de α croissantes, ces régions forment une hiérarchie représentée par un arbre. Soit p un pixel appartenant à une α-composante connexe α-CC(p). La relation hiérarchique entre les régions est α-CC(p) $\subseteq$ α'-CC(p), $\forall \alpha \leq \alpha'$. Un exemple de construction d'un α-arbre est illustré dans la figure 2.5.

Une faiblesse de l'α-arbre découle de la mesure de similarité qui est un critère uniquement local entre pixels voisins. Ainsi, tout en maintenant la condition de similarité, une quasi zone plate peut contenir une différence supérieure à α. Pour résoudre ce problème dit d'**effet de chainage**, plusieurs approches ont été proposées [221, 163, 226, 222, 225, 279].

Applications

L'α-arbre est principalement utilisé à des fins de segmentation d'images ou de vidéos [221, 228, 140, 139, 238], de classification [119, 138, 41] et de filtrage ou simplification d'images [221, 226]. On trouve également quelques travaux portants sur la description de features ou de pixels [30] ainsi qu'en télédétection [119].

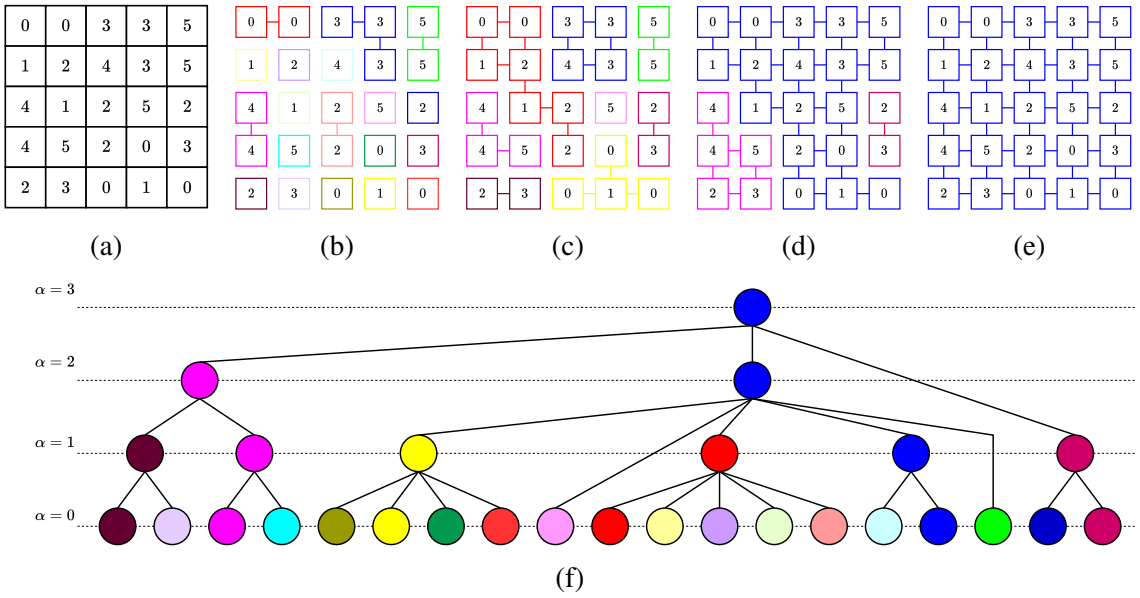


FIGURE 2.5 – Illustration d'un α-arbre. (a) Image en niveaux de gris I. (b-e) α-composantes connexes de I pour $\alpha \in [\![0, 3]\!]$. (f) α-arbre de I construit par inclusion des α-composantes connexes (b-e).

Algorithmes

L'algorithme de construction d'un α-arbre repose sur son équivalence avec l'algorithme du *min-tree* (n'importe quel algorithme spécifique peut être utilisé) définit sur des arêtes valuées par les différences d'intensités des pixels [227, 158]. Étendant cette idée, Havel *et al.* [90, 91] calculent directement l'α-arbre en utilisant une version modifiée de l'algorithme *union-find* de Tarjan [243] (adapté aux applications multithreadées).

L'algorithme de Najman *et al.* [160] est inspiré de l'algorithme de l'arbre couvrant minimal de Kruskal [110] et utilise l'algorithme *union-find* de Tarjan [243] et consiste, dans un premier temps, à construire un arbre de partitionnement binaire par ordonnancement d'altitude. You *et al.* [276] ont introduit un nouvel algorithme utilisant une combinaison entre un algorithme d'inondation pour le calcul et un estimateur de taille d'arbre pour la gestion efficace de la mémoire. Récemment, Ryu *et al.* [202] ont proposé un nouvel algorithme de calcul de l'α-arbre adapté au traitement d'images aux plages dynamiques extrêmes en remplaçant la file de priorité par une file hiérarchique de priorité du tas.

2.6.5 L'(ω)-arbre

L'(ω)-arbre est un arbre de partitionnement basé sur l'α-arbre et proposant une solution au problème d'effet de chainage.

Définition

Dans un α-arbre, le paramètre α contrôle la différence locale maximale de niveaux de gris entre deux pixels voisins d'une même α-composante connexe. Dans un (ω)-arbre, ce paramètre α est identique. En revanche, un nouveau paramètre ω est introduit et contrôle la **différence globale maximale** de niveaux de gris au sein d'une α-composante connexe. L'intervalle global de niveaux de gris d'une composante connexe est dénoté GR(.) et est défini par la différence entre la plus grande et le plus petite valeur de pixel au sein de la composante.

Ainsi, on peut également désigner cet arbre comme (α,ω)-arbre et parler de (α,ω)-composantes connexes [224]. Une (α,ω)-composante connexe est dénotée par (α, ω)-CC(p) pour un pixel p et définie par α'-CC(p) avec un maximum $\alpha' \leq \alpha$ tel que l'intervalle global reste inférieur ou égal à ω.

$$\begin{aligned}(\alpha, \omega)\text{-CC}(p) &= \alpha'\text{-CC}(p), \\ &\text{avec } \alpha' = \max\{\alpha'' \mid \alpha'' \leq \alpha \text{ et } \text{GR}(\alpha''\text{-CC}(p)) \leq \omega\}\end{aligned}$$

Bien que la relation suivante reste vraie pour tout pixel p :

$$(\alpha, \omega)\text{-CC}(p) \subseteq (\alpha', \omega'\text{-CC}(p) \text{ pour } \alpha \leq \alpha' \text{ et } \omega \leq \omega')$$

l'ensemble de toutes les (α,ω)-composantes connexes ne peut pas former une hiérarchie en raison de l'ordre inconnu entre (α, ω)-CC(p) et (α', ω')-CC(p) pour $\alpha \leq \alpha'$ et $\omega \leq \omega'$.

Pour $\alpha \geq \omega$, le paramètre local α ne joue aucun rôle car les (α, ω)-composantes connexes sont équivalentes à celles pour $\alpha = \omega$ [221]. Les ω-CC sont considérées comme les plus grandes α-CC(p) avec l'intervalle global inférieur ou égal à ω :

$$(\omega)\text{-CC}(p) = (\alpha \geq \omega, \omega)\text{-CC}(p) = \max\{\alpha'\text{-CC}(p) \mid \text{GR}(\alpha'\text{-CC}(p)) \leq \omega\}$$

Ces ω-CC définissent une hiérarchie, appelées l'(ω)-arbre. La figure 2.6 donne un exemple d'(ω)-arbre.

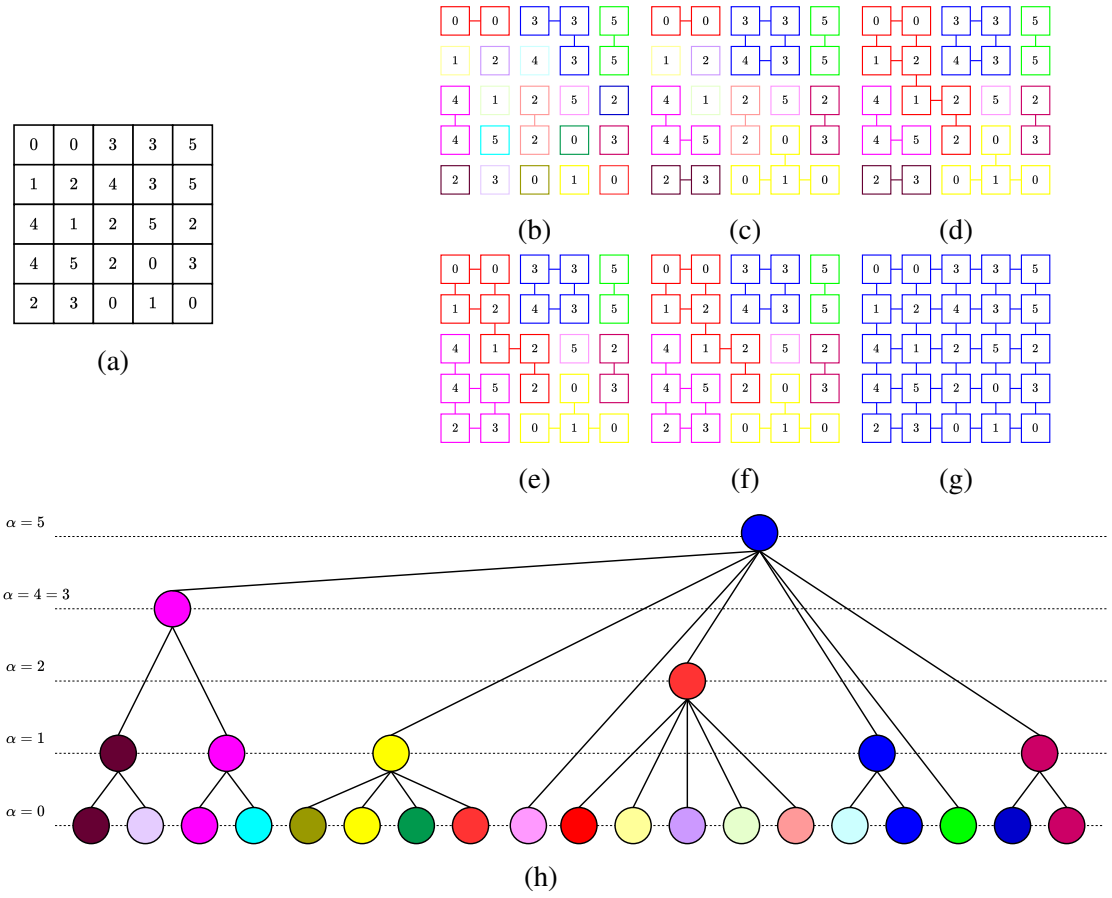


FIGURE 2.6 – Illustration d'un (ω)-arbre. (a) Image en niveaux de gris I. (b-h) (ω)-composantes connexes de I pour $\omega \in [\![0, 5]\!]$. (i) (ω)-arbre de I construit par inclusion des (ω)-composantes connexes (b-h).

Applications

Étant donné la proximité entre α-arbre et (ω)-arbre, on retrouve des applications dans des domaines similaires. Les principales applications concernent le filtrage ou la simplification d'images [221, 11], la segmentation d'images ou de vidéos [221, 228, 11], la télédétection [11, 9], la description de features ou pixels [30], la recherche d'images par le contenu [8], ou encore la classification [9].

Algorithmes

La construction d'un (ω)-arbre, ou toute hiérarchie connexe contrainte, passe par le calcul de l'α-arbre sur lequel il est basé. Les lignes de partage des eaux (*watershed* en anglais) ultramétriques de Najman [158] permettent la visualisation de ces hiérarchies ainsi que leur calcul depuis l'α-arbre basé sur le plus petit ancêtre commun (*Lowest Common Ancestor* ou LCA en anglais) [19] en temps constant pour chaque paire d'éléments voisins dans le *watershed* ultramétrique. Le passage à l'(ω)-arbre lui-même est une opération linéaire.

L'(ω)-arbre peut être interprété comme un α-arbre pour lequel l'intervalle global est utilisé comme mesure de complexité selon Bosilj *et al.* [29], proposant une approche par filtrage supprimant les nœuds de l'α-arbre et indexant la hiérarchie en assignant la mesure de complexité en tant que niveau d'agrégation des nœuds. Cette opération est effectuée par un parcours de l'arbre de type *bottom-up*, linéaire en fonction du nombre de nœuds de l'arbre et du nombre d'éléments de l'image.

2.6.6 L'hyperarbre des coupes

L'hyperarbre des coupes (*component-hypertree* en anglais) introduit par Passat et Naegel [172], est un arbre basé sur l'arbre des coupes et permettant de représenter plusieurs connexités simultanément.

Définition

Dans $\mathbb{Z}^n$, la connexité est généralement traitée en utilisant les notions standards telles que les $2n$- et $(3n-1)$- adjacences [109]. Une définition alternative (morphologique) a été proposée avec la notion **connexité de second ordre** [213]. La **connexité basée sur des masques** [169] propose l'utilisation de masques afin de caractériser des ensembles connexes. Dans le cas binaire, en ne considérant que des masques étant des sous-ensembles ou des sur-ensembles d'une image, la définition suivante peut être dérivée de [169].

Soit $X \subseteq E$. Soit $\omega(X) \subseteq X$ (ou $\supseteq X$) un masque de X. Les ω-composantes connexes de X, notées $CC_\omega(X)$, sont
- les composantes connexes de $\omega(X)$ et les ensembles singletons $\{x\}$ pour tout $x \in X \setminus \omega(X)$ si $\omega(X) \subseteq X$ et
- les ensembles $X \cap Y$ pour toute composante connexe Y de $\omega(X)$ si $\omega X \supseteq (X)$.

Dans la suite, pour une image donnée $I : E \to V$, on considère les masques extensifs (respectivement anti-extensifs) $\Omega_\star(I) : E \to V$. On appelle $\Omega_\star$-composantes connexes et on note $\mathcal{K}_\star$, l'ensemble de toutes les $\omega_\star$-composantes connexes de $X_v(I)$ induites par les masques $\omega_\star(X_v(I)) = X_v(\Omega_\star(I))$ pour toutes les valeurs $v \in V$. En particulier, on considère les familles de masques $\{\Omega_i(I)\}_{i=t}^{u}(t \leq 0 \leq u)$ telles que
- $\Omega_t(I) = C_{E,\infty}$ et
- $\Omega_0(I) = I$ et
- $\Omega_u(I) = C_{E,\top}$ et
- $\Omega_i(I) < \Omega_j(I)$ pout tout $t \leq i < j \leq u$.

Il est possible de construire l'$\Omega_\star$-arbre des coupes de I induit par les $\Omega_\star$-composantes connexes des ensembles de niveaux successifs de I. Soit $I \in \mathbb{Z}^{nV}$. Soit $\{\Omega_i(I)\}_{i=t}^{u}(t \leq 0 \leq v)$ un ensemble d'images masques de I. L'**hyperarbre des coupes** [172] est le triplet $H = (\mathcal{H}, L_\downarrow, L_\rightarrow)$ tel que
- $\mathcal{H}$ est le multiensemble définit par $\mathcal{H} = \bigcup_{i=t}^{u} \mathcal{K}_i$.
- $\forall i \in [\![t, u]\!]$, le sous-graphe de $(\mathcal{H}, L_\downarrow)$ induit par les sous-ensembles des nœuds $\mathcal{K}_i \subseteq \mathcal{H}$ est l'Ω_i-arbre des coupes de I.

— $\forall v \in V$, le sous-graphe de $(\mathcal{H}, L_{\rightarrow})$ induit par les sous-ensembles des nœuds $\mathcal{S}_v = \bigcup_{i \in [\![t,u]\!]} CC_{\omega_i}(X_v(I)) \subseteq \mathcal{H}$ est le diagramme de Hasse du multiensemble partiellement ordonné $(\mathcal{S}_v, \subseteq)$.

Algorithmes

L'algorithme de construction initial a été introduit par Passat et Naegel [172]. Morimitsu *et al.* [150, 153, 152, 151] ont proposé un algorithme pour construire efficacement l'hyperarbre des coupes minimal.

2.7 Les structures hiérarchiques et le cas des images multivaluées

L'extension des opérateurs connexes aux images multivaluées est une tâche importante. En effet, de plus en plus d'appareils de mesure permettent une acquisition multiparamétrique au moyen d'images couleurs ou multivaluées (télédétection, imagerie médicale, images naturelles...).

Dans le cas des images en niveaux de gris, la relation d'ordre sur les niveaux de l'image est un **ordre total**. On considère généralement l'ordre usuel $0 \leq 1 \leq \cdots \leq 254 \leq 255$ ou l'ordre usuel inverse $255 \leq 254 \leq \cdots \leq 1 \leq 0$. La relation d'ordre forme un treillis complet pouvant être représenté sous la forme d'un **diagramme de Hasse**. Pour ces deux ordre totaux, le diagramme de Hasse prend la forme d'un arbre à une seule branche.

En revanche, dans le cas des images multivaluées, il n'existe généralement pas d'ordre usuel sur les différents canaux ou bandes de l'image. Afin d'utiliser les structures hiérarchiques définies sur les images en niveaux de gris sur ces images multivaluées, deux méthodes de traitement sont considérées : le **traitement marginal** et le **traitement vectoriel**.

2.7.1 Le traitement marginal

Le traitement marginal consiste, dans un premier temps, à traiter **chaque canal de l'image séparément**. Ce faisant, le problème multivalué est réduit à un ensemble de problèmes **monovalués**, c'est-à-dire des problèmes en niveaux de gris. Ainsi, une instance de la structure hiérarchique souhaitée (voir la section 2.6) est calculée sur chaque canal, traité comme une image en niveaux de gris indépendante. Dans un second temps, les structures résultantes sont **fusionnées** afin d'obtenir une structure multivaluée représentant l'image multivaluée originale.

L'inconvénient majeur du traitement marginal réside dans la possible apparition de *fausses* valeurs, c'est-à-dire des valeurs non présentes dans l'image originale.

2.7.2 Le traitement vectoriel

Le traitement vectoriel, quant à lui, consiste à définir un **ordre total** ou un **pré-ordre** sur l'espace des valeurs de l'image multivaluée. Plusieurs ordres vectoriels ont été proposés [16] : ordres conditionnels (C-ordres, y compris l'ordre lexicographique), ordres réduits (R-ordres qui consistent à réduire une valeur vectorielle à une valeur scalaire), ordres partiels (P-ordres qui consistent à réunir les vecteurs dans des classes d'équivalences).

À l'inverse du traitement marginal, le traitement vectoriel n'introduit pas de *fausses* valeurs dans l'image résultat. Cependant, la nature de la relation d'ordre influence la manière dont l'image est reconstruite à partir de l'ensemble des nœuds filtrés. En particulier, la reconstruction de l'image diffère selon que la relation soit un **ordre total** ou un **pré-ordre total**.

2.8 Les structures hiérarchiques multivaluées

Cette section présente quelques extensions de structures hiérarchiques définies précédemment (section 2.6) aux images multivaluées.

2.8.1 Le graphe des coupes

Dans la section 2.6.1, la structure d'arbre des coupes est définie sur des images en niveaux de gris, prenant leurs valeurs dans un ensemble muni d'une relation d'ordre total. Le diagramme de Hasse de cet ensemble est un arbre et la structure hiérarchique induite sur les composantes connexes de l'image est également un arbre. Les images multivaluées prenent leurs valeurs dans des ensembles qui ne présentent généralement pas d'ordre total, mais des ordres partiels.

Définition

Quand la relation d'ordre $\leqslant$ est totale ou partielle, Passat et Naegel [171, 173, 155, 175, 174] ont introduit la notion de **graphe des coupes** (*component-graph* en anglais). Le graphe des coupes est une extension de l'arbre des coupes aux images multivaluées. Soit Θ l'ensemble des composantes connexes valuées (X, v) de I défini par

$$\Theta = \bigcup_{v \in V} CC(\lambda_v(I)) \times \{v\} \tag{2.1}$$

La relation d'ordre $\trianglelefteq$ sur Θ est définie par

$$(X_1, v_1) \trianglelefteq (X_2, v_2) \iff (X_1 \subset X_2) \vee ((X_1 = X_2) \wedge (v_2 \leqslant v_1)) \tag{2.2}$$

Le graphe des coupes $\mathfrak{G}$ d'une image $I : \Omega \to V$ est défini comme étant le **diagramme de Hasse** de l'ensemble ordonné $(\Theta, \trianglelefteq)$. En définissant deux sous-ensembles $\dot{\Theta}, \ddot{\Theta} \subseteq \Theta$ des composantes connexes valuées, trois variantes du graphe des coupes peuvent être considérées, notées respectivement $\mathfrak{G}$, $\dot{\mathfrak{G}}$ et $\ddot{\mathfrak{G}}$. La figure 2.7 donne un exemple des trois variantes du graphe des coupes.

Applications

Le graphe des coupes est principalement employé pour tes tâches de segmentation d'images. Naegel et Passat [155] ont utilisé le graphe des coupes à des fins de filtrage et de simplification d'images couleurs. Grossiord *et al.* [83] ont proposé un framework cumulant la notion de *shaping* introduite par Xu et al. [272] et les graphes des coupes pour

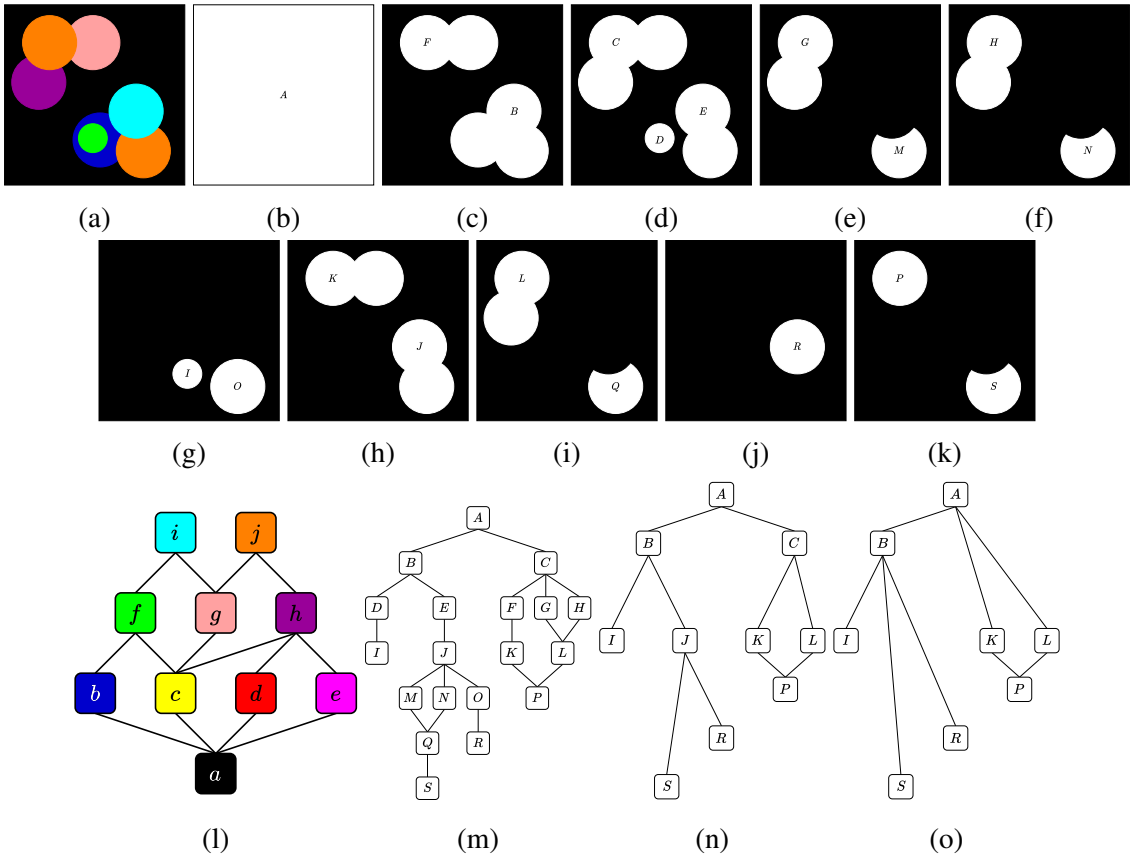


FIGURE 2.7 – Illustration d'un graphe des coupes. (a) Image multivaluée $I : \Omega \to V$ avec $\Omega \subset \mathbb{R}^2$ et $V = \{a, b, c, d, e, f, g, h, i, j\}$. (l) Diagramme de Hasse de l'ensemble ordonné $(V, \leqslant)$. (b-k) Images seuillées $\lambda_v(I)$ pour $v \in V$ montrant les composantes connexes valuées servant à construire le graphe des coupes de I. (m-o) Graphe des coupes, variantes (m) $\mathfrak{G}$, (n) $\dot{\mathfrak{G}}$ et (o) $\ddot{\mathfrak{G}}$.

définir une extension des filtres anti-extensifs aux images multivaluées. Nguyen *et al.* [164] ont proposé une méthode de détection et segmentation à base de graphe des coupes sur des images astronomiques multi-bandes. Récemment, Hashem Faezi *et al.* [89] ont proposé une méthode combinant plusieurs *max-trees* en un graphe dont le principe est inspiré du graphe des coupes, pour la segmentation d'images astronomiques multi-bandes.

2.8.2 L'arbre des coupes multivalué

L'arbre des coupes multivalué est une structure hiérarchique qui étend la notion d'arbre des coupes aux images multivaluées mais reste **moins générale** que la notion de graphe des coupes (section 2.8.1). La notion d'arbre des coupes multivalué a été introduite par Kurtz *et al.* [113].

Définition

À l'inverse de l'arbre des coupes (voir la section 2.6.1) qui a toujours une structure d'arbre, le graphe des coupes (voir la section 2.8.1) n'a, en général, pas la structure d'un arbre. Il existe cependant une **sous-famille** des graphes des coupes réunissant des structures plus générales que les arbres des coupes et donc non restreintes aux images en niveaux de gris, mais qui conservent tout de même une **structure d'arbre**.

Cette sous-famille définit la notion d'**arbres des coupes multivalués**. Les arbres des coupes multivalués sont définis lorsque le diagramme de Hasse de $(V, \leqslant)$ a une structure d'arbre, c'est-à-dire lorsque $(V, \leqslant)$ est totalement ordonné. De part sa proximité avec le graphe des coupes, trois variantes $\mathfrak{G}$, $\dot{\mathfrak{G}}$ et $\ddot{\mathfrak{G}}$ de l'arbre des coupes multivalué peuvent être considérées sur le même principe que le graphe des coupes. La figure 2.8 illustre les trois variantes de l'arbre des coupes multivalué.

Algorithmes

De nombreux algorithmes de construction des arbres des coupes ont été développés [37]. Cependant, ces algorithmes sont adaptés aux traitements d'images en niveaux de gris et ne peuvent pas traiter des images pour lesquelles $(V, \leqslant)$ est un LPTOS (*lower piecewise totally ordered set* en anglais ou ensemble inférieur totalement ordonné par morceaux) mais pas un ensemble totalement ordonné.

L'arbre des coupes multivalué $\dot{\mathfrak{G}}$ peut être obtenu depuis le graphe des coupes moyennant une étape de pré-traitement et une étape de post-traitement [113]. Le calcul des arbres des coupes multivalués $\mathfrak{G}$ et $\ddot{\mathfrak{G}}$ nécessitent, quant à eux, la mise en place d'algorithmes spécifiques.

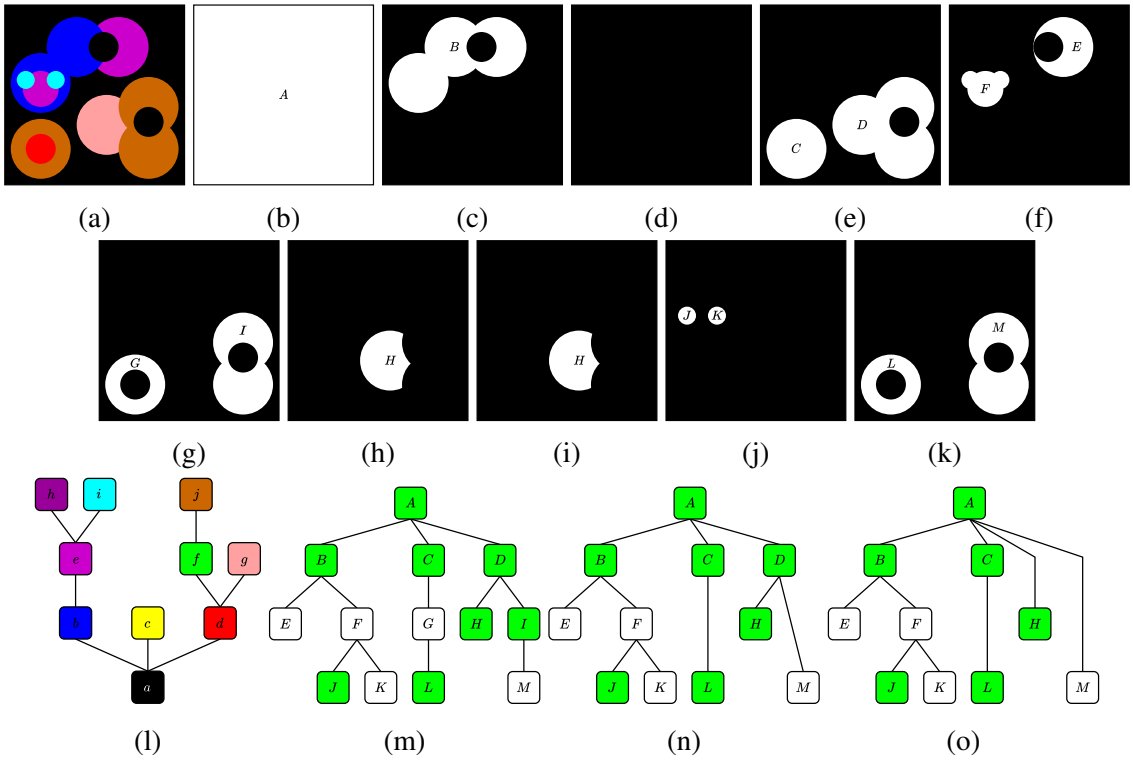


FIGURE 2.8 – Illustration de la construction d'un arbre des coupes multivalué. (a) Image $I : \Omega \to V$ avec $V = \{a, \ldots, j\}$. (l) Diagramme de Hasse de $(V, \leqslant)$. (b-k) Images seuillées $\lambda_v(I)$ pour $v \in V$. (m-o) Arbres des coupes multivalués de I avec (m) la variante $\mathfrak{G}$, (n) la variante $\dot{\mathfrak{G}}$ et (o) la variante $\ddot{\mathfrak{G}}$.

2.8.3 L'arbre des formes multivalué

L'arbre des formes multivalué ou MToS (*multivariate tree of shapes* en anglais) introduit par Carlinet et Géraud [38], est une extension de la structure d'arbre des formes (voir la section 2.6.2) aux images multivaluées.

Le MToS est construit en appliquant un **traitement marginal**. La méthode de construction de l'arbre des formes multivalué proposée par Carlinet et Géraud [38] se compose de cinq étapes. La méthode contient deux objectifs principaux : la fusion de plusieurs arbres en un unique graphe et la déduction d'un arbre à partir de ce graphe.

Chaque canal de l'image est traité séparément et un arbre des formes est calculé. Les différents ToS sont fusionnés pour former un **graphe des formes** ou **GoS** (*graph of shapes*

en anglais). Un arbre est déduit depuis le graphe et forme le MToS. La figure 2.9 donne un exemple d'arbre des formes multivalué.

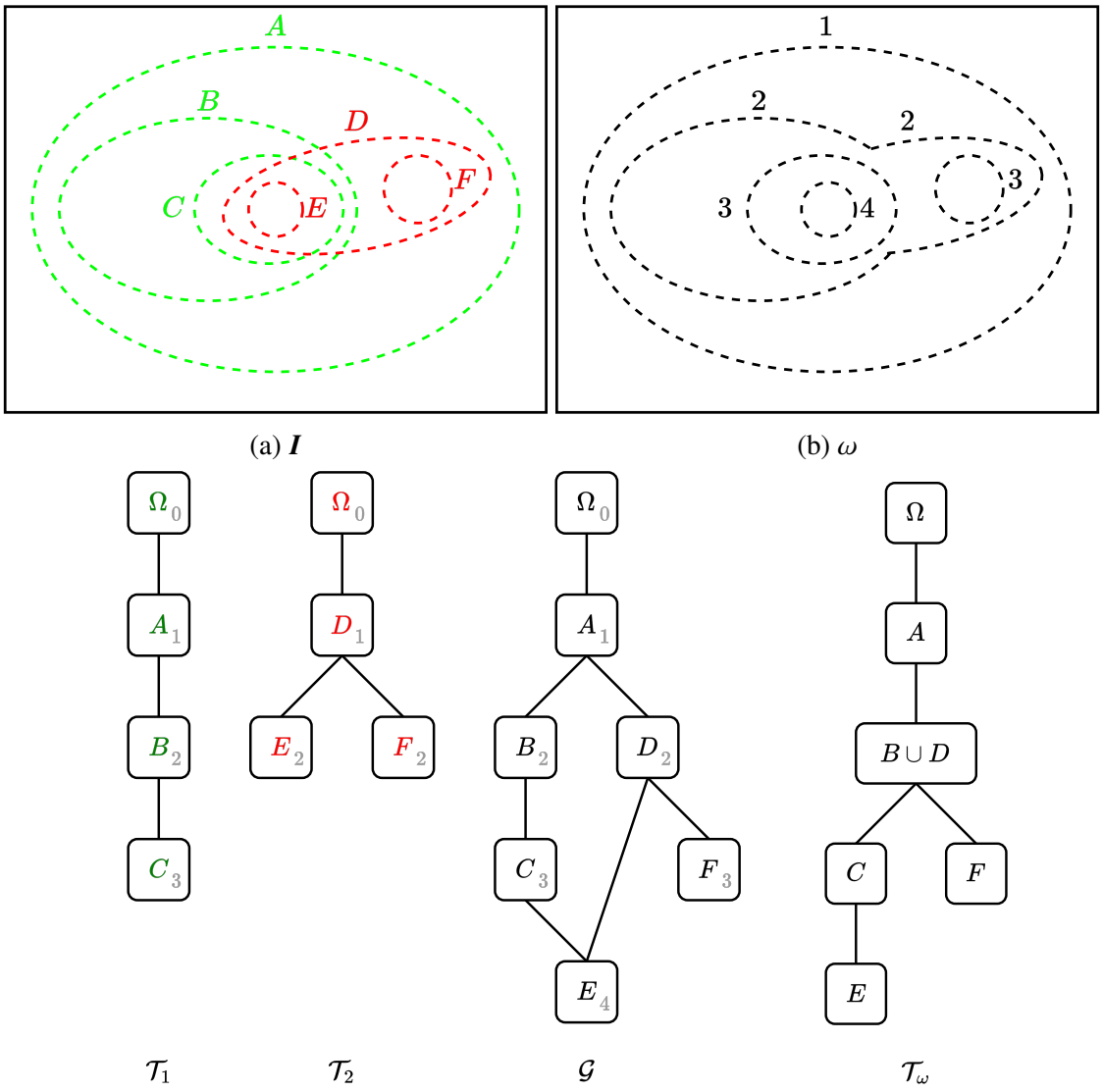
2.9 Conclusion

Les structures hiérarchiques sont des **représentations hiérarchiques** des images bien établies en morphologie mathématique. Il existe différentes **approches complémentaires** selon le domaine d'application. Ce sont des **structures populaires** pour le traitement d'images en raison de leurs propriétés morphologiques, de la richesse d'information contenues dans ces représentations, et des nombreux travaux qui ont permis le développement d'algorithmes robustes et efficaces.

L'extension de ces structures aux images multivaluées est un sujet de recherche actif, motivé par la richesse accrue portée par ce type d'images. Il reste cependant d'autres approches à explorer afin d'enrichir les structures existantes ou d'en définir des extensions. Par exemple, si les structures hiérarchiques permettent une analyse multi-échelles des images, en considérant des objets à différentes échelles de partitionnement, les pixels de ces images sont toujours considérés à une **échelle fixe**.

Il pourrait être intéressant d'explorer cet aspect multi-échelles au **niveau spatial** pour ajouter aux structures une notion d'optimisation spatiale. Ainsi, une distinction entre les pixels des régions connexes exhibant certaines caractéristiques (forme, contour, couleur, texture, valeurs extrêmes...) et ceux appartenant aux autres régions composant le reste de l'image pourrait être mise en place. Cette **distinction** permettrait de promouvoir les régions jugées plus *intéressantes* par rapport à ces caractéristiques et à la tâche de traitement souhaitée qui seraient représentées par des pixels à fines échelles tandis que les autres régions, non promues, seraient représentées par des pixels à des échelles plus grossières.

C'est ce que nous avons décidé de proposer en définissant une **extension de l'arbre des coupes** composé des nœuds pouvant contenir des pixels à de multiples échelles. Cette nouvelle structure, appelée **arbre des coupes multi-échelles** est détaillée dans le chapitre 3.



(a) $\boldsymbol{I}$ (b) ω

(c) Traitement marginal (d) MToS

FIGURE 2.9 – Illustration de la construction d'un arbre des formes multivalué. (a) Image $\boldsymbol{I}$ à deux canaux et avec deux formes A et B. (b) ω construit à partir de $\mathcal{G}$. (c) Construction marginale des ToS avec (c) le ToS $\mathcal{T}_1$ du canal 1 (vert) et (d) le ToS $\mathcal{T}_2$ du canal 2 (rouge). La profondeur est indiquée en gris dans les nœuds. Le graphe des formes $\mathcal{G}$ (GoS) est construit par fusion de $\mathcal{T}_1$ et $\mathcal{T}_2$. (d) Le max-tree $\mathcal{T}_f$ de ω c'est-à-dire le MToS $\mathcal{T}_\omega$.

Chapitre 3

Le MSCT : un arbre des coupes multi-échelles

3.1 Motivations

Les structures hiérarchiques offrent des outils morphologiques d'analyse des images via la définition d'**opérateurs connexes** (chapitre 2). Ces structures offrent plusieurs avantages.

Premièrement, elles offrent des représentations des images plus riches que la représentation sous forme de matrice de pixels. En effet, elles créent un **encodage compact et sans perte** du contenu des images. Les nœuds des arbres représentent des composantes connexes et les sous-arbres des zones plates réunissant des ensembles de pixels partageant des caractéristiques communes (couleurs, intensités, voisinage...).

Deuxièmement, en tant qu'opérateurs connexes, elles sont capables de traiter des images tout en **préservant l'information de contours** des composantes connexes qui les composent. La manipulation des nœuds des arbres ne peut aboutir qu'à une suppression ou une fusion de ceux-ci. Aucun nouveau contour ne peut donc être introduit autrement que par fusion de contours déjà existants.

Troisièmement, elles forment des **décompositions des images** à plusieurs échelles d'objets et permettent alors une **analyse multi-échelles des objets** de l'image. Les nœuds situés près de la racine correspondent à des objets à une échelle grossière tandis que ceux situés près des feuilles correspondent à des objets à une échelle fine.

Quatrièmement, des tâches de segmentation ou de simplification des images peuvent s'effectuer directement en procédant à un **filtrage** des nœuds de l'arbre et à une reconstruction de l'image à partir de l'arbre filtré. La structure (arbre) n'ayant besoin d'être calculée qu'une seule fois, l'opération de filtrage est efficace en terme de complexité temporelle.

À titre d'exemple, l'arbre des coupes (voir la section 2.6.1) est une structure hiérarchique populaire pour les raisons évoquées ci-dessus mais aussi car de nombreux algorithmes efficaces ont été développés. Ils permettent ainsi un calcul efficace de cette structure (voir la section 2.6.1).

Plusieurs extensions ont été proposées ces dernières années. Certaines extensions sont des arbres comme l'arbre d'hyperconnexité [181], l'arbre des coupes multivalué (voir la section 2.8.2) qui permet de traiter des valeurs dotées d'ordres hiérarchiques, l'arbre des formes complet [170] qui unifie *min-tree* et *max-tree* et les lie à l'arbre des formes (voir la section 2.6.2) on encore le paradigme du *shaping* [274] qui consiste à construire un arbre des coupes sur un arbre des coupes.

D'autres extensions sont des graphes orientés acycliques comme le graphe des coupes (voir la section 2.8.1) qui permet de traiter les valeurs dotées d'ordres partiels, l'hyperarbre des coupes (voir la section 2.6.6) qui étend l'arbre des coupes aux connexités de second ordre, ou encore les hiérarchies asymétriques [179] qui permettent de traiter les liens d'adjacence non symétriques.

Cependant, il n'existe pas de proposition visant à modéliser la **nature multi-échelles** des images. En effet, certaines régions de l'image encodent des structures présentant un intérêt particulier (forme, texture, valeurs extrêmes...). Par opposition à ces régions que l'on peut considérer comme étant *plus intéressantes* en fonction de la tâche à accomplir (détection, segmentation, simplification...), les autres régions ne nécessitent pas forcément d'être encodées à un niveau de détails aussi élevé. Ainsi, on peut faire une **distinction entre les pixels** de l'image. Ceux appartenant à ces régions d'intérêt sont privilégiés par une **fine résolution** garantissant un haut niveau de détails au sein des composantes tandis que les autres, appartenant à des régions de moindre intérêt, peuvent être abaisées à de **plus faibles résolutions** induisant de plus faibles niveaux de détails au sein de ces composantes.

L'hyperarbre des coupes (voir la section 2.6.6) est probablement la structure la plus proche et produit une forêt d'arbres des coupes induite par une famille de connexités croissantes. Dans ce contexte, la notion d'échelle est considérée au niveau topologique. Nous

proposons, dans le cadre de cette thèse, une nouvelle structure hiérarchique permettant de traiter la nature **multi-échelles de l'image au niveau spatial**. La structure ainsi définie est une extension de l'arbre des coupes et est dénommée **arbre des coupes multi-échelles** (*multi-scale component-tree* ou MSCT en anglais).

Le chapitre est organisé de la manière suivante. La section 3.2 présente les principes régissant l'arbre des coupes multi-échelles et donne l'algorithme proposé pour sa construction. La section 3.3 détaille la construction d'un MSCT en déroulant l'algorithme de construction. La section 3.4 donne des précisions concernant la complexité de l'algorithme proposé. Enfin, la section 3.5 décrit des pistes d'applications du MSCT ainsi que des propositions d'extension.

3.2 L'arbre des coupes multi-échelles

3.2.1 Le principe général

Par contraste avec l'arbre des coupes qui modélise une image sans tirer parti du caractère informatif local, le MSCT vise à adapter l'échelle de modélisation **en fonction de l'information locale**. Ainsi, l'échelle de modélisation est plus grande (respectivement plus petite) sur des zones faisant état d'une plus grande (respectivement plus petite) présence de détails et/ou de structures d'intérêt.

Pour ce faire, plusieurs échelles de l'image d'entrée sont considérées. L'échelle originale fait office d'échelle maximale servant à représenter les zones de l'image contenant beaucoup de détails et/ou d'objets d'intérêt. Les échelles plus petites sont obtenues en effectuant un **processus de sous-échantillonnage** de l'image. Ces échelles plus faibles servent à représenter les zones de l'image contenant peu ou pas de détails et/ou d'objets d'intérêt.

Au début, une **hiérarchie globale** (arbre) est calculée à faible échelle et de fait, toute l'image est considérée *de moindre importance*. Itérativement, des nœuds de l'arbre sont automatiquement **sélectionnés** en fonction de la nature locale des pixels. Ces nœuds sont alors promus à une échelle supérieure via le calcul d'une **hiérarchie locale** sur la zone de l'image sur-échantillonnée. Enfin, les différentes hiérarchies locales à l'échelle supérieure sont **fusionnées** avec la hiérarchie globale à l'échelle courante. La figure 3.1 illustre le principe de construction d'un MSCT.

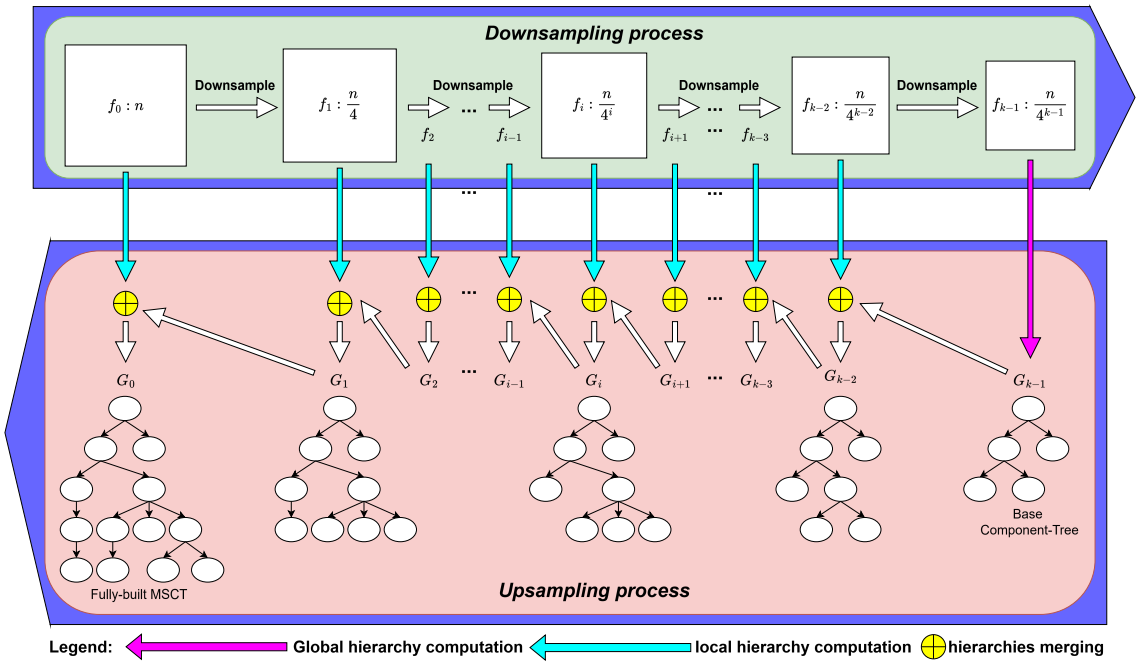


FIGURE 3.1 – Illustration du principe de construction du MSCT.

3.2.2 L'algorithme général de construction

Comme décrit ci-dessus, l'objectif du principe de construction du MSCT est de représenter le **fond** de l'image ainsi que les zones **peu importantes** de celle-ci au sein de zones plates à **faibles échelles** tout en représentant les zones **importantes** et **finement détaillées** au sein de zones plates à **hautes échelles**. La méthode de construction proposée est résumée par l'algorithme 1 et illustrée par la figure 3.1. Elle se compose de trois étapes :

— Un processus de **sous-échantillonnage** de l'image en niveaux de gris permet d'obtenir une famille d'images sous-résolues. Cette opération est décrite dans la section 3.3.1 et correspondant à la ligne 2 de l'algorithme 1.

— La définition d'un **arbre des coupes de base** à faible échelle. Cette opération est décrite dans la section 3.3.2 et correspond à la ligne 3 de l'algorithme 1.

— Un processus itératif de **sur-échantillonnage** choisissant automatiquement des régions significatives d'une échelle courante à une échelle supérieure. Cette opération est décrite dans les sections 3.3.3 à 3.3.7 et correspond aux lignes 4 à 10 de l'algorithme 1.

Algorithme 1 : Algorithme général de construction du MSCT

Données : $f : \mathbb{S}_n \to \mathbb{V}$ une image en niveaux de gris, $k \in \mathbb{N}^\star$ un nombre d'échelles
Résultat : $G = (V, E)$ l'arbre des coupes multi-échelles de f

début
  $F \leftarrow \{f_0, \ldots, f_{k-1}\}$ avec $f_0 = f$ et $\forall i \in [\![1, k-1]\!]$, $f_i \leftarrow MaxPool(f_{i-1})$
  $G \leftarrow G_{k-1} \leftarrow MaxTree(f_{k-1})$
  pour i *de* $k-2$ *à* 0 **faire**
    $C_i \leftarrow SelectionNoeuds(G, i)$
    pour chaque $N \in C_i$ **faire**
      $G_i(N) \leftarrow MaxTreePartiel(f_i, N)$
      $FusionHierarchies(G, G_i(N), N)$
    fin
  fin
fin

3.3 La construction détaillée d'un MSCT

Soit $f : \mathbb{Z}^2 \to \mathbb{N}$ une image 2D. En pratique, cette image est finie. Sans perte de généralité, on peut supposer qu'elle est définie sur un support carré $\mathbb{S}_n = [\![0, 2^n - 1]\!]^2 \subseteq \mathbb{Z}^2$ ($n \in \mathbb{N}$) et composée de $N = 2^{(2n)}$ pixels.

On peut également supposer qu'elle prend ses valeurs dans un sous-ensemble fini $\mathbb{V} \subset \mathbb{N}$, qui peut être choisi comme $\mathbb{V} = [\![0, m-1]\!]^2$. L'image f étant finie, on peut supposer que $f(x) = 0$ pour tout $x \notin \mathbb{S}_n$. On munit $\mathbb{N}$ (et donc $\mathbb{V}$) d'un ordre standard $\leqslant$. On munit $\mathbb{Z}^2$ (et donc $\mathbb{S}_n$) d'une relation de connexité héritée des adjacences classiques en topologie digitale. Pour tout sous-ensemble non vide $X \subseteq \mathbb{Z}^2$, on note $CC(X) \subset 2^{\mathbb{Z}^2}$ l'ensemble des composantes connexes de X.

Soit $\lambda \in \mathbb{V}$. On note $\mathcal{L}^\lambda$ l'ensemble des niveaux supérieurs de f à la valeur λ (voir la section 2.3.2). La famille $\{CC(\mathcal{L}^\lambda)\}_{\lambda \in \mathbb{V}}$ est croissante. Soit $\lambda \in \mathbb{V}$ ($\lambda \neq 0$) et $X_{\lambda+1} \in CC(\mathcal{L}^{\lambda+1})$ une composante connexe de l'ensemble des niveaux supérieurs de $\lambda + 1$. Il existe une unique $X_\lambda \in CC(\mathcal{L}^\lambda)$ telle que $X_{\lambda+1} \subseteq X_\lambda$.

3.3.1 Le processus de sous-échantillonnage

L'entrée de la procédure de construction du MSCT est une image $f : \mathbb{S}_n \to \mathbb{V}$ telle que définie précédemment. À partir de f, on définit un ensemble d'images sous-échantillonnées $F = \{f_i : \mathbb{S}_{n-1} \to \mathbb{V}\}_{i=0}^{k-1}$ avec k le nombre d'échelles considérées ($1 \leqslant k \leqslant n$). Pour tout $i \in [\![0, k-1]\!]$, l'image f_i est la i^{e} image sous-échantillonnée depuis f, c'est-à-dire à l'échelle $\frac{1}{2^i}$.

On pose $f_0 = f$. Pour tout $i \in [\![0, k-1]\!]$, l'image f_{i+1} est obtenue à partir de l'image f_i en réduisant un ensemble de 2×2 points de $\mathbb{S}_{n-i}$ en un point de $\mathbb{S}_{n-(i-1)}$. L'arbre des coupes est un modèle de l'image particulièrement bien adapté à la modélisation des images où l'information importante est située sur les **maxima locaux** de celle-ci. Conséquemment, on suppose que dans le MSCT, il est intéressant de préserver les zones contenant des valeurs maximales par rapport aux zones du fond contenant des valeurs moins élevées. C'est pourquoi nous utilisons une **stratégie maximale** pour définir f_{i+1} à partir de f_i.

Plus précisement, pour tout $x \in \mathbb{S}_{n-(i+1)}$, on définit

$$f_{i+1}(x) = \max_{0 \leqslant a,b \leqslant 1} \{f_i(2x + (a, b))\} \tag{3.1}$$

Cette opération est notée *MaxPool* dans la suite (algorithme 1, ligne 2) en référence à la fonction analogue généralement utilisée en *deep learning*. La figure 3.2 donne un exemple d'application de la fonction *MaxPool*. Le processus de sous-échantillonnage est appliqué $k-1$ fois de f_0 à f_{k-1}. L'image f_0 est composée de N pixels et à chaque sous-échantillonnage, la taille de l'image est réduite de $\frac{3}{4}$. Ainsi, l'image f_i contient $\frac{N}{4^i}$ pixels et l'image la plus sous-résolue, f_{k-1} ne contient plus que $\frac{N}{4^{k-1}}$ pixels (voir la figure 3.3).

3.3.2 La hiérarchie globale

L'objectif du MSCT est de représenter l'information contenue dans une image (potentiellement très grande) tout en minimisant les coûts spatiaux et temporels nécessaires à sa manipulation. En conséquence, la construction du MSCT débute par le calcul d'un arbre des coupes (voir la section 2.6.1). Plus précisement, un **max-tree** est calculé à l'**échelle minimale**, c'est-à-dire que le *max-tree* de f_{k-1} est calculé. L'image f_{k-1} est définie sur $\mathbb{S}_{k-1}$ et ne contient que $\frac{N}{4^{k-1}}$ pixels. Ce *max-tree* spécifique est appelé **arbre des coupes de base** (*base component-tree* en anglais).

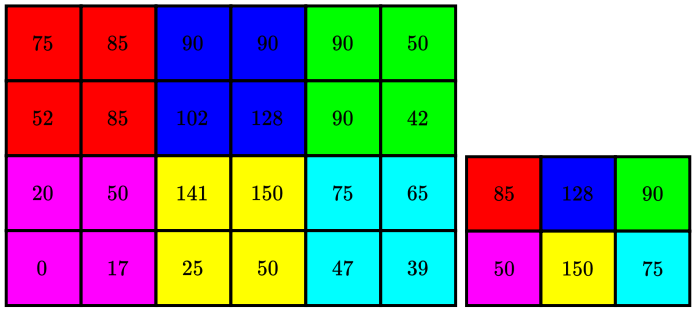


FIGURE 3.2 – Illustration du sous-échantillonnage par application de la stratégie maximale de *max-pooling*. (a) Image originale. (b) Image sous-résolue.

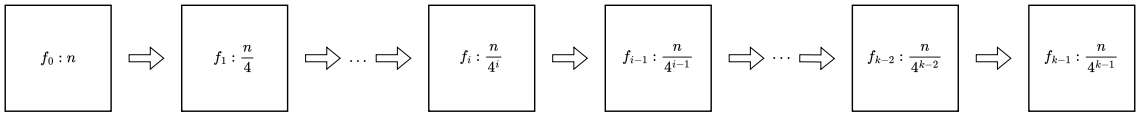


FIGURE 3.3 – Illustration du processus de sous-échantillonnage de l'image.

On note $MaxTree : \mathbb{V}^2 \rightarrow \mathbb{T}$ la fonction transformant n'importe quelle image finie $f : \mathbb{Z}^2 \rightarrow \mathbb{V}$ en un arbre des coupes $G = (V, E) \in \mathbb{T}$ où $\mathbb{T}$ est l'ensemble de tous les arbres enracinés. On rappelle que la complexité temporelle des algorithmes optimaux implémentant le calcul du *max-tree* est $O(n \log(n))$ [37] où n est le nombre de pixels du support de l'image. Dans notre cas, l'arbre des coupes de base $G_{k-1} = (V_{k-1}, E_{k-1}) \in \mathbb{T}$ est calculé depuis l'image $f_{k-1} : \mathbb{S}_{k-1} \rightarrow \mathbb{V}$ et induit un coût algorithmique temporel de $O(\frac{N}{4^{k-1}} \log \frac{N}{4^{k-1}})$.

3.3.3 Le processus de sur-échantillonnage

Le MSCT $G = (V, E)$ est initialisé en tant qu'arbre des coupes de base (voir la section 3.3.2) $G_{k-1} = (V_{k-1}, E_{k-1})$. À ce stade, l'image f dans sa totalité c'est-à-dire incluant à la fois les régions de fort intérêt et les régions de faible intérêt, est représentée à faible échelle. L'objectif de la procédure de **sur-échantillonnage** (que l'on peut également appeler **procédure d'enrichissement**) est de modifier l'arbre G afin de représenter les régions de fort intérêt à de plus hautes échelles en fonction de leur degré d'importance. En somme, on cherche à promouvoir progressivement les régions les plus importantes vers l'échelle originale de f tout en maintenant les régions de moindre intérêt plus proches de l'échelle de f_{k-1}.

Ce processus d'enrichissement est appliqué **itérativement**, échelle par échelle, depuis l'échelle minimale jusqu'à l'échelle maximale (algorithme 1, ligne 4). À chaque itération $i \in [\![0, k-2]\!]$ (et donc à chaque échelle), un ensemble de nœuds $C_i \subseteq V$ est sélectionné au sein des nœuds de l'arbre G. Ces nœuds sont supposés contenir de l'information importante et requièrent le calcul d'un arbre des coupes local sur les zones plates leur étant associées. La procédure de sélection des nœuds dans G à l'échelle i est dénotée par $SelectionNoeuds(G, i)$ dans l'algorithme 1, ligne 5, et est décrite dans la section 3.3.4.

Pour chaque nœud sélectionné $N \in C_i$ (algorithme 1, ligne 6), le *max-tree* de l'image f_i restreint à la région $N \subseteq \mathbb{S}_{n-1}$ est calculé. Ce calcul d'un *max-tree* « local » (et donc partiel), dénoté $MaxTreePartiel(f_i, N)$ n'est rien d'autre que le calcul d'un *max-tree* classique sur une région connexe donnée N. Algorithmiquement parlant, le comportement de $MaxTree(f_{k-1})$ (algorithme 1, ligne 3) est le même que $MaxTreePartiel(f_k, \mathbb{S}_{n-k-1})$. En particulier, notre implémentation utilise une version de l'algorithme de Najman et Couprie [159]. Bien que nous ne considérions que des valeurs de pixels entières, cet algorithme utilise la méthode *union-find* de Tarjan [243] et est donc également capable de traiter efficacement des **valeurs flottantes**. Une fois le nouvel arbre des coupes partiel $G_i(N) = (V_i(N), E_i(N))$ calculé, il reste à l'insérer au sein du MSCT G. Ce processus de fusion des hiérarchies locales (les arbres des coupes partiels) sur la hiérarchie globale (le MSCT) est détaillé dans la section 3.3.6.

3.3.4 Le choix des nœuds d'intérêt

À chaque itération/échelle i, un ensemble de nœuds C_i est sélectionné par la procédure de sélection. Le choix des nœuds les plus importants est assuré par un **score de priorité** assigné à chaque nœud $N \in V$ du MSCT courant $G = (V, E)$. La procédure de choix des nœuds est illustrée par l'algorithme 2. Le calcul de ce score est basé sur la notion de **zones extrêmes maximalement stables** (*maximally stable extremal regions* ou MSER en anglais) [134]. La valeur de **stabilité MSE** d'un nœud $N \in V$ appartenant à un ensemble de niveaux à la valeur $v \in \mathbb{V}$ est définie par $MSER(N) = \frac{|N_{-\Delta}| - \sum_p |N^P_{+\Delta}|}{|N|}$ où $N_{-\Delta} \in V$ désigne le nœud **ancêtre** de N au niveau $v - \Delta$ tel que $N \subseteq N_{-\Delta}$ et $N^P_{+\Delta} \in V$ désigne tous les nœuds **descendants** de N au niveau $v + \Delta$ tels que $N \supseteq N^P_{+\Delta}$. La figure 3.4 illustre les nœuds concernés par le calcul de stabilité MSER d'un nœud de G. Les nœuds de V sont alors triés par **stabilité décroissante**.

L'ensemble des nœuds sélectionnés est défini en choisissant les nœuds par ordre décroissant de stabilité dans une liste (algorithme 2, ligne 3). Les nœuds sélectionnés doivent correspondre à des composantes connexes non superposées. Autrement dit, pour tous nœuds $N_1, N_2 \in C_i$, on ne doit avoir ni $N_1 \subseteq N_2$, ni $N_2 \subseteq N_1$. En effet, ces nœuds sont amenés à devenir les racines de *max-trees* partiels qui seront intégrés au MSCT G. Il est donc requis qu'aucun de ces nouveaux arbres **ne s'intersectent ou ne s'incluent**. Conséquemment, les ancêtres et les descendants de chaque nœud sélectionné sont progressivement supprimés de la liste (algorithme 2, lignes 7 à 9). Le processus de sélection se termine lorsque la liste est vide. La figure 3.5 donne un exemple d'application de l'algorithme 2.

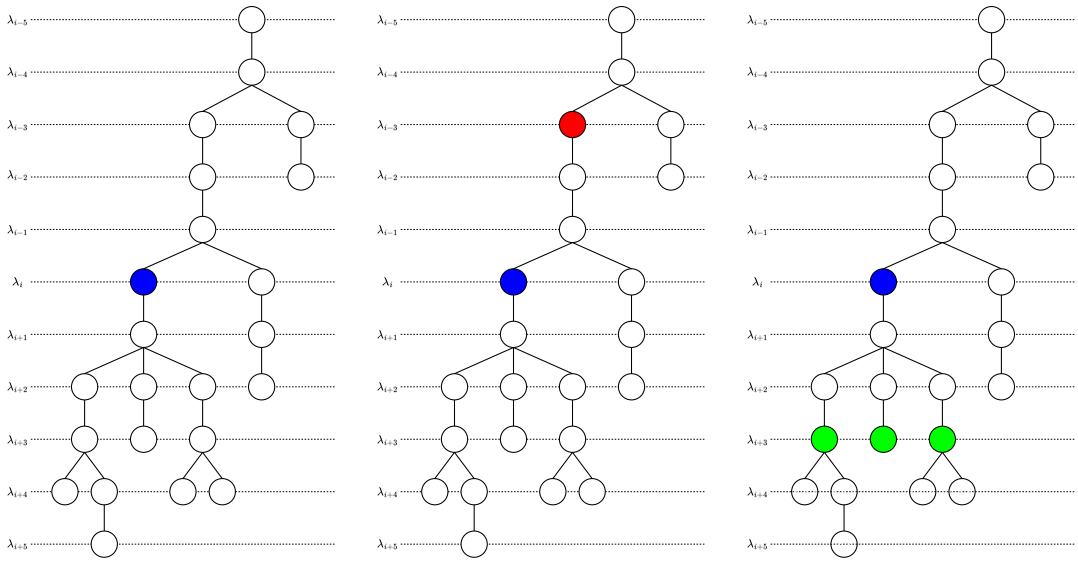
Algorithme 2 : SelectionNoeuds

Données : $G_i = (V_i, E_i)$ MSCT de f_i, i échelle courante.
Résultat : $C_i \subseteq V_i$ nœuds sélectionnés.

```
1  début
2      C_i ← ∅
3      Q ← {N ∈ V_i | ∀N_a, N_b ∈ V_i, MSER(N_a) ⩽ MSER(N_b)}
4      tant que |Q| > 0 faire
5          v ← Pop(Q)
6          C_i ← C_i ∪ {v}
7          A_v ← Ancetres(G_i, v)
8          D_v ← Descendants(G_i, v)
9          Q ← Q \ {A_v ∪ D_v}
10     fin
11 fin
```

3.3.5 Le calcul des arbres des coupes partiels

Comme expliqué dans la section 3.2.2, la procédure $MaxTreePartiel(f_i, N)$ consiste en un calcul de *max-tree* sur l'image f_i contraint par une région $N \in V$ issue du MSCT $G = (V, E)$ de l'image sous-résolue f_{i+1}. La région N dans l'espace $\mathbb{S}_{i-1}$ est projetée dans l'espace $\mathbb{S}_i$. Pour tout pixel $x \in \mathbb{S}_{i+1}$, on définit sa projection dans $\mathbb{S}_i$ par $x' = 2x$. La zone plate N' est ainsi composée de tous les pixels $x \in N$ tels que $N' = \{2x \mid n \in N\}$. Le *max-tree* est ainsi calculé sur $f_i \cap N'$. La figure 3.6 donne un exemple de calcul de *max-tree* partiel. Un *max-tree* partiel est calculé pour chaque nœud sélectionné par la procédure $SelectionNoeuds(G, i)$ (voir la section 3.3.4).



(a) (b) (c)

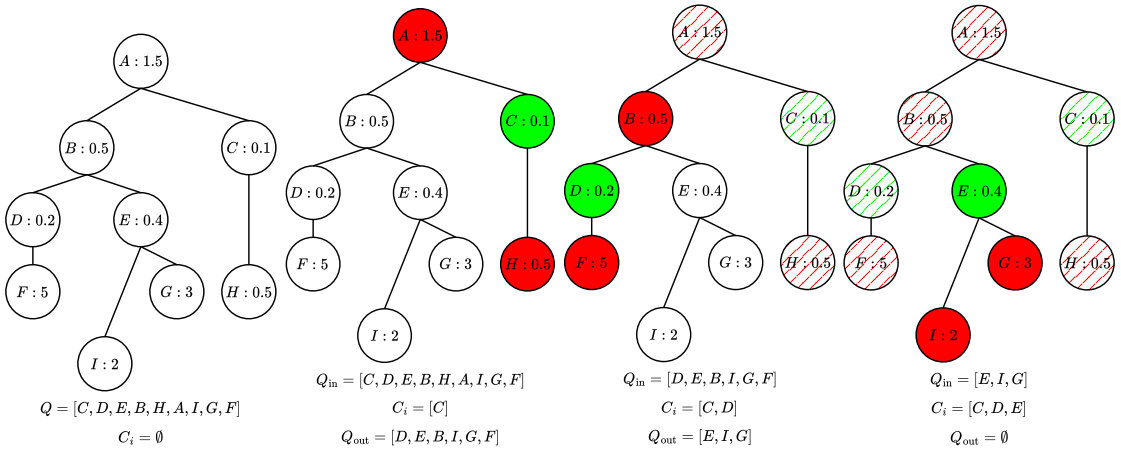
FIGURE 3.4 – Illustration du calcul de stabilité MSER sur les nœuds d'un MSCT. (a) MSCT avec le nœud traité N en bleu. (b) Nœud $N_{-\Delta}$, ancêtre de N, en rouge avec $\Delta = 3$. (c) Nœuds $N^P_{+\Delta}$, descendants de N, en vert avec $\Delta = 3$.

3.3.6 La fusion des hiérarchies partielles et totales

Comme décrit précédemment, pour chaque nœud $N \in V$ sélectionné par le processus de sélection $SelectionNoeuds(G, i)$ (voir la section 3.3.4), un *max-tree* $G_i(N) = (V_i(N), E_i(N))$ est calculé (voir la section 3.3.5) sur l'image f_i restreinte au support de N. Ce nouveau *max-tree* $G_i(N)$ est amené à remplacer le sous-arbre actuellement présent dans G et enraciné sur le nœud N. Cependant, le nœud N qui est la racine du sous-arbre à remplacer, est défini à un niveau $v \in \mathbb{V}$ et son parent N' est défini à un niveau $v' \in \mathbb{V}$ avec $v' < v$. L'algorithme 3 décrit le processus de fusion détaillé ici.

Par contraste, le nouveau *max-tree* partiel construit sur la région N peut avoir sa racine à une valeur **inférieure** à v. Dans ce contexte, l'arbre $G_i(N) = (V_i(N), E_i(N))$ doit être **séparé en deux morceaux** qui doivent être traités de manière séparée.

D'un côté, tous les nœuds $N_u \in V_i(N)$ qui sont définis à une valeur $u \in \mathbb{V}$ avec $u \leqslant v'$ doivent être **fusionnés** avec le nœud ancêtre $N'_u \in V$ au niveau u, qui est l'ancêtre du nœud



(a) initialisation (b) étape 1 (c) étape 2 (d) étape 3

FIGURE 3.5 – Illustration de l'algorithme 2. (a) Un MSCT avec les valeurs de stabilité MSER. La liste Q contient les nœuds classés par ordre décroissant de stabilité, c'est-à-dire par ordre croissant de valeurs. (b) Sélection du nœud C et suppression des nœuds A et H. (c) Sélection du nœud D et suppression des nœuds B et I. (d) Sélection du nœud E et suppression des nœuds I et G.

N dans G. La *nouvelle version* du nœud N'_u correspond désormais à $N'_u \cup N_u$. Ce traitement correspond aux deux sous-algorithmes $FusionA$ (algorithme 4) et $FusionB$ (algorithme 5).

De l'autre côté, tous les nœuds $N_u \in V_i(N)$ tels que leur nœud parent $N_w \in V_i(N)$ défini pour un niveau $w \leqslant v'$ deviennent désormais les **racines des arbres partiels** de f_i restreint à N_u, et la racine N_u doit être connectée au nœud N'_v. Ce traitement correspond au sous-algorithme $FusionC$ (algorithme 6).

Autrement dit, le nœud N est remplacé par une **forêt extraite** de son *max-tree* $G_i(N)$, qui est connectée au nœud parent de N, tandis que le reste des nœuds de l'arbre est **absorbé par la branche** de G située entre le nœud N et la racine de G. Cette politique produit une structure particulière du MSCT dans laquelle chaque nœud peut être amené à **encoder des pixels à différentes échelles**.

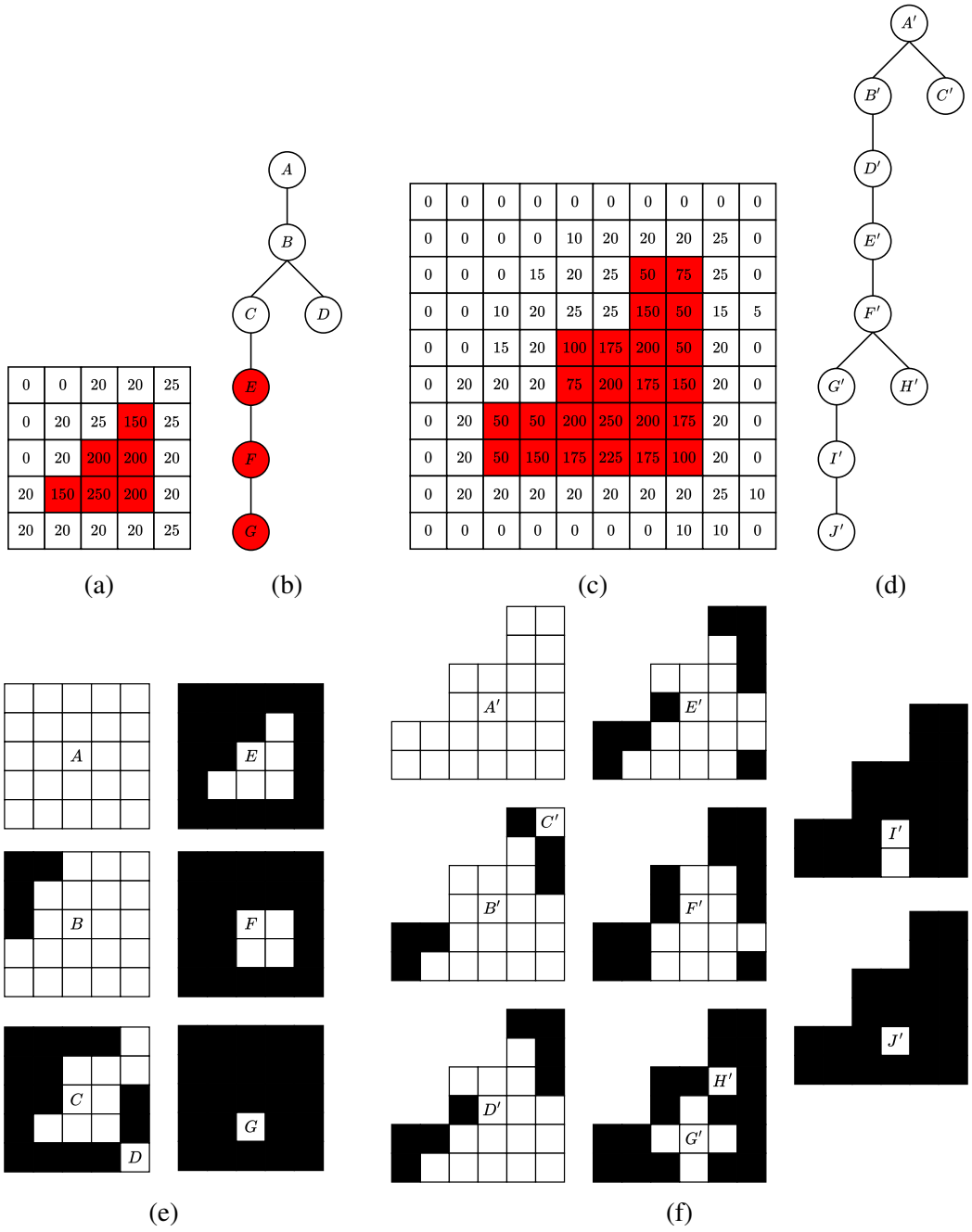


FIGURE 3.6 – Illustration du calcul d'un *max-tree* partiel. (a) Image en niveaux de gris f_i. (b) MSCT G_i de f_i. (c) Image sur-échantillonnée f_{i-1}. (d) *Max-tree* $G_i(E)$ construit sur la région rouge E projetée sur l'image $f_{i-1} \cap E_{f_{i-1}}$. (e) Zones plates de f_i formant les nœuds du MSCT G_i. (f) Zones plates de la région rouge formant les nœuds du *max-tree* $G_i(E)$.

Algorithme 3 : FusionHierarchies

Données : G MSCT à l'échelle i, $G_i^{n_1}$ ensemble d'arbres des coupes partiels issus du nœud n_1, n_1 nœud racine du sous-arbre servant de support au calcul de $G_i^{n_1}$, n_2 nœud parent de n_1 dans G.

début
  $P \leftarrow \emptyset$
  $SupprimerSousArbre(G, n_2)$
  pour $G_i(n_1) = (V_i(n_1), E_i(n_1)) \in G_i^{n_1}$ **faire**
    $R \leftarrow RechercherRacines(G_i(n_1), \lambda(n))$
    pour $n_r \in R$ **faire**
      $G'_i(n_1) = (V'_i(n_1), E'_i(n_1)) \leftarrow CopierArbre(G_i(n_1))$
      $P \leftarrow P \cup V_i(n_1)$
      $InsererSousArbre(G, n_1, G_i(n_1))$
    fin
    pour $n_r \in R$ **faire**
      $V'_i(n_1) \leftarrow ExtraireBrancheAscendante(G_i(n_1), Parent(n_r))$
      $n \leftarrow n_1$
      tant que $|V'_i(n_1)| > 0$ **faire**
        $n' \leftarrow Pop(V'_i(n_1))$
        tant que $n' \in P \wedge |V'_i(n_1)| > 0$ **faire**
          $n' \leftarrow Pop(V'_i(n_1))$
        fin
        $traitement \leftarrow Vrai$
        tant que *traitement* **faire**
          si $\lambda(n') = \lambda(n)$ **alors**
            $FusionA()$
          fin
          sinon si $\lambda(n') > \lambda(n)$ **alors**
            $FusionB()$
          fin
          sinon
            $FusionC()$
          fin
        fin
      fin
    fin
  fin
fin

Algorithme 4 : FusionA

Données : Toutes les variables sont partagées avec l'algorithme 3.

début
  $Pixels(n) \leftarrow FusionnerPixels(n, n')$
  $P \leftarrow P \cup \{n'\}$
  pour $n_c \in n'.enfants$ **faire**
    si $n_c \notin P \wedge DeciderInsertion(P, n_c)$ **alors**
      $G'_i(n_1) = (V'_i(n_1), E'_i(n_1)) \leftarrow CopierSousArbre(G_i(n_1), n_c)$
      $P \leftarrow P \cup V'_i(n)$
      $InsererSousArbre(G, n, G'_i(n_1))$
    fin
  fin
  $traitement \leftarrow Faux$
fin

Algorithme 5 : FusionB

Données : Toutes les variables sont partagées avec l'algorithme 3.

début
  $n'' \leftarrow CopierNoeud(n')$
  $C \leftarrow \emptyset$
  pour $n_c \in Enfants(n)$ **faire**
    si $\lambda(n_c) > \lambda(n)$ **alors**
      $C \leftarrow C \cup \{n_c\}$
      $CreerLiaison(n'', n_c)$
    fin
  fin
  pour $n_c \in C$ **faire**
    $SupprimerEnfant(n, n_c)$
  fin
  $CreerLiaison(n, n'')$
  $P \leftarrow P \cup \{n''\}$ **pour** $n'_c \in n'$ **faire**
    si $n'_c \notin P \wedge DeciderInsertion(P, n'_c)$ **alors**
      $G'_i(n_1) = (V'_i(n_1), E'_i(n_1)) \leftarrow CopierSousArbre(G_i(n), n'_c)$
      $P \leftarrow P \cup V'_i(n_1)$
      $InsererSousArbre(G, n'', G'_i(n))$
    fin
  fin
fin

Algorithme 6 : FusionC

Données : Toutes les variables sont partagées avec l'algorithme 3.

début
  tant que $\lambda(n) > \lambda(n') \wedge n \neq Racine(G)$ **faire**
    $n \leftarrow Parent(n)$
  fin
  si $n = Racine(G) \wedge \lambda(n) > \lambda(n')$ **alors**
    $n'' \leftarrow CopierNoeud(n')$
    $CreerLiaison(n'', Racine(G))$
    $Racine(G) \leftarrow n''$
    $P \leftarrow P \cup \{n''\}$
    $n \leftarrow n''$
    pour $n'_c \in Enfants(n')$ **faire**
      si $n'_c \notin P \wedge DeciderInsertion(P, n'_c)$ **alors**
        $G'_i(n_1) = (V'_i(n_1), E'_i(n_1)) \leftarrow CopierSousArbre(G_i(n_1), n'_c)$
        $P \leftarrow P \cup V'_i(n_1)$
        $InsererSousArbre(G, n'_c, G'_i(n_1))$
      fin
    fin
    $traitement \leftarrow Faux$
  fin
  sinon
    $traitement \leftarrow Vrai$
  fin
fin

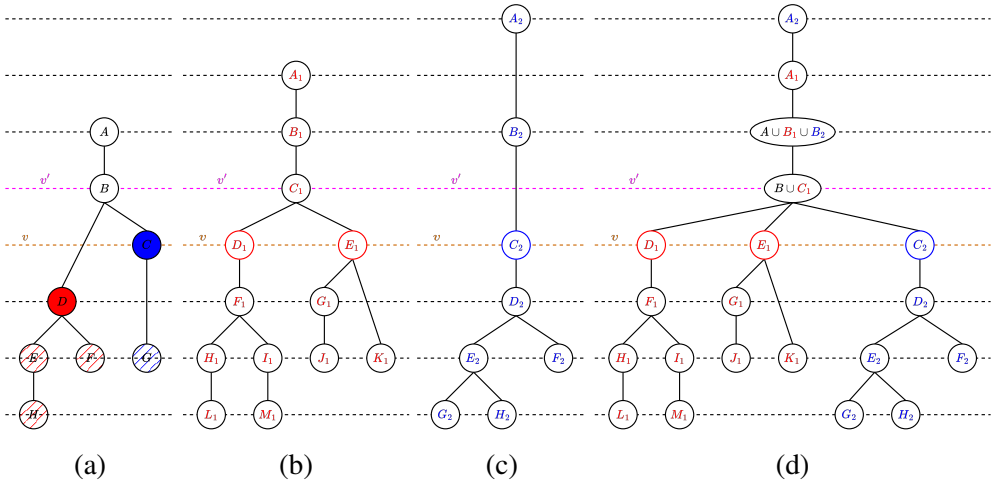


FIGURE 3.7 – Illustration du principe de fusion de deux *max-trees* partiels avec le MSCT. (a) MSCT $G = (V, E)$. (b) *Max-tree* partiel $G_i(D)$ issu du nœud D. Les racines d'insertion sont les nœuds $N_u \in V_i(D)$ tels que leur parent est $N_{v'}$ c'est-à-dire les nœuds D_1 et E_1. (c) *Max-tree* partiel $G_i(C)$ issu du nœud C. Les racines d'insertion sont les nœuds $N_u \in V_i(C)$ tels que leur parent est $N_{v'}$ c'est-à-dire le nœud C_2. (d) MSCT avec les deux fusions effectuées. Les sous-arbres enracinés en D_1, E_1 et C_2 remplacent les sous-arbres de G enracinés en D et en C ($FusionA$ et $FusionB$, algorithmes 4 et 5) tandis que les nœuds $N_u \in V_i(D) \cup V_i(C)$ sont fusionnés ou insérés dans la branche allant de $N_{v'}$ à la racine de G ($FusionC$, algorithme 6). Après la première fusion, le MSCT a une nouvelle racine A_1 et après la seconde fusion, il a désormais A_2 comme nouvelle racine.

3.3.7 Le MSCT totalement enrichi

Comme expliqué dans la section 3.3.3, le processus d'enrichissement consistant à choisir les nœuds représentant les régions les plus importantes, calculer des *max-trees* locaux et fusionner les hiérarchies au sein du MSCT est répété $k-1$ fois, de l'image la plus sous-résolue f_{k-1} à l'image originale $f_0 = f$. Le MSCT enrichi $k-1$ fois $G = G_0$ et est défini comme étant le **MSCT** de f.

Intuitivement, plus une région est jugée importante au sens des stabilités MSER, plus celle-ci est promue vers une échelle élevée. Ce processus induit une décomposition des zones plates de l'image par **proximité avec les maxima locaux**. Le paramètre le plus important pour la construction du MSCT est le **nombre d'échelles** considérées k. En effet, ce paramètre est fortement lié au ratio entre la taille des objets d'intérêt et la taille de

l'image. Un nombre d'échelles trop grand produirait un sous-échantillonnage pour lequel les objets d'intérêt seraient réduits à un unique pixel et limiterait la capacité du processus de choix des nœuds à promouvoir ces objets.

3.4 Complexité algorithminque

3.4.1 Complexité temporelle

Concernant le coût de construction d'un MSCT, plusieurs facteurs influencent positivement ou négativement le temps de calcul. Certains facteurs sont des **paramètres du processus de construction** tels que k le nombre d'échelles considérées, et donc le nombre d'étapes de sous-échantillonnage et d'enrichissement, la taille de l'image f c'est-à-dire la taille de son support $\mathbb{S}_n$ ou encore le paramètre Δ impliqué dans le calcul des attributs de stabilité MSER. En revanche, d'autres **facteurs non contrôlables** tels que le nombre de composantes connexes de l'image, le nombre d'objets d'intéret, la quantité de bruit ont également un impact substantiel sur les performances de calcul du MSCT.

Les sous-échantillonnages Concernant la première étape, à savoir l'application de $k-1$ étapes de sous-échantillonnage (voir la section 3.3.1), il s'agit d'une **opération linéaire** en fonction de la taille de l'image sur laquelle elle est appliquée. La complexité temporelle de $MaxPool(f_0)$ contenant N pixels est de $O(N)$. Pour chaque image sous-résolue $f_i, i > 0$ contenant $\frac{1}{4^i}N$ pixels, la complexité temporelle de $MaxPool(f_i)$ est de $O(\frac{1}{4^i}N)$. Ainsi la complexité de l'étape de sous-échantillonnage (algorithme 1, ligne 2) est de $\sum_{i=1}^{k-1} \frac{1}{4^i}N$. Dans le meilleur cas, où un seul sous-échantillonnage est appliqué ($k = 2$), la complexité de cette étape est alors de $O(\frac{1}{4}N)$. Dans le pire cas, lorsque k tends vers $+\infty$, on a $\lim_{k\to+\infty} \sum_{i=1}^{k-1} \frac{1}{4^i}N = \frac{1}{3}N$. Ainsi, on peut encadrer la complexité temporelle de l'étape de sous-échantillonnage par $\frac{1}{4}N \leqslant O([MaxPool(f_i)]_{i=1}^{k-1}) \leqslant \frac{1}{3}N$.

L'arbre des coupes de base Concernant le calcul de l'arbre des coupes de base (section 3.3.2), il s'agit tout simplement de calculer un *max-tree* sur l'image la plus sous-résolue f_{k-1}. Cette image contient $\frac{1}{4^{k-1}}N$ pixels et sachant que les algorithmes efficaces de calcul de *max-tree* ont une complexité de $O(n\log(n))$, la complexité de cette opération (algorithme 1, ligne 3) est de $O(\frac{1}{4^{k-1}}N\log(\frac{1}{4^{k-1}}N))$. Son coût est **très négligeable** par rapport à celui du calcul d'un *max-tree* sur l'image originale $f = f_0$.

Les enrichissements du MSCT Concernant le processus d'enrichissement du MSCT, le coût dépend fortement des **caractéristiques intrinsèques** de l'image (nombre d'objets, de composantes connexes). Le processus de sélection des nœuds (voir la section 3.3.4) est linéaire en fonction du nombre de nœuds du MSCT. Le nombre de nœuds du MSCT est du même ordre que pour un *max-tree* soit $O(k|V_i|), k \ll N$ pour un MSCT $G_i = (V_i, E_i)$ à l'itération i. Le nombre de *max-trees* partiels est dépendant de la structure de l'arbre et des valeurs MSER. La nature hiérarchique du MSCT fait que les nœuds sélectionnés induisent des régions (zones plates) non superposées qui représentent collectivement un nombre de pixels inférieur à la totalité de l'image f_i contenant $\frac{1}{4^i}N$ pixels. Le processus de fusion équivaut à un parcours d'un sous-arbre de G_i et est donc linéaire en fonction du nombre de nœuds de G_i. Ainsi, on peut borner le coût de calcul d'une étape d'enrichissement par $O(k|V_i| + \sum_{j=1}^{l} \frac{1}{4^i}N \log(\frac{1}{4^i}N)) + \sum_{j=1}^{l} m|V_i|$ où $O(k|V_i|), k \ll \frac{1}{4^i}N$ est le coût de sélection des nœuds, $O(\sum_{j=1}^{l} \frac{1}{4^i}N \log(\frac{1}{4^i}N)), l \ll \frac{1}{4^i}N$ est le coût de calcul de tous les *max-trees* partiels et $O(\sum_{j=1}^{l} m|V_i|), l \ll \frac{1}{4^i}N$ est le coût de fusion de tous les *max-trees* partiels avec le MSCT. Le coût total de cette opération devrait être borné par le coût de calcul d'un *max-tree* sur f_i, soit inférieur ou égal à $O(\frac{1}{4^i}N \log(\frac{1}{4^i}N))$. Le coût de toutes les $k-1$ étapes d'enrichissement devrait donc être borné par $O(\sum_{i=1}^{k-1} \frac{1}{4^i}N \log(\frac{1}{4^i}N))$.

3.4.2 Complexité spatiale

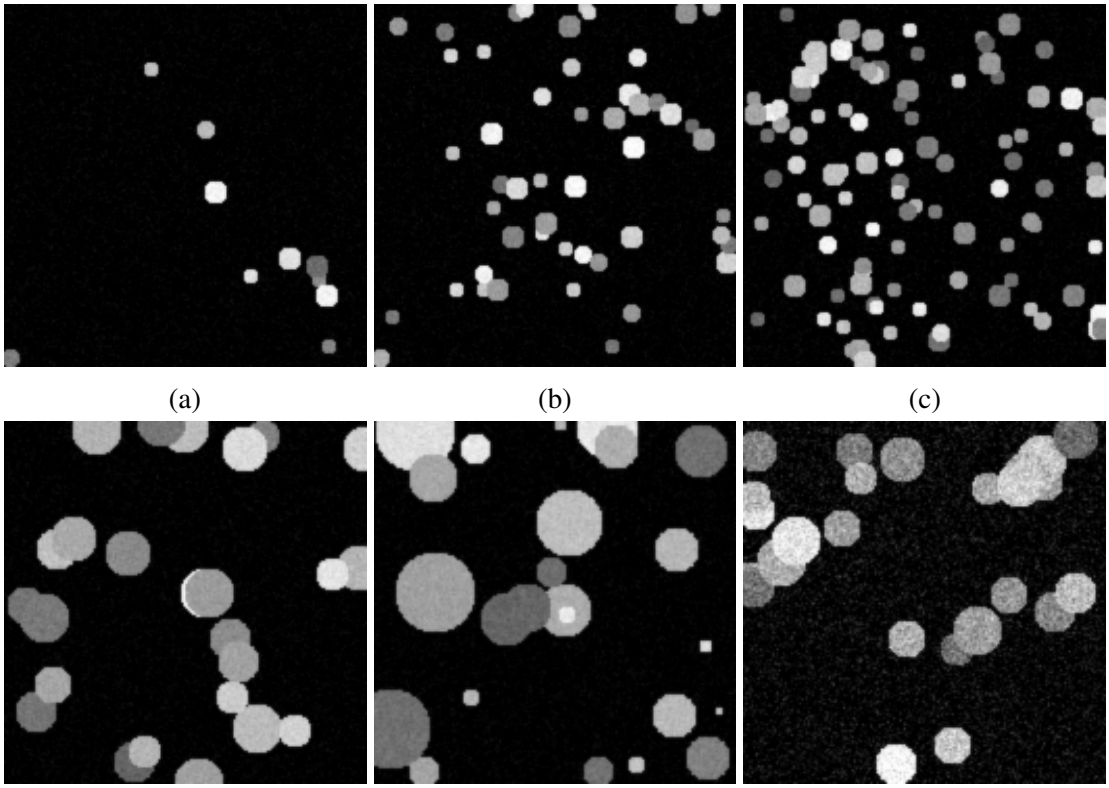
Concernant le coût spatial de la construction du MSCT, il est nécessaire de **stocker temporairement** les k images utilisées ce qui induit un coût équivalent à $O(\sum_{i=0}^{k-1} \frac{1}{4^i}N)$. Dans le cas où une seule échelle est considérée ($k = 1$), seule l'image originale est utilisée ce qui se traduit par un coût spatial minimum de $\frac{n}{4^0} = n$. Dans le cas où au moins deux échelles sont considérées ($k > 1$), le coût spatial maximal est donné par $\lim_{k\to\infty} \sum_{i=0}^{k-1} \frac{1}{4^i}N = \frac{4}{3}N$. Le stockage du MSCT est quant à lui **analogue à un *max-tree***.

3.4.3 Les mesures avec des images synthétiques

Afin de mesurer les coûts spatiaux et temporels associés au calcul du MSCT, des **images synthétiques** ont été générées. Elles permettent de contrôler certains paramètres, notamment le nombre d'objets, la taille des objets et le niveau de bruit de l'image. La figure 3.8 donne des exemples de telles images. Des mesures temporelles ont été réalisées. Elles consistent à générer des images en faisant **varier le nombre d'objets** sur l'image et donc le ratio entre la surface des objets et la surface du fond.

Les mesures temporelles À titre de comparaison, un *max-tree* est calculé sur l'image f_0 tandis qu'un MSCT est calculé sur l'image f_0 avec $k = 2$, $k = 3$ et $k = 4$ échelles. La figure 3.9 illustre les mesures temporelles. On peut y observer que l'utilisation d'une seule image sous-résolue ($k = 2$) n'est **pas efficace** du point de vue temporel car les opérations additionnelles (calcul des stabilités MSCT, sélection de nœuds, calculs de *max-trees* partiel, fusions de hiérarchies) surpassent le coût de calcul sur l'image originale. Ainsi la courbe bleue est strictement au-dessus de la courbe rouge (figure 3.9a). En revanche, à partir de **deux échelles additionnelles** ($k \geqslant 2$), il existe un point d'inflexion en dessous duquel le MSCT est **plus efficace** que le calcul d'un *max-tree* sur f_0. On peut remarquer que plus on utilise d'échelles, plus ce point se déplace vers la droite ce qui signifie que plus on utilise d'échelles, plus le MSCT est à même de traiter efficacement des images contenant une **plus grande quantité d'objets** (figures 3.9b et 3.9c).

Les mesures spatiales Concernant les mesures spatiales, le nombre de nœuds et le nombre de pixels stockés ont été analysés. La figure 3.10 illustre les résultats de ces mesures. On peut notamment constater que le MSCT produit significativement moins de nœuds que le *max-tree* (figure 3.10a). Cela vient confirmer que la procédure de sélection des nœuds (voir la section 3.3.4) et que la nature multi-échelles des zones plates du MSCT permet de modéliser certaines régions avec plus de détails (hautes échelles et plus de nœuds) tout en maintenant les autres à plus faibles échelles. Une tendance similaire peut être observée lorsque l'on considère le nombre de pixels stockés (figure 3.10b). La mesure est effectuée en considérant les pixels originaux de f_0. Il est donc logique que le MSCT stocke **significativement moins de pixels originaux** car les nœuds non enrichis contiennent des super-pixels représentant plusieurs pixels originaux. Ces travaux sur la définition du MSCT ont fait l'objet d'une publication à la conférence **DGMM 2024** [183].



(a) (b) (c)

(d) (e) (f)

FIGURE 3.8 – Illustration d'images synthétiques utilisées pour évaluer les performances du MSCT. (a-c) Variation du nombre d'objets (10-100). (d,e) Variation de la taille des objets (rayons de 8-12 pixels et de 5-20 pixels). (f) Variation du niveau de bruit de l'image.

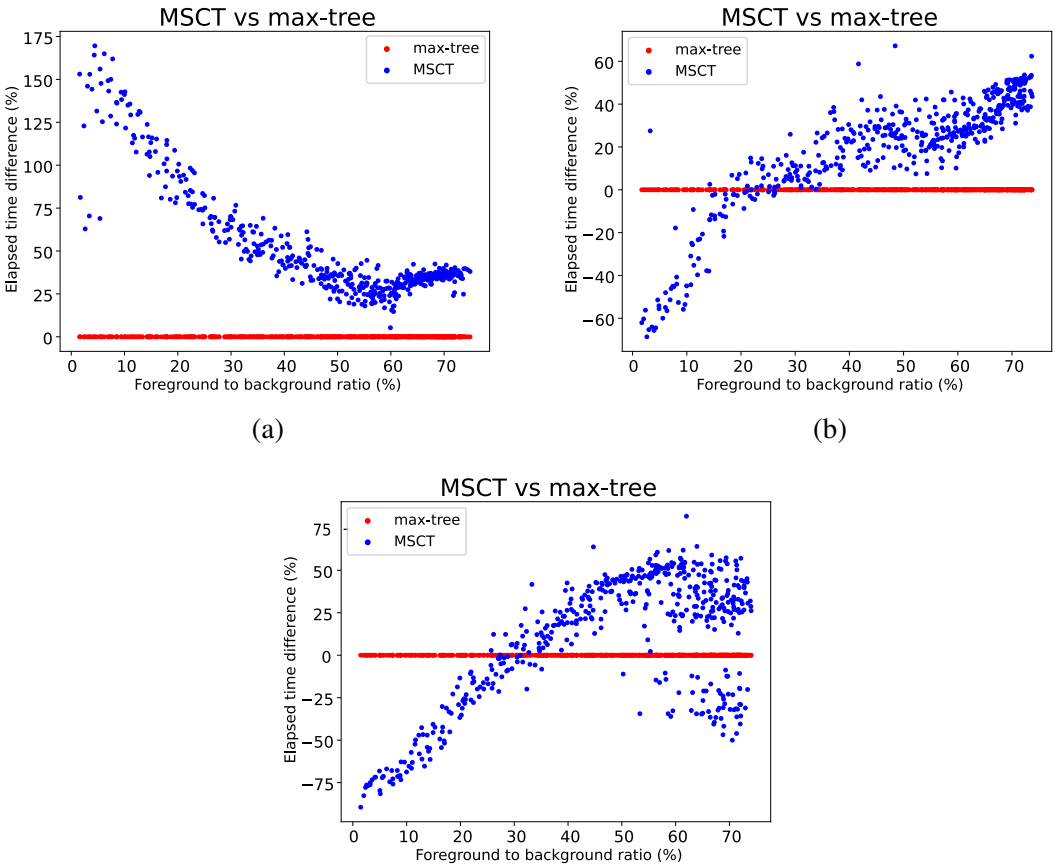
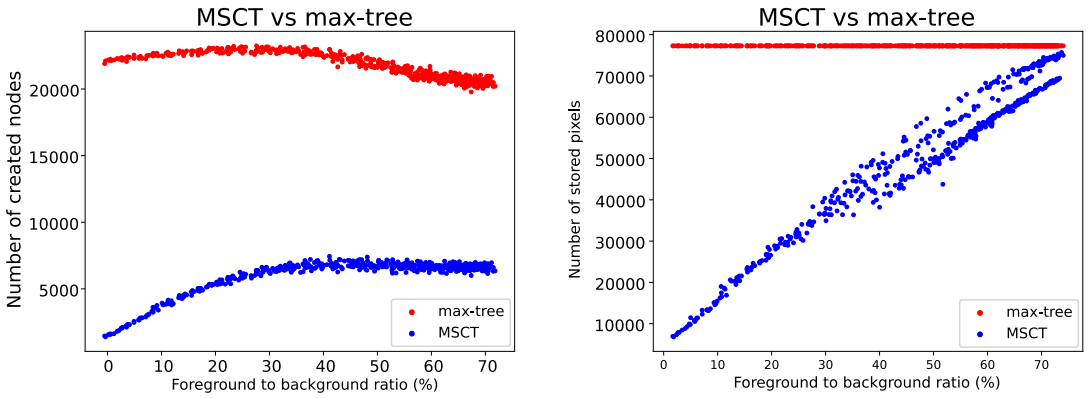


FIGURE 3.9 – Illustration des différences temporelles du MSCT (en bleu) et du *max-tree* (en rouge). L'axe des abscisses est le ratio entre la surface de l'image occupée par les objets et le fond, l'axe des ordonnées est la différence relative de temps de calcul par rapport au *max-tree*. (a) MSCT avec $k = 2$. (b) MSCT avec $k = 3$. (c) MSCT avec $k = 4$.



(a) (b)

FIGURE 3.10 – Illustration des différences spatiales entre le MSCT (en bleu) et le *max-tree* (en rouge) avec $k = 3$. L'axe des abscisses est le ratio entre la surface de l'image occupée par les objets et le fond, l'axe des ordonnées (a) le nombre de nœuds créés et (b) le nombre de pixels originaux (pixels de f_0) stockés.

3.5 Conclusion

Nous avons proposé une **nouvelle structure hiérarchique** modélisant la nature multi-échelles de l'image (échelle des objets) sur le modèle de l'arbre des coupes. La caractéristique principale de cette structure d'arbre des coupes multi-échelles (MSCT) est de proposer une **modélisation multi-échelles** de l'image sur le plan **spatial** en permettant aux nœuds de l'arbre de contenir des pixels à différentes échelles/résolutions. La structure de MSCT offre un stockage efficace de cette représentation riche de l'image. L'algorithme de construction proposé (algorithme 1) permet de construire efficacement le MSCT d'une image en niveaux de gris.

En termes d'applications, on peut envisager un usage analogue à l'arbre des coupes avec notamment la mise en place de méthodes de **segmentation**. Le MSCT est cependant limité aux images en niveaux de gris. Il souffre de la même limitation que le *max-tree*, c'est-à-dire qu'il n'est capable de modéliser que des images dont les objets d'intérêt sont des **maxima locaux** de l'image. Il est relativement simple de modifier le MSCT pour le calquer sur le *min-tree*. Pour ce faire, il suffit de remplacer la fonction $MaxPool$ par la fonction $MinPool$ et les fonctions de calcul de *max-tree* par celles de calcul du *min-tree*. L'utilisation de l'arbre des formes serait également une possibilité afin de traiter les images ayant des objets d'intéret qui sont des extrema locaux de l'image.

Le cas des images multivaluées est plus complexe. Si l'on continue de se calquer sur l'arbre des coupes, son extension naturelle aux ensembles partiellement ordonnés est le graphe des coupes (voir la section 2.8.1) ou l'arbre des coupes multivalué (voir la section 2.8.2) pour les ordres hiérarchiques mais de telles extensions nécessitent de plus amples réflexions. Dans la suite, nous allons montrer un exemple d'utilisation du MSCT pour effectuer une tâche de **segmentation** (voir le chapitre 7) et une tâche de **classification** (voir le chapitre 8) sur des **images histologiques**.

Deuxième partie

Traitement d'images histologiques

Chapitre 4

Cancer, histologie et imagerie

4.1 Introduction

En France, les cancers représentent la première cause de décès chez l'homme, et la deuxième chez la femme [115]. Si l'incidence est en hausse, la mortalité est en baisse grâce à l'amélioration des traitements mais aussi des diagnostics précoces. Le diagnostic s'appuie notamment sur l'**histologie** et, de nos jours, le matériel de base du pathologiste est autant la lame histologique que sa version numérisée : l'**image histologique**. Ce chapitre vise à présenter les images histologiques en partant d'une présentation générale des cancers et un focus spécifique sur le cancer du pancréas (lié à notre collaboration avec le Cancéropôle-Est [1] et le département de pathologie des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg [2]), une description de l'histologie et de ses colorations chimiques pour aboutir à leurs numérisations et traitements par l'informatique.

Le reste du chapitre est organisé ainsi. La section 4.2 présente des généralités autour des cancers. La section 4.3 contextualise le cancer dans le cadre de l'analyse du pancréas. La section 4.4 présente le contexte particulier de l'histologie pour effectuer des diagnostics autour du cancer. La section 4.5 introduit le concept de micro-environnement tumoral. La section 4.6 présente un état de l'art des méthodes de segmentation cellulaire et la section 4.7 un état de l'art des représentations du micro-environnement tumoral sous forme de graphe. Enfin, la section 4.8 présente les quatre jeux de données qui seront utilisés dans les applications décrites dans les chapitres 5 à 8.

1. https://www.canceropole-est.org/
2. https://www.chru-strasbourg.fr/

4.2 Les cancers en France métropolitaine

Entre 1990 et 2023, le nombre de nouveaux cas de cancers en France a **doublé**, avec une augmentation de 98% des cancers chez l'homme et de 104% chez la femme, toutes localisations confondues [115]. En 2023, 433 136 nouveaux cas de cancers ont été recensés dont 245 610 chez l'homme, portant le taux d'incidence à 354.9/100 000 habitants et 187 526 chez la femme, portant le taux d'incidence à 247/100 000 habitants [115]. L'évolution annuelle se situe à +0.3% chez l'homme et +0.9% chez la femme [115]. Le nombre de décès s'est porté à 157 400 en 2018, dernière actualisation avant le changement de méthode de codage d'enregistrement des cas, dont 89 600 chez l'homme, portant le taux de mortalité à 123.8/100 000 habitants et 67 800 chez la femme, portant le taux de mortalité à 72.2/100 000 habitants [115].

Chez l'homme, le nombre de cas incidents de cancers est passé de 124 290 cas en 1990 à 245 610 cas en 2023 [115]. Cette augmentation de 98% du nombre de cas est liée essentiellement à l'augmentation (30%) et au vieillissement (48%) de la population entre 1990 et 2023, tandis que la part attribuable au risque de cancer est de 20% sur la même période [115]. Chez la femme, le nombre de cas incidents de cancers est passé de 91 840 cas en 1990 à 187 526 cas en 2023 [115]. Cette augmentation de 104% du nombre de cas se décompose en 30% et 27% respectivement pour l'augmentation et le vieillissement de la population, et 47% lié au risque de cancer [115].

Les cancers les plus fréquents chez l'homme sont le cancer de la prostate (24%), le cancer du poumon (14%) et le cancer colorectal (11%) tandis que chez la femme, le cancer du sein est de loin le plus fréquent (33%) devant le cancer colorectal (11%) et le cancer du poumon (10%) [115]. On estime la prévalence nationale des cancers à environ 3.8 millions de personnes en 2017, un chiffre en hausse qui est lié à l'augmentation du nombre de nouveaux cas mais aussi à l'amélioration de la survie [115].

Ces dernières années, les **progrès de la recherche** ont permis d'améliorer la **survie** des personnes atteintes de nombreux cancers et particulièrement de ceux ayant un bon taux de survie. Par exemple, le taux de survie nette standardisée à 5 ans entre 2010 et 2015 était de 93% pour le cancer de la prostate (+21%), de 93% pour le mélanome cutané (+11%), de 88% pour le cancer du sein (+9%), de 63% pour le cancer colorectal (+12%) et de 63% pour le cancer du col de l'utérus (−3%) [115]. Certains cancers sont dits « **de mauvais pronostic** » : poumon, pancréas, œsophage, foie, système nerveux central, leucémies aiguës myéloïdes, ovaire, estomac... Pour ceux-ci, malgré les progrès de la recherche, le taux de survie à 5 ans reste plus **faible**. Par exemple, le taux de survie nette standardisée à 5

ans entre 2010 et 2015 était de 26% pour le cancer du système nerveux central (+4%), de 20% pour le cancer du poumon (+10%), de 18% pour le cancer du foie (+12%), de 17% pour le cancer de l'œsophage (+10%) et de 11% pour le cancer du pancréas (+7%) [115]. La section 4.3 détaille le cas du pancréas.

4.3 Un cas d'étude : le pancréas

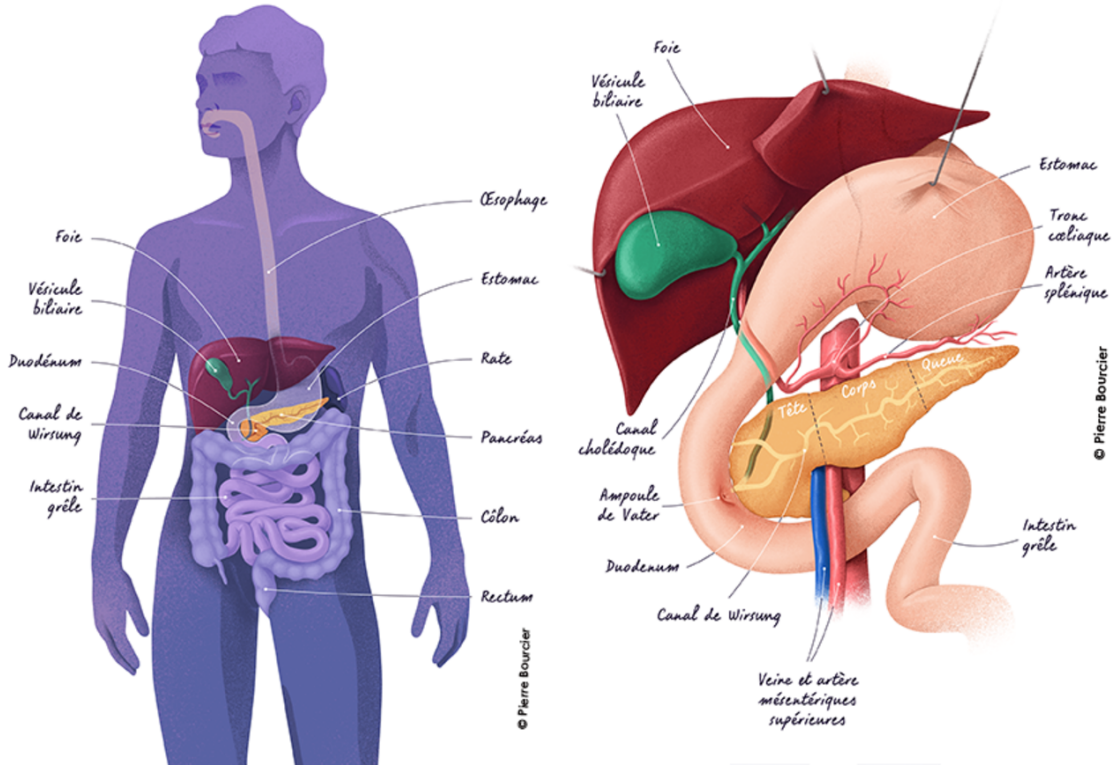
4.3.1 Le pancréas

Le pancréas est l'un des **organes vitaux** du corps humain. Il se situe dans la région rétropéritoine (à l'arrière de l'abdomen) de la cavité adbominale supérieure [98]. Il mesure entre 15 et 20 cm de long et pèse environ 100 g. Il est composé d'une **tête**, d'un **corps** et d'une **queue**. La tête est connectée à la région duodénale de l'intestin (le canal principal ou canal de Wirsung étant connecté au duodenum) et la queue est accolée à la rate. La figure 4.1 illustre la position du pancréas dans le corps humain ainsi que ses principales caractéristiques anatomiques.

Le pancréas possède deux parties différentes à la fois sur le plan anatomique et sur le plan physiologique : le pancréas **exocrine** et le pancréas **endocrine**. Le pancréas exocrine a un rôle prépondéral dans le système digestif et est composé des cellules produisant les **enzymes digestives**, parmi lesquelles on trouve les acini (ou cellules acineuses) et les structures canalaires permettant la circulation des enzymes digestives vers les intestins [18]. Le pancréas endocrine est composé de nombreux îlots (dits îlots de Langerhans) secrétant des **hormones** dans le sang et régulant notamment l'absorption de glucose. Il y a cinq types de cellules dans ces îlots produisants les hormones de glocagon, d'insuline, de somatostatine, de ghréline et de polypeptide pancréatique [18].

L'organe tire son nom du Grec *πάγκεας* composé de *πάν* (*pan*) signifiant **tout** et *χρέας* (*kréas*) signifiant **chair** et peut donc se traduire par **tout en chair** [3]. Il fut décrit pour la première fois par Hérophile de Chalcédoine ($III^e - II^e$ siècles av J.C.) et nommé par Ruphus d'Éphèse (II^e siècle). Sa fonction reste néanmoins inconnue jusqu'au travaux de Johann Georg Wirsung, qui découvrit le canal éponyme et son role au sein du système digestif. Ce n'est qu'au XIX^e siècle que sa fonction purement digestive est remise en cause notamment par Rudolph Virchow et Paul Langerhans et avec l'avènement de l'**immunopathologie** que sa fonction endocrine est découverte [209].

3. https://www.littre.org/definition/pancr%C3%A9as
4. https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-pancreas/Le-pancreas



(a) (b)

FIGURE 4.1 – Illustrations de l'anatomie du pancréas. (a) Le pancréas dans la zone duodénale du corps humain. (b) Principales composantes du pancréas. Illustrations de Pierre BOURCIER pour l'Institut National du Cancer [4].

4.3.2 Les cancers du pancréas

Le cancer est un terme regroupant un ensemble de maladies ayant des caractéristiques communes. Le cancer altère le **cycle de vie** des cellules en empêchant leur **apoptose**, c'est-à-dire leur mort programmée. Les cellules touchées entrent dans un **cycle de croissance anormale** et prolifères de manière excessive. Ce faisant, elles créent une masse que l'on appelle une **tumeur maligne** par opposition aux tumeurs bénignes qui ne prolifèrent pas. Les cellules cancéreuses peuvent migrer vers d'autres organes à travers les vaissaux sangins et/ou lymphatiques pour former d'autres tumeurs que l'on appelle une **métastase**.

La prévalence des cancers varie fortement au sein des populations [97]. Le cancer est une maladie multifactorielle résultant de l'interaction entre les **facteurs génétiques** propres à l'individu et trois catégories d'agents environnementaux [5] : les **carcinogènes physiques** tels que les ultraviolets ou les radiations ionisantes, les **carcinogènes chimiques** tels que l'amiante, l'alcool, le tabac, les aflatoxines ou encore l'arsenic et les **carcinogènes biologiques** tels que les infections virales, bactériologiques et/ou parasitaires.

Il y a différents types de cancers qui peuvent se produire dans le pancréas [211].

- L'**adénocarcinome canalaire du pancréas** (*pancreatic ductal adenocarcinoma* ou PDAC en anglais) est le cancer du pancréas le plus répandu (plus de 90% des cas) et le plus mortel. Il débute au sein des cellules tapissant les canaux du pancréas (d'où son nom) avant d'envahir les vaisseaux sanguins, les nerfs et les autres organes.
- Le **cysadénome du pancréas** (*mucinous cystadenocarcinoma* en anglais) est une forme rare de cancer du pancréas. Elle est moins invasive que le PDAC et peut être retirée par chirurgie mais n'est pas pour autant bénigne.
- Les **tumeurs des cellules des îlots de Langerhans** (*pancreatic islet cell tumors* en anglais) est le cas le plus fréquent de cancers endocriniens qui débute au sein des clusters de cellules appelés îlots de Langerhans. Ces cellules étant responsables de la sécrétion de différentes hormones (dont l'insuline et le glocagon), ce type de cancer cause généralement des troubles physiologiques sévères comme l'hypoglycémie. Ce type de cancer a généralement un bon pronostic par rapport aux autres cancers du pancréas.

4.3.3 Le diagnostic et les traitements

Le PDAC est un cancer peu fréquent mais relativement mortel. On estime que la survie moyenne à 5 ans est de moins de 10% [58, 261]. On distingue généralement quatre stades notés de I à IV.

- Stades I et II : Le cancer est limité au pancréas sans atteinte de ganglions lymphatiques ou avec une faible atteinte de ceux-ci et uniquement à proximité du pancréas.
- Stade III : Le cancer peut atteindre des vaisseaux sanguins importants proches du pancréas et/ou plusieurs ganglions lymphatiques.
- Stade IV : Le cancer présente des métastases à distance.

Le diagnostic s'appuie généralement sur la combinaison d'un examen physique, d'un scanner thoracoabdominopelvien, d'un bilan biologique et d'un biopsie. [6]

5. OMS : https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer
6. https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-pancreas/Le-diagnostic

Les traitements du cancer du pancréas sont dépendants du stade de la maladie [7]. Les traitements sont généralement composés de chirurgie, de chimiothérapie et de radiothérapie. Lorsque la tumeur est retirable en entier par chirurgie, on parle de **résécabilité de la tumeur**. La chirurgie n'est généralement possible qu'en cas de résécabilité et donc seulement lorsque la tumeur est retirable en entier.

- La tumeur est résécable : une **chirurgie** est pratiquée et suivie d'une **chimiothérapie** conventionnelle dite **adjuvante**.
- La tumeur présente une résécabilité limité (dite *borderline*) ou localement avancée (non résécable en l'état) : une **chimiothérapie** conventionnelle dite d'**induction** est pratiquée dans un premier temps afin de rendre possible la **chirurgie** dans un second temps.
- La tumeur est localement avancée (non résécable d'emblée) ou restant non résécable malgré le traitement d'induction : une **radiothérapie** est pratiquée en complément d'une chimiothérapie, on parle alors de **chimioradiothérapie**.
- La tumeur présente des formes métastasiques : une **chimiothérapie** est pratiquée afin de diminuer les symptomes. Dans de très rares cas, la **chirurgie** est possible.

4.4 L'histologie

L'histologie ou histopathologie est la discipline consistant à établir un diagnostic à partir de l'**étude microscopique des tissus organiques** par le sectionnement, la coloration et l'examen de ces sections au microscope. L'histologie permet la visualisation des **structures** des tissus et des **changements** subis par les ceux-ci [5, 127]. Les échantillons de tissu prélevés nécessitent plusieurs étapes (fixation, amincissement, incorporation, coloration) avant d'être interprétés par un pathologiste. Il existe plusieurs techniques de coloration des tissus dont notamment l'**immunohistochimie** (IHC) qui est devenue le traitement de routine standard pour la coloration des tissus grâce à sa grande pertinence clinique [167].

4.4.1 La préparation des lames histologiques

La fixation Les sections de tissu prélevées (par biopsie) ne sont pas colorées directement ; plusieurs étapes précèdent la coloration. Dans un premier temps, le tissu passe par un processus de **fixation** visant à préserver les structures du tissu dans leurs formes naturelles, et à le préserver des futures dégradations dues aux réticulations de protéines. C'est une étape vitale qui impacte directement la suite du processus. La fixation est généralement effectuée à l'aide de formaline (nom commercial du formaldéhyde).

7. https://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-pancreas/Les-traitements

La déshydratation Dans un second temps, le tissu subit un processus de **déshydratation**. L'objectif est de retirer l'eau et de faire durcir le tissu en vue de l'analyse microscopique. Une solution à l'éthanol est généralement utilisée.

L'incorporation Enfin, le tissu est **incorporé** dans de la cire de paraffine. Cette étape a pour objectif de permettre une meilleure extraction des structures cellulaires. Il s'agit également d'une étape importante car ce processus peut inhiber la pénétration des anticorps et ainsi créer de mauvais résultats.

Le sectionnement La dernière étape avant la coloration est le **sectionnement** du tissu afin de le monter sur une lame histologique. Le tissu est découpé aux dimensions souhaitées avec une épaisseur qui se situe généralement entre 4 et 7 μm.

4.4.2 Le principe de la coloration immunitaire

Le processus de coloration histologique (immunomarquage) est un terme générique regroupant plusieurs techniques utilisées pour **détecter des molécules** au moyen du principe de réaction entre un couple d'**anticorps** et d'**antigène**. Un couple d'anticorps-antigène va naturellement se lier chimiquement lorsque les anticorps et antigènes sont mis en présence l'un de l'autre. Les méthodes de coloration reposent sur le fait d'introduire des anticorps spécifiquements choisis pour leur réactivité avec le(s) antigène(s) ciblé(s), et de **mesurer le dépôt** de ces anticorps. Elles se composent de plusieurs étapes : la récupération d'antigène, l'ajout d'un anticorps primaire, l'éventuel ajout d'un anticorps secondaire et l'ajout d'un réactif de détection pour localiser le premier anticorps.

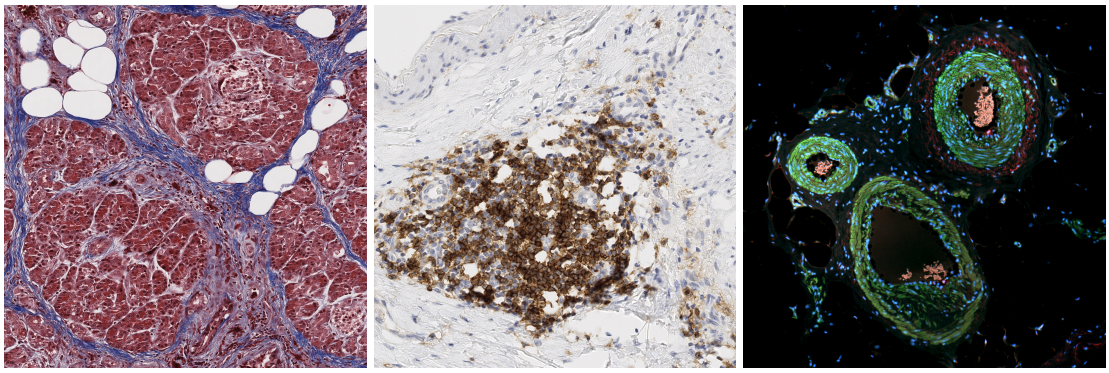
La récupération d'antigènes Cette étape vise à récupérer les antigènes qui pourraient avoir été couverts par les étapes de fixation et d'incorporation. Elle est généralement réalisée par la méthode HIAR (*heat-induced antigen retrieval*) consistant à chauffer le tissu aux micro-ondes, autocuisers, autoclaves ou bains-marie ou par la méthode PIER (*proteolytic-induced epitope retrieval*) impliquant un dégradation par des enzymes.

L'ajout de l'anticorps primaire L'anticorps primaire peut être monoclonal ou polyclonal. Il est titré afin d'optimiser le contraste entre le tissu positivement coloré et le fond coloré non spécifiquement. Les anticorps monoclonaux sont généralement meilleurs car ils ne se lient qu'à un seul épitope, à la différences des polyclonaux qui sont plus sensibles. Le premier anticorps peut être labelisé, auquel cas on parle de **marquage direct**.

L'ajout de l'anticorps secondaire Si le premier anticorps n'est pas labelisé, le second anticorps doît être labelisé, auquel cas on parle de **marquage indirect**. Différents labels peuvent être utilisés pour visualiser les anticorps labelisés. Par exemple, l'**immunofluorescence** utilise un substrat fluorescent visible au microscope à fluorescence tandis que l'**immunohistochimie** utilise des chromatophores visibles au microscope optique.

L'amplification du signal Des méthodes d'amplification du signal sont également utilisées afin d'**augmenter la sensibilité** de la détection. Les principales stratégies impliquent l'utilisation de la méthode des complexes avidine-biotine (*avidin-biotin complex* ou ABC en anglais), de la méthode streptavidine-biotine labélisée (*labeled streptavidin-biotin* ou LSAB en anglais) et de la méthode d'amplification du signal par tyramide (*tyramide signal amplification* ou TSA en anglais) [66].

Le contre-colorant Le tissu est généralement coloré par un colorant secondaire nucléique ou cytoplasmique qui a pour objectif de colorer toutes les cellules et d'**améliorer la visualisation** des cellules labelisées par le colorant primaire en augmentant le contraste entre les deux. Les contre-colorants les plus courants sont l'hématoxyline, le *nuclear fast red* et l'éosine dans le cadre de l'immunohistochimie et 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI), l'Hoechst33342 et l'iodure de propidium dans le cadre de l'immunofluorescence.

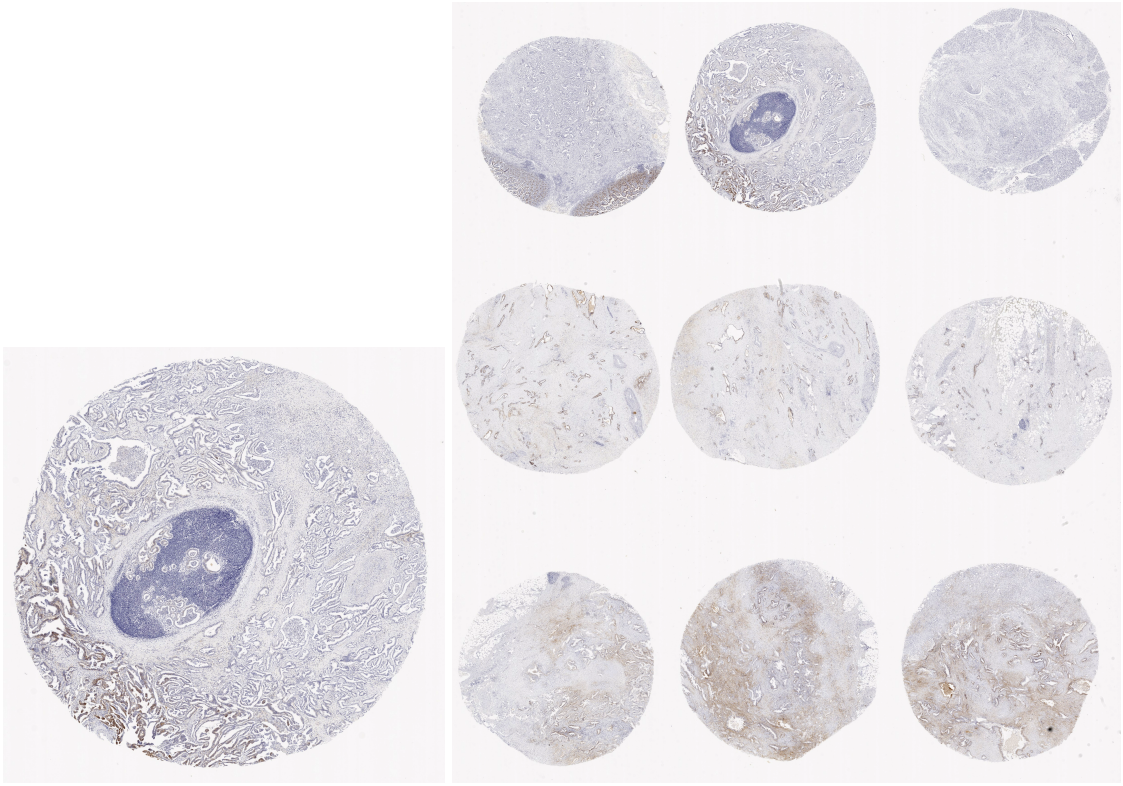


(a) (b) (c)

FIGURE 4.2 – Illustration d'images colorées par IHC et IF. (a) Coloration IHC par H&E. (b) Coloration IHC par H-DAB. (c) Coloration IF.

4.4.3 L'immunohistochimie (IHC)

L'immunohistochimie (IHC) [127, 167] permet la détection d'épitopes particuliers au sein des cellules en associant des **chromatophores** aux anticorps choisis. La figure 4.4 illustre les principales stratégies d'immunomarquage en immunohistochimie. La figure 4.2 donne des exemples d'images colorées par immunohistochimie (figures 4.2a et 4.2b). Plusieurs tissus (une coupe complète est appelée *punch*) peuvent être colorés sur une même lame histologique. Pour ce faire, on réalise un *tissue microarray* (TMA) en disponsant les tissus à l'aide d'une grille. La figure 4.3 donne un exemple de TMA.



(a) (b)

FIGURE 4.3 – Illustration d'un tissue microarray (TMA). (a) Punch coloré en IHC par H&E. (b) tissue microarray composé de 9 *punchs*.

Parmi les colorants populaires, on peut citer le cas du H&E. Comme son nom l'indique, la coloration par **hématoxyline et éosine** (H&E) implique la coloration séquentielle par deux colorants : l'**hématoxyline** et l'**éosine**. Le processus de coloration H&E produit quatre réactions en fonction du type d'objet organique rencontré :

— Certains objets sont dits **basophiles** et réagissent fortement avec l'hématoxyline. Les noyaux de cellules en font notamment partie et apparaissent dans des teintes allant du bleu au violet foncé [234, 118, 107]. Certaines protéines comme le kératohyaline ainsi que les matériaux calcifiés (forte teneur en calcium) réagissent également.

— Certain objets sont dits **acidophiles** et réagissent fortement avec l'éosine. C'est notamment le cas d'une grande partie du cytoplasme (rendu en rose [200]) ainsi que d'autres structures comme par exemple le collagène [42, 269, 107] pouvant produire jusqu'à cinq teintes de rose [245].

— Certains objets sont dits **chromophobes** et réagissent très peu avec l'hématoxyline et l'éosine et apparaissent très pâles.

— Certains objets sont dits **amphiboliques** et réagissent fortement avec l'hématoxyline et l'éosine.

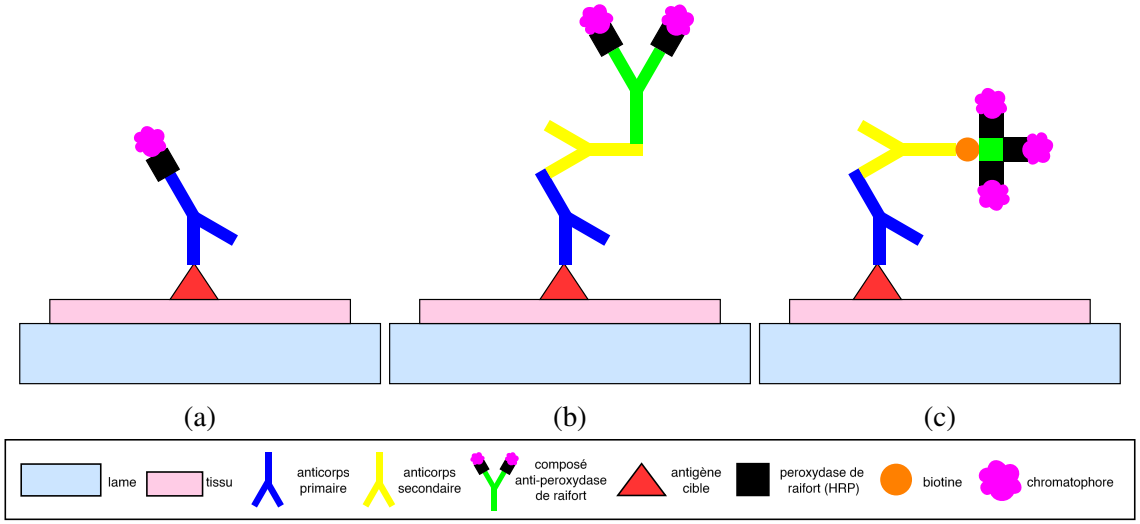


FIGURE 4.4 – Illustration des techniques d'IHC. (a) Marquage direct. (b) Marquage indirect (c) Amplification du signal.

4.4.4 L'immunofluorescence (IF)

L'immunofluorescence (IF) permet une excellente sensibilité et amplification du signal par rapport à l'immunohistochimie [100]. Le principe de l'IF est très proche de celui de l'IHC et historiquement, l'IHC a été développée à partir de l'IF. L'immunofluorescence permet la détection d'épitopes particuliers au sein des cellules en associant des **fluorophores** aux anticorps choisis. La figure 4.5 illustre les principales techniques d'immunomarquage en immunofluorescence. La figure 4.2 donne un exemple d'image colorée par immunofluorescence (figure 4.2c).

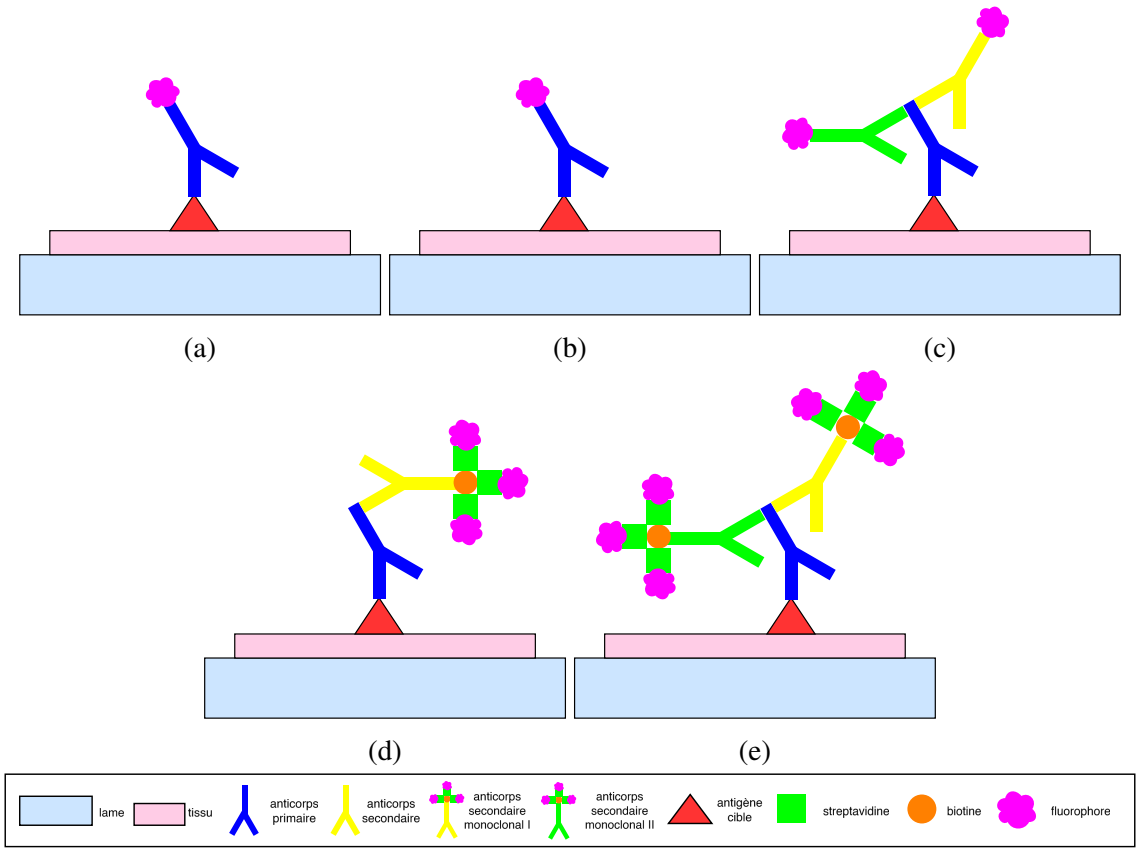
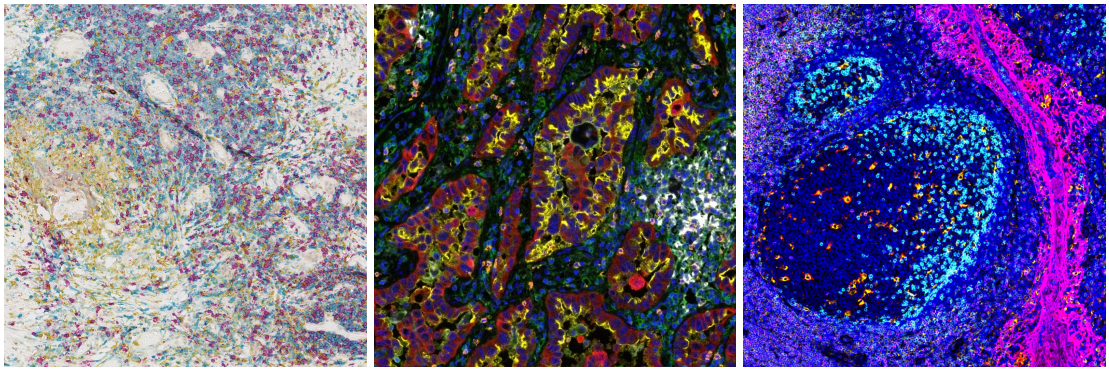


FIGURE 4.5 – Illustration des techniques d'IF. (a) Marquage direct. (b) Marquage indirect (c) Amplification du signal avec des anticorps polyclonaux secondaires labelisés avec des fluorophores. (d) Un anticorps secondaire conjugué avec plusieurs complexes protéiques-fluorophores. (e) Des anticorps polyclonaux secondaires conjugués avec de multiples complexes protéiques-fluorophores.

4.4.5 Le multiplexing

Si l'examen de sections de tissus colorés par hématoxyline et éosine (H&E) et complémentés par de l'immunohistochimie (IHC) est le **standard** dans les diagnostics de routine, il souffre néanmoins de quelques limitations. Si la technique est simple, elle est également consommatrice en termes de quantité de tissus nécessaire. Elle est également peu appropriée à l'analyse simultanée de plusieurs marqueurs et donc peu adaptée aux **analyses quantitatives et spatiales** [88]. L'un des eujeux majeurs de la pathologie est la compréhension du **micro-environnement tumoral** ou **MET** (voir la section 4.5) pour lequel les méthodes classiques ne sont pas assez puissantes.

Le **multiplexing** est défini comme étant la détection simultanée de deux marqueurs ou plus au sein de la même section de tissu. Plusieurs méthodes de multiplexing ont été developpées au cours des dernières années parmi lesquelles ont peut citer les méthodes d'amplification du signal (TSA) pour l'IHC et l'IF, les techniques de colorations cycliques pour l'IHC et les techniques plus complexes de multiplexing permettant la détection d'un grand nombre de marqueurs sur un même tissu [241, 88]. La figure 4.6 donne des exemples d'images *multiplex*.



(a) (b) (c)

FIGURE 4.6 – Illustration d'images *multiplex*. (a) Coloration mIHC par Discovery Ultra. (b) Coloration mIF par Vectra. (c) Coloration par InSituPlex.

Les technologies d'amplification du signal multiplex L'amplification multiplex du signal par la tyramide a été développée afin de permettre la détection de plusieurs antigènes. Parmi ces méthodes, on peut citer la méthode à base chromatophores **DISCOVERY ULTRA** [278, 126, 56], la méthode de fluorescence multiplex dite **MxIF** [76] ou encore la méthode **UltraPlex** [121].

Les technologies de suppression des colorants Le principe de base de ces techniques repose sur le fait de **nettoyer les tissus** en éliminant un label afin de pouvoir le colorer à nouveau avec un autre label. Ce processus est répété plusieurs fois afin de détecter plusieurs antigènes au sein du même tissu. Plusieurs techniques existent telles que **MICSSS** ou *multiplexed immunohistochemical consecutive staining on a single slide* [192], MELC [26], SIMPLE [78], IBEX [189]...

Les technologies d'inactivation des fluorophores Le principe de ces méthodes est similaire à la suppression des colorants mais repose sur une **inactivation chimique** des fluorophores. Parmi ces méthodes, on peut citer **MxIF** [76], la méthode d'immunofluorescence cyclique **CycIF** [123] ou encore **chipcytometry** [102].

Les technologies à base de code-barre ADN Ces technologies exploitent les **caractéristiques de l'ADN** pour étendre les capacités du multiplexing. Parmi ces techniques, on peut citer la méthode *DNA Exchange Imaging* dite **DEI** [106], la méthode *codetection by indexing* dite **CODEX** [79], la méthode *Digital Spatial Profiling* dite **DSP** [141] ou encore **InSituPlex** [131].

Les technologies de cytométrie de masse La cytométrie par flux (*flow cytometry* en anglais) est une technique utilisée pour explorer les **réseaux cellulaires** au niveau des cellules. Une nouvelle forme a été introduite pour réaliser du multiplexing avec la **cytométrie de masse** (*Imaging Mass Cytometry* ou IMC en anglais) et avec la **cytométrie par temps de vol** (*Cytometry by Time of Flight* ou CyTOF en anglais) [14]. Au lieu d'utiliser des fluorophores, ces méthodes labelisent les anticorps avec des isotopes métalliques qui sont ensuite détectés par un spectromètre de masse. La méthode dite *Multiplexed Ion Beam Imaging* (MIBI) est assez proche dans son fonctionnement.

Pour des états de l'art plus complets, voir Stack *et al.* [233], Tan *et al.* [241], Sheng *et al.* [217] et Harms *et al.* [88].

4.5 Le micro-environnement tumoral (MET)

Le micro-environnement tumoral abrégé MET (ou TME de l'anglais *tumor microenvironment*) est l'**environnement entourant les cellules** tumorales d'un tissu. Il s'agit d'un enrivonnement complexe qui n'est pas uniquement composé de cellules tumorales, mais d'un ensemble hétérogène de cellules hôtes résidentes et infiltrantes [7].

Ces cellules tumorales stimulent des changements moléculaires, cellulaires et physiques au sein des tissus hôtes et soutiennent la **croissance et la progression des tumeurs**. Un MET est une entité complexe et en constante évolution. Sa composition varie d'un type de tumeur à un autre, mais dans le cas général, il se compose de cellules immunitaires, de cellules stromatiques, de vaisseaux sanguins et de la matrice extra-cellulaire. La figure 4.7 donne la composition du MET dans le cas du pancréas et la figure 4.8 donne des exemples histologiques d'éléments constitutifs du MET.

Il est généralement admis que le MET est un promoteur actif de la progression du cancer notemment par la forte présence de **fibroblastes associés à la tumeur** (*cancer-associated fibroblasts* ou CAF en anglais) [248]. Au début du stade de croissance des tumeurs, une relation réciproque se développe entre les cellules cancéreuses et les composants du MET favorisant la survie des cellules cancéreuses, l'invasion locale et la dissémination métastatique. Pour éviter un microenvironnement hypoxique et acide, le MET coordonne un programme qui promeut l'angiogénèse (formation de nouveaux vaisseaux sanguins) afin de restaurer l'apport en oxygène et en nutriments et de supprimer les résidus métaboliques. Les tumeurs sont alors **infiltrées** par diverses cellules immunitaires (adaptatives et innées) qui peuvent avoir un effet à la fois pro- et anti-tumoral.

Au cours des dernières décennies, les traitements contre le cancer ont vécu une révolution. Traditionnellement, la **chimiothérapie** cible les tumeurs au sens large. Actuellement, de nouvelles stratégies thérapeutiques sont développées pour cibler des cellules spécifiques au sein du MET. Bien que ces stratégies soient attractives, les traitements actuels manquent d'efficacité. De nouvelles cibles thérapeutiques seront développées avec l'amélioration de la **compréhension des mécanismes complexes** du micro-environnement tumoral qui régissent la tumorigenèse (formation des tumeurs).

La compréhension du MET nécessite des **approches simplificatrices** [135]. La modélisation et la caractérisation du micro-environnement tumoral sont donc d'une importance capitale pour la compréhension de ses mécasnismes intrinsèques et pour une meilleure prise en charge des patients. De nombreuses études récentes mettent en lumière le **rôle prépondérant du MET** et soulignent la nécessité d'explorer la nature complexe de ses interactions au moyen de modélisations [128, 7, 136, 218, 135]. Il est ainsi nécessaire de disposer de méthodes de **segmentation cellulaire** robustes et efficaces (voir la section 4.6) et de mettre en place des **modélisations mathématiques** du MET (voir la section 4.7).

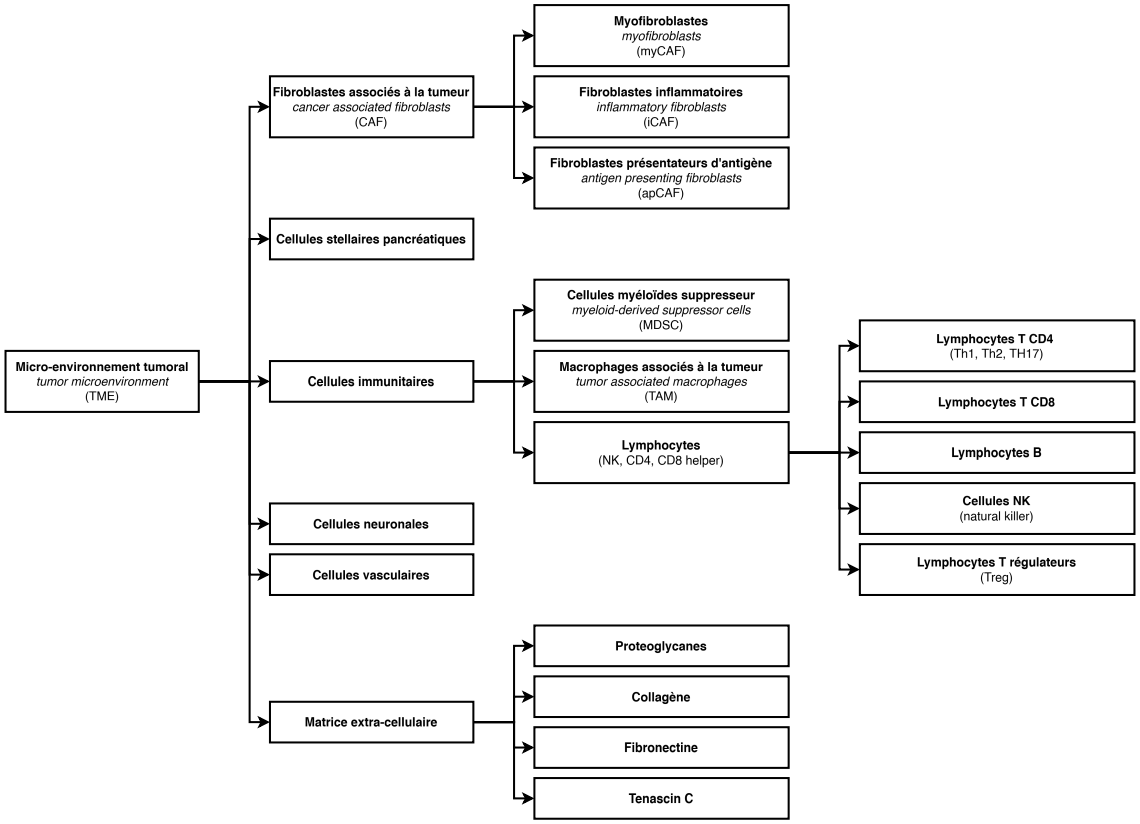


FIGURE 4.7 – Illustration de la composition du micro-environnement tumoral.

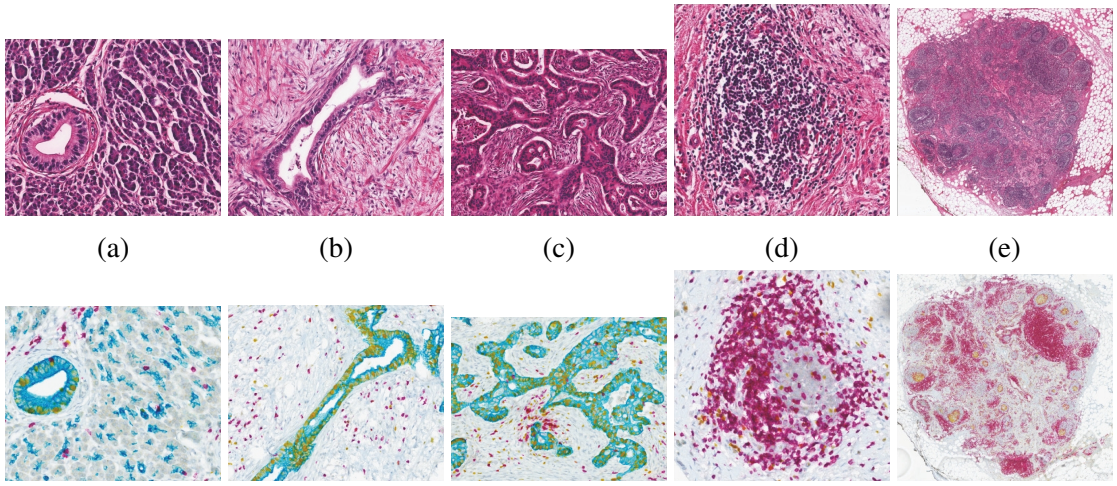


FIGURE 4.8 – Illustration des élements constitutifs du MET du pancréas. (a-e) Images H&E (hématoxyline et éosine). (f-j) Images mIHC (immunohistochimie multiplex) correspondantes présentant un marqueur CD3 en violet, un marqueur Ki67 en jaune, un marqueur CD19 en cyan et les noyaux en bleu clair. (a,e) Pancréas normal. (b,f) Dysplasie. (c,g) Tumeur. (d,h) Objet lymphoïde tertiaire ou structure lymphoïde tertiaire (TLO/TLS). Les images originales sont tirées de Sherman *et al.* [218].

4.6 État de l'art des méthodes de segmentation cellulaire en histologie

Le processus de segmentation des noyaux de cellules sur des images histopathologiques est une tâche vitale au sein des études qualitatives. La segmentation nucléique est une tâche importante pour effectuer des **diagnostics**, caractériser la stadification ou la gradation de cancers [17]. Cette tâche reste cependant complexe notamment car les environnements cellulaires sous-jacents sont complexes et contiennent des noyaux accolés ou superposés, des objets hétérogènes (forme, taille), une forte variabilité entre les différents organes, le dépôt des immunomarqueurs et les méthodes d'acquisition des images [1, 17].

4.6.1 L' imagerie histologique classique « uniplexing »

L'apprentissage profond (*deep learning* ou DL en anglais) fournit des méthodes populaires ces dernières années pour répondre aux défis de la segmentation cellulaire. Le modèle de réseau neuronal convolutif dit **U-Net** introduit par Ronneberger *et al.* [193], nommé en référence à ses deux chemins (chemin de contraction et chemin d'expansion) lui donnant la forme de la lettre *U*, a eu un fort impact sur les communautés de segmentation d'images. Il est aujourd'hui la base de beaucoup de méthodes de segmentation de part sa facilité de mise en place et la qualité des segmentations obtenues. Le modèle **RIC-U-net** (*residual-inception-channel attention-U-net*) introduit par Zeng *et al.* [277] s'inspire des blocs résiduels residual blocks, de la dimension multi-échelles des structures des mécanismes d'attention pour améliorer la segmentation. Le modèle **Sharp U-Net** introduit par Zunair *et al.* [283] tente de résoudre le problème des *skip connections* du modèle U-Net [193] qui ont tendance à associer des *features* issues des convolutions de bas et de haut niveaux, générant ainsi des cartes de *features* aberrantes. Les auteurs introduisent un nouveau bloc dit *sharp block* à la place des *skip connections*, précédé d'un filtre d'amélioration de netteté.

Chen et Chefd'hotel [44] ont utilisé un CNN pour produire une carte de probabilité des positions des cellules immunitaires sur des images en IHC après application de la méthode de déconvolution des couleurs [201]. Le modèle de réseau neuronal convolutif spatialement contraint (SC-CNN) introduit par Sirinukunwattana *et al.* [220] intègre le domaine topologique dans l'architecture du CNN. Le modèle dit **SCPP-Net** (*separable convolutional pyramid pooling network*) introduit par Chanchal *et al.* [43] est basé sur l'idée de miner de l'information à plus haut niveau en introduisant la notion de *taux de dilatation*. En maintenant fixe la taille de noyaux convolutifs, les matrices de *features* sont

capables de capturer l'information sur de plus larges zones et permettent de mieux séparer les noyaux superposés ou se chevauchant.

Conclusion De manière générale, la segmentation cellulaire sur des images histologiques de routine (*uniplex* avec un colorant et *dualplex* avec un contre-colorant supplémentaire) est réalisée dans la majorité des cas par l'application de **modèles convolutifs** sur des patches de l'image native. Dans certains cas, une approche par **déconvolution des couleurs** est également envisageable.

4.6.2 L'imagerie histologique multiple « multiplexing »

Le pipeline **CellPose** introduit par Stringer *et al.* [235] offre l'avantage d'une bonne capacité de généralisation sans nécessiter de paramètre manuel ni de ré-entraînement. Cependant, le pipeline éprouve des difficultés à segmenter de manière précise les cellules lorsque le ratio signal-bruit est faible ou en présence d'immunomarquages hétérogènes.

Le pipeline **Mesmer** introduit par Greenwald *et al.* [82] est basé sur le modèle U-Net [193] avec ajout de blocs résiduels. Il offre des avantages similaires à Mesmer, mais introduit CellPose3D, un module capable d'effectuer des segmentations 3D à partir du modèle 2D. Son principal inconvénient est la faible précision des segmentations obtenues pour les cellules faiblement convexes.

Le pipeline **CellSeg** introduit pas Lee *et al.* [116] est basé sur le concept de *mask R-CNN* (*mask region-convolutional neural network* en anglais). CellSeg apporte, en plus de la segmentation cellulaire, une quantification des pixels. CellSeg est également développé comme une bibliothèque, ce qui lui permet d'être facilement adapté et/ou étendu selon les besoins.

Le pipeline **DeepCell** introduit par Van Valen *et al.* [257] permet notamment la segmentation des noyaux et du cytoplasme. Cependant, il requiert un entraînement lorsqu'il est confronté à de nouveaux types de cellules, ce que les pipelines Mesmer, CellPose et CellSeg ne requièrent pas.

Le logiciel **Ilastik** introduit par Berg *et al.* [21] est un outil interactif permettant à l'utilisateur de cliquer sur des objets dont la classification n'est pas satisfaisante et d'introduire des annotations afin de corriger interactivement la segmentation proposée. Il s'agit donc

d'un modèle d'apprentissage par raffinement. Ilastik a également l'avantage d'avoir un plugin compatible avec Image-J [208].

La méthode **StarDist** introduite par Schmidt *et al.* [210] se base sur le réseau neuronal convolutif U-Net [193] pour prédire un polygone en forme d'étoile (d'où son nom) plutôt qu'une boîte englobante (*bounding box* en anglais) pour chaque pixel n'appartenant pas au fond. Cette approche permet à StarDist de mieux segmenter les objets de différentes formes ainsi que les clusters de noyaux. L'inconvénient majeur de cette méthode réside dans le fait que lors d'une mauvaise segmentation, certaines cellules ne sont pas segmentées.

Le pipeline **unMISCT** (*universal models for identifying cells and segmenting tissue*) introduit par Yapp *et al.* [275] fonctionne en manipulant les données en entrée plutôt que l'architecture du modèle lui-même. La méthode unMISCT contient une collection de modèles tous entraînés séparément dont U-Net, Mask R-CNN, ou encore *Pyramid Scene Parsing Network* (PSPNet). Le pipeline permet de segmenter précisément des images contenant des artéfacts mais souffre cependant d'une mauvaise capacité à différencier les formes et/ou textures subtiles des cellules.

Conclusion De manière générale, la segmentation cellulaire sur des images multiplex varie en fonction de la méthode de multiplexing et de la technologie d'acquisition des images. Des logiciels spécifiques, libres ou propriétaires, ont été developpés mais restent inégaux dans leur exhaustivité. Certains logiciels proposent un **pipeline complet** de l'acquisition de l'image à la segmentation/classification en cellules individuelles tandis que d'autres ne permettent qu'une **segmentation cellulaire** à partir de patches d'images déjà acquises avec certaines contraintes sur la nature de celles-ci. Pour des états de l'art plus approfondis sur ces logiciels et méthodes, voir Abdelsamea *et al.* [1], Zidane *et al.* [280] et Basu *et al.* [17].

4.7 État de l'art des représentations graphiques du micro-environnement tumoral

La compréhension du micro-environnement tumoral nécessite une modélisation efficace afin de pouvoir analyser les interactions complexes le régissant. À notre connaissance, toutes les méthodes proposées pour caractériser le MET consistent à construire un **graphe** formé de **nœuds** représentant les (noyaux de) cellules et d'**arêtes** modélisant leurs potentielles interactions. Les cellules sont segmentées et/ou classifiées à partir de méthodes de réseau neuronal convolutif (CNN) et les arêtes formées par des critères de distance, de k-voisinage, ou de triangulation de Delaunay [59]. L'analyse du graphe ainsi construit se fait généralement au moyen de réseau de neurones à base de graphe (GNN) ou réseau convolutionnel à base de graphe (GCN).

Anand *et al.* [6] ont introduit le concept d'**histographe** ou graphe histopathologique. Les auteurs se sont basés sur l'approche des pathologistes qui s'effectue à plusieurs échelles du tissu. Une première étape de détection des cellules est effectuée au moyen d'un réseau VGG-UNet formé d'un encodeur VGG19 pré-entraîné sur le jeu de données ImageNet [8] et d'un décodeur entraîné *ex nihilo*. Des *features* sont générées pour chaque détection dans une fenêtre de 71 par 71 pixels. Une seconde étape de contruction d'un graphe du tissu consiste alors à calculer un graphe en introduisant une distance maximale entre cellules. Ainsi, deux nœuds (cellules) sont connectés si et seulement si la distance euclidienne entre les deux points au centre de leur noyau respectif est inférieure ou égale à 100 pixels (critère empirique). Dans un troisième temps, un réseau convolutionnel à base de graphe (GCN), en particulier le *filtrage spatial robuste* [236], est entraîné pour deux tâches de classification : une classification binaire zone cancéreuse/zone non-cancéreuse et une classification binaire *in situ*/carcinome invasif correspondant aux quatre stades de gradation.

Ravindra *et al.* ont proposé un réseau d'attention à base de graphe (*graph attention network* ou GAT en anglais) afin de prédire l'état de la maladie pour des patients atteints de sclérose en plaques. Un graphe est construit à partir de données issues de séquençage ARN de type *single cell* (*single cell RNA-sequencing* ou scRNA-seq en anglais). Chaque cellule est traitée comme un nœud du graphe et les arêtes sont formées par k-voisinage dans la matrice réduite par ACP des *features* génétiques. Un GAT [260] est entraîné afin de prédire la nature des cellules.

8. https://www.image-net.org/

Sureka *et al.* [237] ont proposé un modèle de GCN à des fins de classification et de visualisation de slides H&E. Les noyaux sont détectés au moyen d'un réseau convolutionnel U-Net [193] et forment les nœuds du graphe. Les arêtes sont formées similairement à Anand *et al.* [6] avec une distance euclidienne de 100 pixels entre nœuds connectés. Le modèle proposé se décline en deux variantes qui adaptent le *filtrage spatial robuste* [236] en le combinant d'une part avec un mécanisme de convolution des arêtes et d'autre part avec un mécanisme d'attention. Les GCN offrent de bonnes performances de classification (gradation Gleason) et une meilleure visualisation des résultats pour plus d'interprétabilité du modèle.

Javed *et al.* [103] ont introduit un nouvel algorithme dénoté *Multiplex Cellular communities for Tissue Phenotyping* ou MCTP. La méthode comporte une étape de détection cellulaire puis de classification en utilisant le réseau convolutionnel contraint spatialement (*Spatially Constrained Convolutional Neural Network* ou SC-CNN en anglais) introduit par Sirinukunwattana *et al.* [220], une étape d'extraction de *features* cellulaires au moyen de filtres de Gabor, une étape de construction de graphes cellulaires (par patches) au moyen de transformées en distances euclidienne, une étape de calcul de *features* concernant les interaction cellulaires, une étape de construction d'un graphe multiplex et enfin une étape d'extraction de communautés (clusters) au moyen d'une méthode de factorisation de matrices non négatives.

Pati *et al.* [176] ont proposé HACT-net, une représentation hiérarchique et multi-échelles du tissu cellulaire sous forme de graphe. Deux graphes sont définis : un graphe du tissu et un graphe des cellules. Les cellules sont détectées au moyen d'un modèle HoVer-Net [81] pré-entraîné sur MoNuSeg [9] et des *features* morphologiques sont extraites au moyen d'un réseau ResNet [92] pré-entraîné sur ImageNet [10]. Le graphe des cellules est construit similairement à [237] par k-voisinage. Le graphe du tissu est obtenu par sur-segmentation SLIC [3] et clusterisation k-means. Un réseau ResNet [92] est employé afin d'extraire des *features*. Enfin, un graphe d'adjacence de régions [188] (*regions adjacency graphe* ou RAG en anglais) est formé entre superpixels du tissu. Le graphe final dit *graphe HACT* est la réunion des graphes de cellules et du tissu. Chaque zone du tissu (superpixel) est mise en relation avec le sous-graphe des cellules appartenant spatialement à l'espace du superpixel considéré. Le graphe ainsi formé est traité avec un GCN dit *HACT-net* à des fins de classification des zones du tissu.

9. https://monuseg.grand-challenge.org/
10. https://www.image-net.org/

Martin-Gonzalez *et al.* [133] ont introduit MULTIPLAI (MULTIplexed PathoLogy AI), un nouveau framework permettant l'analyse de données multiplex de type cytométrie de masse par imagerie (*imaging mass cytometry* ou IMC en anglais). À nouveau, le graphe est construit à partir des segmentations cellulaires et avec un critère de distance modélisant la possibilité d'interaction entre cellules (distance euclidienne inférieure à 40 μm) et analysé au moyen d'un GNN.

Nair *et al.* [157] ont proposé un modèle de réseau de neurones à base de graphe (*graph convolutional network* ou GCN en anglais) pour classifier la membrane basale à partir d'un modèle de gradation pour les lésions de la muqueuse buccale sur des patients après greffe de cellules souches post-hématopoïétiques sous la forme de maladie chronique du greffon contre l'hôte (*chronic graft-versus host disease* ou cGvHD en anglais). Un modèle EfficientNet [239] est utilisé pour classifier les cellules et un modèle EfficientDet [240] pour les détecter. Les arêtes du graphe sont formées par une triangulation de Delaunay [59]. Un modèle de GNN avec transmission de message robuste, GraphSage [87] est employé pour prédire les *features* histologiques du tissu.

Récemment, Vanea *et al.* [258] ont introduit HAPPY (*Histology Analysis Pipeline.PY*), un pipeline d'analyse complet incluant une détection des noyaux au moyen d'un modèle RetinaNet [124], une classification des noyaux au moyen d'un modèle ResNet [92] et une construction d'un graphe au moyen d'une combinaison entre k-voisinage, triangulation de Delaunay [59] et critère de distance euclidienne. Le graphe est ensuite analysé par un GCN dénoté ClusterGCN [45] pour effectuer des prédictions de classifications tissulaires.

Encore plus récemment, Vadori *et al.* [254] ont proposé un graphe similaire pour des images cérébrales. Les nœuds du graphe sont formés des noyaux de cellules segmentés au moyen d'un modèle spécifique au type d'image utilisé et basé sur le modèle U-Net [193]. Les arêtes sont formées par k-voisinage et le graphe résultant est traité au moyen d'un GCN.

Similairement, Elforaici *et al.* [67] ont appliqué une segmentation des noyaux à l'aide d'un réseau antagoniste génératif (*generative adversarial network* ou GAN en anglais) suivie d'une extraction de features en employant un *vision transformer* et la construction d'un graphe. Enfin, un GNN est utilisé pour effectuer un clustering des nœuds du graphe et la prédiction des TRG (*tumor response grade*) est obtenue en entraînant une machine à vecteurs de support (*support vector machine* ou SVM en anglais).

4.8 Les jeux de données utilisés

Cette section décrit quatre jeux de données qui sont utilisés dans les différentes applications proposées dans les chapitres ci-après (chapitres 5 à 9).

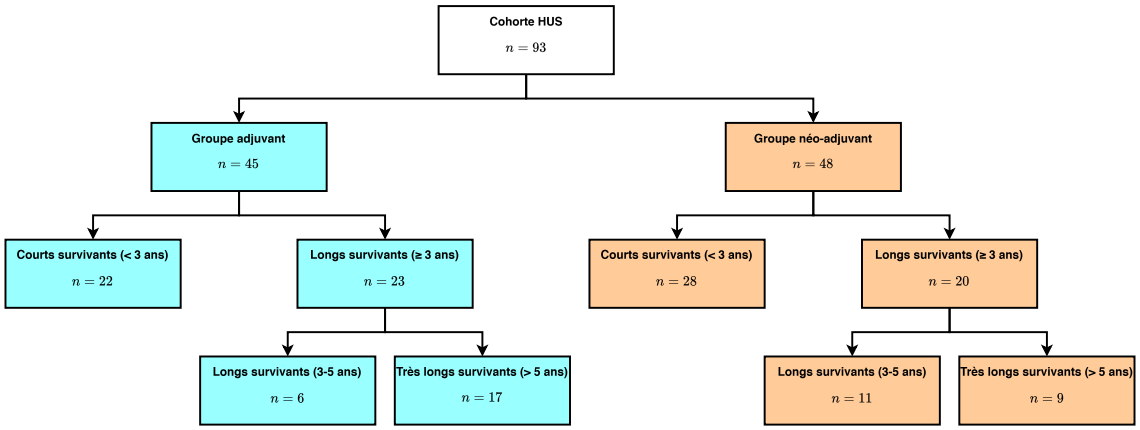
4.8.1 Le jeu de données HUS

Le jeu de données **HUS** est composé d'images histologiques du pancréas issues des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg. Ces images sont organisées sous la forme de *tissue microarray* (TMA) et enregistrées au format TIFF. Chaque patient est représenté par trois images de type *whole slide image* (ou WSI) présentant des punchs de 6 mm et marquées par immunohistochimie (IHC). Le jeu de données représentant la cohorte complète contient n = 93 patients au total, et est subdivisée en deux sous-jeux de données correspondant à deux sous-cohortes.

$\mathbf{HUS_{adj}}$ La première sous-cohorte est dite **groupe adjuvant** et est composée de n = 45 patients entre 43 et 86 ans opérés à Strasbourg entre 2001 et 2011. Ces patients ont réçu un traitement par chimiothérapie conventionnelle (adjuvante) Gemzar (Gencitabine). Ce sous-jeu de données est dénoté $\mathbf{HUS}_{\text{adj}}$ dans la suite.

$\mathbf{HUS_{nadj}}$ La seconde sous-cohorte est dite cohorte **groupe néo-adjuvant** et est composée de n = 45 patients entre 43 et 86 ans opérés à Strasbourg entre 2010 et 2018. Ces patients on reçu un traitement par chimiothérapie néo-adjuvante folfirinox, c'est-à-dire avant leur opération. Ce sous-jeu de données est dénoté $\mathbf{HUS}_{\text{nadj}}$ dans la suite.

Les deux sous-cohortes se décomposent en trois catégories chacune, correspondant respectivement aux groupes dits de **courts survivants** (moins de trois ans), **longs survivants** (entre trois ans inclus et cinq ans inclus) et **très longs survivants** (plus de cinq ans). La figure 4.9 et les tables 4.1 et 4.2 détaillent la composition de la cohorte.



(a)

FIGURE 4.9 – Composition de la cohorte des **HUS** et répartition des durées de survie entre les groupes $\mathbf{HUS_{adj}}$ et $\mathbf{HUS_{nadj}}$.

Patients	**Effectif (93)**	**Adjuvant (45)**	**Néo-adjuvant (48)**
Age médian	64.5	66	63
Sexe (H/F)	53/40	26/19	28/21
Survie			
Survie (< 3 ans)	50	21	28
Survie (3-5 ans)	17	6	11
Survie (> 5 ans)	26	17	9
CA 19.9 (kU/I) médiane	55.5	143.3	35.6

TABLE 4.1 – Caractéristiques cliniques de la cohorte HUS.

Patients	**Effectif (93)**	**Adjuvant (45)**	**Néo-adjuvant (48)**
Type de résection			
DPC/DPT	75	43	32
SPG	18	2	16
Résection veineuse	66	23	43
Résection artérielle	33	0	33
Résection R0	46	21	25
Résection R1	44	21	23
TNM (8^e édition, 2017)			
T1	1	0	1
T2	26	19	7
T3	45	25	20
T4	21	1	20
Nombre moyen de N+	3.2	3.6	2.8
Grade			
Bien différencié	23	12	11
Moyennement différencié	37	22	15
Peu différencié	17	10	7
Inconnu/non spécifié	16	1	15

TABLE 4.2 – Caractéristiques chirurgicales et anatomopathologiques de la cohorte HUS. La résection DPC est la résection dite duodéno-pancréatectomie céphalique (ablation de la partie droite ou tête du pancréas), la résection DPT est la résection dite duodéno-pancréatectomie totale et la résection SPG est la résection dite splénopancréatectomie gauche (résection du corps et de la queue du pancréas). Le TNM est le système de gradation tumeur-ganglion-métastase de l'*American Joint Commitee on Cancer* [46]

4.8.2 Le jeu de données ROCHE

Le jeu de données **ROCHE** est un petit jeu de données composé de n = 4 images de type WSI contenant des sections de tissus pancréatiques de 6 mm sous forme de FFPE (formalin-fixed paraffin-embedded). Les lames histologiques ont été marquées au moyen du kit *Discovery Ultra* développé par la société Roche [11] [61]. L'acquisition des images a été réalisée sur un scanner Ventana DP 200 à un grossissement de 20x pour une résolution de 0.465 µm par pixel. Les images ainsi acquises sont représentées par des couleurs Rouge-Vert-Bleu et sont enregistrées au format TIFF. Le processus d'immunomarquage ainsi que celui d'acquisition ont été réalisés par la société Roche.

L'immunomarquage a été décliné en trois protocoles différents. Dans la suite, ils sont dénotés par $\mathbf{P_1}$, $\mathbf{P_2}$ et $\mathbf{P_3}$ respectivement. Chacun de ces trois protocoles marque les noyaux de cellules de trois classes dénotées *jaune*, *cyan* et *violet* du fait des couleurs associées, les membranes des cellules cancéreuses au moyen d'un colorant de type DAB pour une classe dénotée *DAB* et enfin tous les noyaux sont marqués de manière générique en une classe dénotée *contre-marqueur*. La table 4.3 donne la composition de chaque marqueur pour chacun des trois protocoles et la figure 4.10 donne un exemple de patch par protocole (Figures 4.10a-4.10c).

Un nombre identique de patches ont été annotés pour chaque image et pour chaque protocole $\mathbf{P_1}$, $\mathbf{P_2}$ et $\mathbf{P_3}$. Les annotations consistent en un point unique par cellule (au centre du noyau) pour les classes *jaune*, *cyan*, *violet* et *contre-marqueur*. Dans le cas des membranes (classe *DAB*), plusieurs annotations ponctuelles tapissent la surface de la membrane. En effet une annotation unique ne suffirait pas à complètement qualifier de telles surfaces.

Trois sous-jeux de données sont créés à partir de ces trois protocoles et dénotés $\mathbf{ROCHE_1}$, $\mathbf{ROCHE_2}$ et $\mathbf{ROCHE_3}$ respectivement. Ils permettront d'évaluer trois stratégies d'entraînement qui sont illustrées dans la table 4.4.

- $\mathbf{ROCHE_1}$ représente la stratégie *classique* consistant à entraîner le modèle sur un échantillon d'images ayant exactement la même nature (et donc le même protocole) que les images sur lesquelles les tests seront effectués.
- $\mathbf{ROCHE_2}$ est une stratégie dite *enrichie* et consiste à entraîner le modèle sur une variété d'images plus riche que celles sur lesquelles les tests porteront. Autrement dit, l'entraînement a lieu sur un mélange d'images issues de plusieurs protocoles alors que les tests ne concernent qu'un seul des protocoles utilisés pour l'entraînement.

11. F. Hoffmann-La Roche

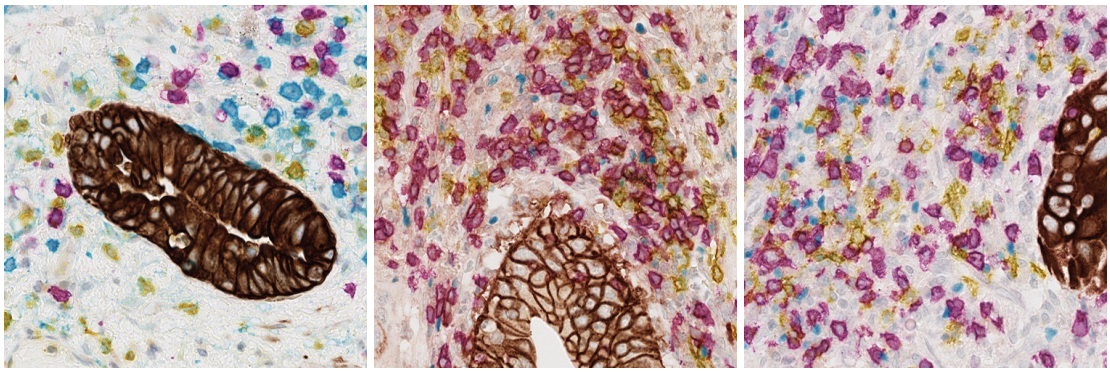
— **ROCHE$_3$** est une stratégie dite *de découverte* par opposition à la stratégie précédente. En effet, elle consiste à entraîner le modèle sur tous les protocoles à l'exception de celui utilisé sur les images qui serviront de test.

Colorant	$\mathbf{P_1}$	$\mathbf{P_2}$	$\mathbf{P_3}$
Jaune	CD68	CD20	CD20
Cyan	CD4	FoxP3	FoxP3
Violet	CD8	CD8	CD8
DAB	CK7	EpCAM	CK7
Contre-marqueur	Hématoxyline	Hématoxyline	Hématoxyline

TABLE 4.3 – Détails des marqueurs utilisés pour les trois protocoles $\mathbf{P_1}$, $\mathbf{P_2}$ et $\mathbf{P_3}$ utilisant le kit Discovery Ultra©.

Jeu de données	Entraînement et validation	Test
ROCHE$_1$	$\mathbf{P_1}$	$\mathbf{P_1}$
ROCHE$_2$	$\mathbf{P_1}$ + $\mathbf{P_2}$ + $\mathbf{P_3}$	$\mathbf{P_1}$
ROCHE$_3$	$\mathbf{P_1}$	$\mathbf{P_2}$ + $\mathbf{P_3}$

TABLE 4.4 – Détails des protocoles de marquage utilisés au sein des jeux de données **ROCHE$_1$**, **ROCHE$_2$** et **ROCHE$_3$**.



(a) (b) (c)

FIGURE 4.10 – Exemple d'images multiplex issues du jeu de données **ROCHE**. (a) Protocole $\mathbf{P_1}$. (b) Protocole $\mathbf{P_2}$. (c) Protocole $\mathbf{P_3}$.

4.8.3 Le jeu de données MI*EDGE

Le jeu de données **MI*EDGE** est composé d'images histologiques de glioblastomes (cancer cérébral) qui ont été marquées au moyen de la technique dite d'IMC (cytométrie de masse par imagerie de l'anglais *imaging mass cytometry*), une méthode se basant sur une ionisation préalable des tissus. Un signal est mesuré pour chaque ion au moyen d'un spectromètre de masse formant ainsi une image par marqueur et une image composite finale est formée par l'union de chaque image (canal) en assignant une couleur de référence au marqueur de chaque canal. L'acquisition a été effectuée avec un grossissement de 40x à une résolution de 0.250 µm par pixel.

Les images contenaient originellement neuf canaux mais seuls six canaux ont été étudiés. Ainsi, les trois canaux indésirables ont été supprimés et une nouvelle image composite à six canaux a été formée. La table 4.5 donne la composition des six canaux de l'image utilisée en entrée du modèle en omettant les trois canaux supprimés. De manière similaire au jeu de données **ROCHE**, les noyaux des cellules ont été annotés ponctuellement par un expert. Seule la stratégie *classique* est explorée ici.

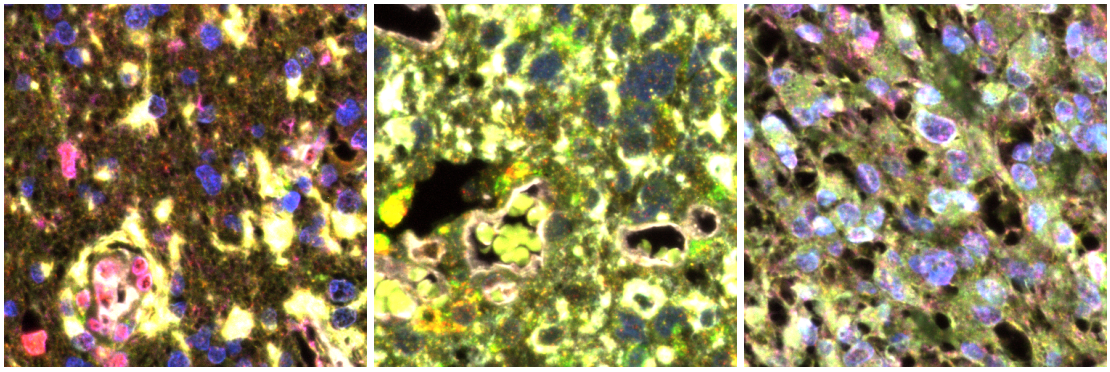
Colorant	**Marqueur**	**Colorant**	**Marqueur**
DAPI	DAPI	Opal 570	IDH1
Opal 480	GFAP	Opal 590	CD68
Opal 520	MS4A4A	Opal 650	ATRX

TABLE 4.5 – Détails des marqueurs utilisés dans le protocole d'immunofluorescence multiplex du jeu de données **MI*EDGE**.

4.8.4 Le jeu de données KAGGLE

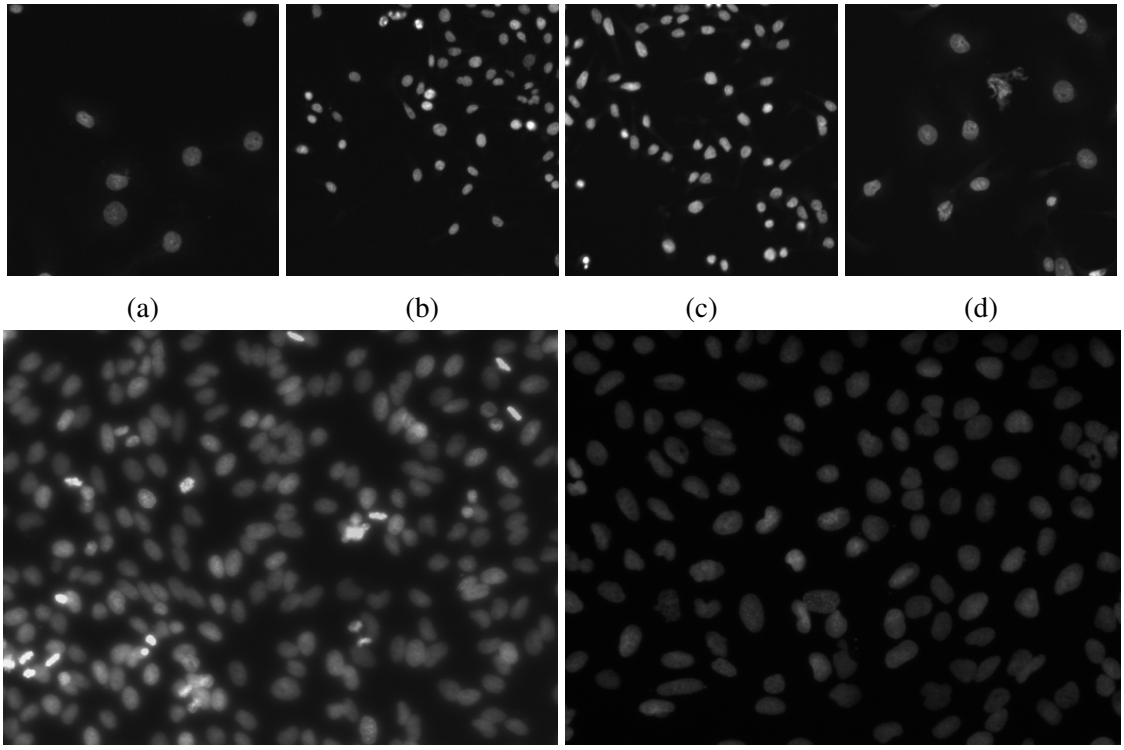
Le jeu de données **KAGGLE** est un sous-ensemble du jeu de données *2018 Data Science Bowl* [12]. Il s'agit d'un jeu de données contenant un grand nombre d'images histologiques acquises dans différentes conditions et avec différentes modalités (IHC et IF). La nature des objets cellulaires est diverse et les images contiennent différents types de cellules et ont été acquises à différents grossissements. Parmi toutes les images de ce jeu de données, seules les images en niveaux de gris et contenant des objets clairs sur fond foncé ont été conservées. Elles forment alors le jeu de données dénoté **KAGGLE**. La figure 4.12 donne des exemples d'images de ce jeu de données.

12. https://www.kaggle.com/c/data-science-bowl-2018



(a) (b) (c)

FIGURE 4.11 – Exemple d'images multiplex issues du jeu de données **MI*EDGE**.



(a) (b) (c) (d)

(e) (f)

FIGURE 4.12 – Exemple d'images issues du jeu de données **KAGGLE**.

Chapitre 5

La définition d'un immunoscore pour la caractérisation de l'infiltrat immunitaire dans le cancer du pancréas

5.1 La définition d'un imunoscore adapté au pancréas

Comme discuté dans la section 4.5, la caractérisation du micro-environnement tumoral doit permettre de mieux comprendre ses mécanismes. Cependant, la plupart des études se basent sur des données **semi-quantitatives**. En effet, les pathologistes réalisent des estimations de quantifications cellulaires à l'œil sur des lames histologiques. La quantification exhaustive n'est pas envisageable pour des raisons de temps, de quantité de travail et de volume de données. Cela induit une reproductibilité inter-observateur relativement faible. Afin de mieux qualifier ce MET, on propose de mettre en place une méthode automatique produisant un **(immuno)score** estimant la densité de cellules sur une lame histologique et permettant d'obtenir une métrique **quantitative** et non semi-quantitative.

5.1.1 Le principe général

Un **score immunitaire** ou **immunoscore** doit représenter par une valeur numérique une estimation de la quantification d'un marqueur spécifique au sein d'une lame histologique. En somme, il s'agit d'**estimer le nombre de noyaux** de cellules ayant positivement réagi au marqueur sur une lame ou une partie de celle-ci. Intuitivement, un score élevé traduit une forte concentration desdits noyaux et un score faible une faible concentration. Cet immunoscore pourra, dans un second temps, être utilisé afin de **classer les lames** et/ou patients de manière analogue au score de gradation des tumeurs.

5.1.2 L'algorithme de quantification nucléique

Afin d'automatiser la tâche de quantification cellulaire, nous proposons un algorithme de traitement utilisant une **déconvolution des couleurs**, un **filtrage morphologique** du signal et une **quantification surfacique** (algorithme 7). La ligne 3 correspond à l'extraction du signal nucléique positif et constitue la section 5.1.3. Les lignes 4 à 6 correspondent au traitement morphologique appliqué au signal nucléique positif et constituent la section 5.1.4. Les lignes 7 à 17 correspondent à l'estimation de quantification des noyaux positifs, pour chaque cluster (lignes 8 à 14) et pour l'image complète (ligne 15) et constituent la section 5.1.5.

Algorithme 7 : 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

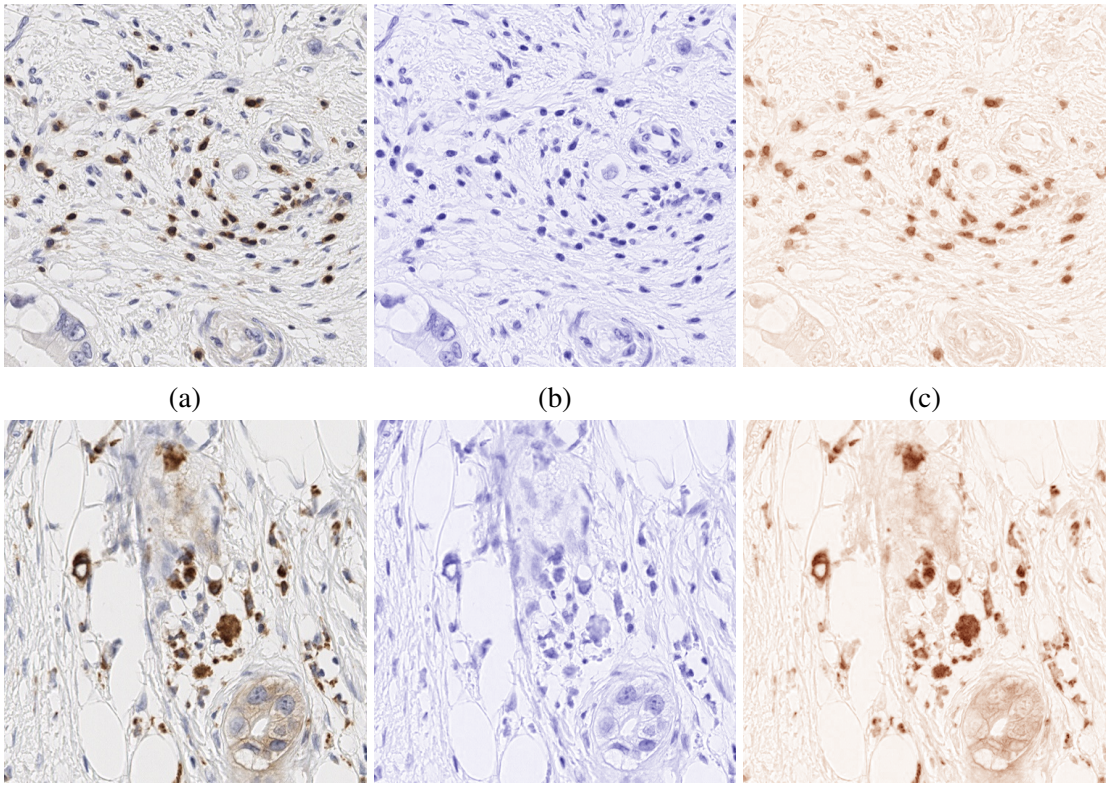
1 **début**
2 $\quad \mathcal{N}_I^{\sim} \leftarrow 0$
3 $\quad I_{\{\text{H,E,DAB}\}} \leftarrow CD_{\{\text{H,E,DAB}\}}(I)$
4 $\quad I \leftarrow I_{\{\text{H,E,DAB}\}}[2]$
5 $\quad I \leftarrow f_{\alpha}(I)$
6 $\quad I \leftarrow g_{\rho_1}(I)$
7 $\quad$ **pour tous** $c \in CC(I)$ **faire**
8 $\quad\quad$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

5.1.3 L'extraction du signal nucléique

Dans la suite, les images considérées sont des images histologiques de type **IHC** (immunohistochimie). Plus spéficiquement, ce sont des images **H-DAB** contenant deux colorants d'intérêt : le colorant **hématoxyline (H)** marquant tous les noyaux de cellules et le colorant **DAB** (3,3'-Diaminobenzidine Tetrahydrochloride) marquant les noyaux réagissant positivement au marqueur spécifique utilisé. Ces images utilisent une représentation des couleurs de type Rouge-Vert-Bleu ou **RVB** et sont stockées au format **TIFF** (Tagged Image File Format).

Les noyaux de cellules étant colorés dans des teintes bleues, on cherche premièrement à extraire le signal correspondant à la réaction avec le signal **DAB** du reste de l'image. Pour ce type d'image, la méthode standard est la méthode dite de **déconvolution des couleurs** (*colour deconvolution* en anglais et parfois aussi appelée *stain unmixing*) proposée par Ruifrok et Johnston [201] et étendue par Geijs *et al.* [74]. Cette méthode se base sur la loi de Beer-Lambert pour estimer l'absorbance de chaque colorant lorsque les valeurs RVB des marqueurs sont connues. Nous employons cette méthode sur nos images H&E, nous permettant d'obtenir des images de type **Hématoxyline-DAB** à partir des images Rouge-Vert-Bleu.

La méthode de Ruifrok et Johnston [201] est la fonction dénotée $CD_{\{H,E,DAB\}}(.)$ à la ligne 2 de l'algorithme 7. Tous les noyaux de cellules sont marqués par l'hématoxyline et donc présents dans le canal hématoxyline. Dans le canal DAB, seuls un sous-ensemble des noyaux de l'hématoxyline réagissent et sont marqués. Ce sont ces noyaux que l'on cherche à quantifier. Dans la suite du traitement, c'est le canal DAB qui est traité sous la forme d'une image en niveaux de gris aux valeurs flottantes. La figure 5.1 illustre la méthode de déconvolution des couleurs utilisée.



(a) (b) (c)

(d) (e) (f)

FIGURE 5.1 – Exemple de déconvolution des couleurs par la méthode de Ruifrok et Johnston [201]. (a,d) Images IHC au format RVB. (b-c,e-f) Images déconvoluées avec (b,e) le canal hématoxyline, (c,f) le canal DAB.

5.1.4 Le filtrage morphologique du signal

Le traitement du signal DAB consiste en deux étapes : une étape de **seuillage** et d'**extraction** des composantes connexes, puis une étape de **filtrage morphologique** afin de simplifier le signal et d'en éliminer les artéfacts. Le filtrage est défini par la fonction f_α présente à la ligne 5 de l'algorithme 7. La fonction f_α est définie par

$$\begin{aligned} f_\alpha &: V \to \{0,1\} \\ &\forall p \in I, \lambda(p) \mapsto \begin{cases} 1 & \text{si } \lambda(p) \geq \alpha \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \end{aligned} \tag{5.1}$$

Le fonction seuille l'image en éliminant les signaux inférieurs à une certaine valeur α fournie par l'utilisateur, puis binarise l'image seuillée en assignant la valeur 1 aux pixels non nuls.

La seconde étape du traitement consiste à **nettoyer le signal** précédemment seuillé. L'objectif est multiple ; on cherche à la fois à **éliminer les artéfacts** du signal, mais aussi à améliorer celui-ci en **fusionnant** des morceaux d'un même noyau ou en **séparant** de multiples noyaux touchants ou superposés. La fonction g_{ρ_1} à la ligne 6 de l'algorithme 7 est définie par

$$g_{\rho_1}(I) = \gamma_{E_{\rho_1}}(\varphi_{E_{\rho_1}}(I)) \tag{5.2}$$

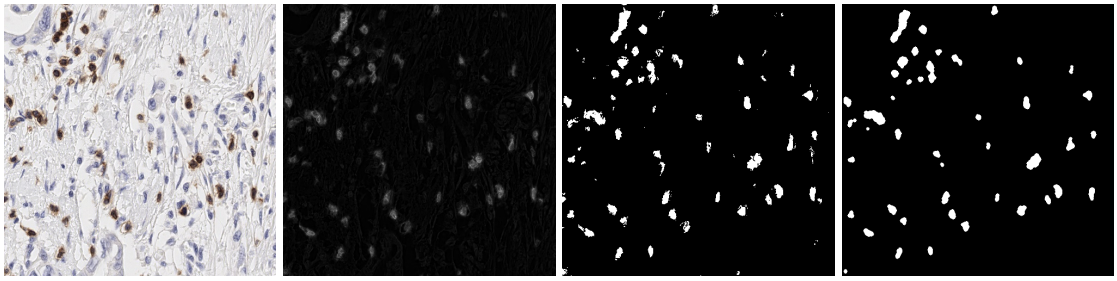
avec E_{ρ_1} l'élément structurant défini par

$$E_{\rho_1} = \{x \in X \mid d(x, O) \leq \rho_1\} \tag{5.3}$$

avec $d(.)$ la distance euclidienne et $O = (0,0)$ l'origine de l'élément structurant. Elle consiste à appliquer une **fermeture morphologique** servant à réunir les noyaux présents sous forme de morceaux disjoints, puis d'appliquer une **ouverture morphologique** visant à séparer les noyaux accolés ou superposés. Ces opérations éliminent également les objets inférieurs à la taille de l'élément structurant, permettant donc l'élimination de la plupart des artéfacts. La figure 5.2 donne un exemple de filtrage morphologique sur une image H&E.

5.1.5 La quantification nucléique

La quantification à proprement parler s'effectue au moyen de trois paramètres : ρ_2, $\mathcal{A}_{\min}$ et r. Le paramètre ρ_2 est le rayon moyen des noyaux que l'on cherche à quantifier. Il dépend donc de la nature du marqueur utilisé et du type d'objet cellulaire ciblé par celui-ci.

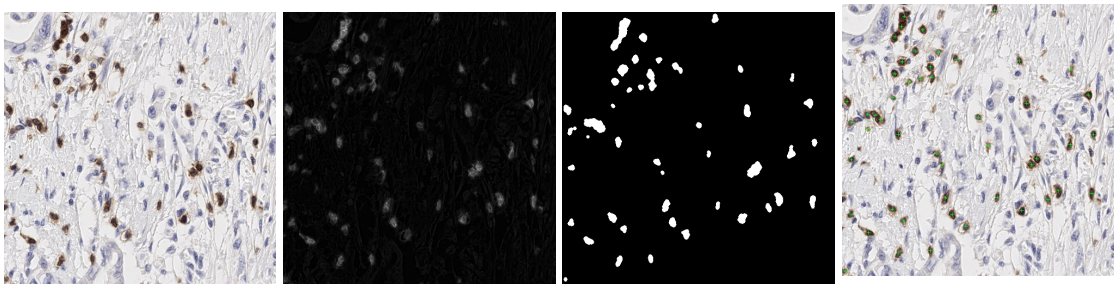


(a) $I_{\{R,V,B\}}$ (b) $I_{\{H\}}$ (c) $f_\alpha(I_{\{H\}})$ (d) $g_{\rho_1}(f_\alpha(I_{\{H\}}))$

FIGURE 5.2 – Exemple de filtrage morphologique sur le signal DAB. (a) Image RVB $I_{\{R,V,B\}}$. (b) Canal DAB $I_{\{H\}}$ extrait par déconvolution des couleurs. (c) Seuillage du canal DAB par la fonction $f_\alpha(.)$ et binarisation de l'image soit $f_\alpha(I_{\{H\}})$. (d) Filtrage morphologique de l'image binaire $f_\alpha(I_{\{H\}})$ par application d'une ouverture suivie d'une fermeture soit $g_{\rho_1}(f_\alpha(I_{\{H\}}))$.

Le paramètre $\mathcal{A}_{\min}$ est un critère d'aire minimal permettant de ne pas compter les composantes connexes de petites tailles mais qui resteraient plus grandes que l'élément structurant utilisé lors du filtrage morphologique (voir la section 5.1.4). Le paramètre r est la résolution de l'image, c'est-à-dire le nombre de microns par pixel. Généralement, pour un grossissement de $\times 20$, la résolution par pixels et de l'ordre de 0.50 µm/pixel.

La quantification réalisée n'est pas une **quantification exacte** nécessitant une segmentation de type *single-cell* mais une **estimation de quantification** plus proche de ce que les pathologistes réalisent à l'œil. Toutes les composantes connexes $c \in CC(I)$ du signal filtré et binarisé sont traitées (lignes 7-17 de l'algorithme 7). Deux cas peuvent se présenter : soit l'aire de la composante connexe C est supérieure à l'aire minimale $\mathcal{A}_{\min}$ (lignes 8-11), soit elle est strictement inférieure (lignes 12-14). Si l'aire est strictement inférieure, alors la composante n'est pas quantifiée (ligne 13). Sinon, l'on divise l'aire de la composante connexe $\mathcal{A}_c$ par l'aire moyenne d'un noyau en arrondissant à l'entier le plus proche (ligne 9). L'aire moyenne en pixels est la surface d'un disque de rayon ρ_2 microns pour une résolution de r microns par pixel. Autrement dit, $\mathcal{A}_c = \pi.(\frac{\rho_2}{r})^2$. Toute composante connexe d'aire supérieure à $\mathcal{A}_{\min}$ est considérée comme étant composée d'au moins un noyau (ligne 10). Les quantifications des composantes connexes de I sont sommées afin d'obtenir la quantification de l'image $\mathcal{N}_I^{\sim}$ (ligne 15). La figure 5.3 montre un exemple de quantification nucléique.



(a) $I_{\{R,V,B\}}$ (b) $I_{\{R\}}$ (c) $g_{\rho_1}(f_\alpha(I_{\{H\}}))$ (d) $\mathcal{N}^{\sim}_{g_{\rho_1}(f_\alpha(I_{\{H\}}))}$

FIGURE 5.3 – Exemple d'estimation de quantification nucléique sur une image H&E. (a) Image H&E au format RVB $I_{\{R,V,B\}}$. (b) Canal DAB extrait par déconvolution des couleurs soit $I_{\{R\}}$. (c) Canal DAB seuillé, binarisé et filtré morphologiquement soit $g_{\rho_1}(f_\alpha(I_{\{H\}}))$. (d) Superposition des centres de noyaux estimés par la méthode de quantification nucléique soit $\mathcal{N}^{\sim}_{g_{\rho_1}(f_\alpha(I_{\{H\}}))}$.

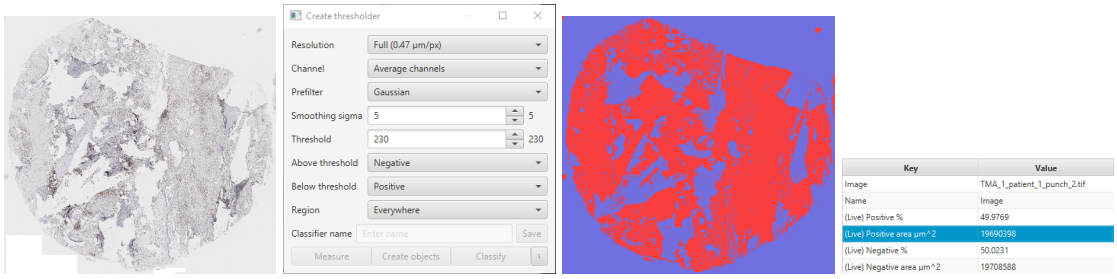
5.1.6 L'estimation surfacique du tissu

La quantication nucléique seule a cependant un inconvénient majeur. En effet, d'une lame histologique à une autre, la surface du tissu étudié peut varier de manière significative. Afin de définir un estimateur robuste, il est nécessaire de **normaliser la quantification** en fonction du tissu étudié. Pour ce faire, il faut estimer la **surface du tissu** traité. Le processus mis en place est effectué au moyen du logiciel QuPath [15].

On utilise le classifieur binaire intégré à QuPath (dénommé *pixel thresholder*). Il ne s'agit pas d'obtenir une mesure exacte de surface mais une **estimation robuste** à travers les différents tissus, marqueurs et images utilisés. Le choix des paramètres a été effectué avec l'aide de pathologistes sur des critères qualitatifs. Les paramètres sont les suivants :

- la résolution utilisée est la résolution native sans sous-échantillonnage ;
- le calcul est effectué sur la moyenne des canaux RVB ;
- un filtre gaussien est appliqué en pré-traitement avec un facteur $\sigma = 5$;
- un seuillage du signal est effectué pour la valeur de niveau de gris $\lambda = 230$;
- les pixels dont le niveau de gris est inférieur à $\lambda = 230$ sont assignés à la classe du **tissu** ;
- les pixels dont le niveau de gris est supérieur à $\lambda = 230$ sont assignés à la classe du **fond**.

Étant donné que QuPath intègre les conversions entre microns et pixels, on obtient directement une estimation de l'aire exprimée en μm^2. La figure 5.4 illustre l'utilisation de QuPath afin d'estimer l'aire d'un punch complet.



(a) Punch I (b) Paramètres (c) Surface (d) $\mathcal{A}_I^{\sim}$

FIGURE 5.4 – Exemple d'estimation de la surface du tissu sur un punch complet en H&E. (a) Image H&E I au format RVB contenant un punch complet de 6 mm. (b) Paramètres de QuPath [15] utilisés pour estimer la surface du punch. (c) Résultat qualitatif du classifieur binaire avec les pixels du punch en rouge et les pixel du fond en bleu. (d) Résultat quantitatif du classificateur binaire avec l'aire estimée du punch $\mathcal{A}_I^{\sim}$.

5.1.7 La définition d'un immunoscore

À partir de l'estimation de quantification nucléique et de l'estimation surfacique du tissu sous-jacent, on peut définir l'immunoscore pour une image donnée. Soit I une image histologique de type H&E. Soient α, ρ_1, ρ_2, $\mathcal{A}_{\min}$ les paramètres de l'algorithme 7. On définit $\mathcal{N}_I^{\sim}$ l'estimation de quantification nucléique (en nombre de noyaux) de I obtenue par application de l'algorithme 7 avec les paramètres α, ρ_1, ρ_2 et $\mathcal{A}_{\min}$. On définit $\mathcal{A}_I^{\sim}$ l'estimation surfacique du tissu de I (en μm^2) obtenue par application de la classification binaire de QuPath avec les paramètres précédents. On définit alors le **score immunitaire** ou **immunoscore** de I, noté $\mathcal{S}_I^{\sim}$, comme étant l'estimation de quantification nucléique par unité de surface du tissu exprimé en mm^2. Autrement dit, on a $\mathcal{S}_I^{\sim} = \frac{\mathcal{N}_I^{\sim}}{10^6.\mathcal{A}_I^{\sim}}$.

5.2 La qualification de l'infiltrat immunitaire dans le cancer du pancréas

Cette section décrit une étude en cours, réalisée en collaboration avec le département de pathologie des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg [1] et du Cancéropôle Est [2].

5.2.1 Les objectifs de l'étude

Cette étude comporte trois objectifs : un objectif principal et deux objectifs secondaires. L'objectif principal de l'étude est de caractériser le micro-environnement tumoral de l'adénocarcinome canalaire du pancréas au moyen de **méthodes quantitatives** fiables et reproductibles. Le premier objectif secondaire est d'évaluer l'impact de la chimiothérapie **néo-adjuvante** par rapport à la chimiothérapie **adjuvante** sur le MET. Le second objectif est d'évaluer l'impact du MET sur la survie des patients.

5.2.2 Le protocole de traitement

Le protocole de traitement suivant a été mis en place pour procéder à l'analyse de la cohorte des HUS représentée par le jeu de données **HUS**. Les premières étapes concernent la préparation des lames histologiques. Cela inclut le désarchivage des lames et blocs et la sélection de régions d'intérêt par les pathologistes. Trois zones sont choisies pour chaque tumeur : une zone au **centre de la tumeur**, une zone au sein du **front d'invasion** et une zone entre les deux précédentes dite **zone intermédiaire**. Pour chaque patient de la cohorte, trois punchs de 6 mm par tumeur sont réalisés et intégrés sous forme de tissue microarray (TMA). Au total, douze TMA sont réalisés par sous-cohorte.

Pour chaque lame histologique constituant les TMA, sept immunomarquages sont réalisés afin de cibler des cellules spécifiques du MET. Le détail des anticorps utilisés est donné dans la table 5.1. Les lames sont ensuite numérisées avec un grossissement x20 et une résolution par pixel de 0.495 µm/pixel au format TIFF. Un premier travail manuel est effectué afin d'isoler chaque punch individuellement au sein des TMA à l'aide du logiciel **ImageJ-Fiji** [208]. Chaque punch peut alors être traité d'une part pour effectuer une estimation de **quantification cellulaire**, et d'autre part pour effectuer une **estimation de la surface** occupée par le tissu au sein du punch. Enfin, les deux estimations sont combinées pour chaque punch et sommées pour chaque patient afin de former un immunoscore par

1. https://www.chru-strasbourg.fr/
2. https://www.canceropole-est.org/

patient (voir la section 5.1 pour la définition de cet immunoscore). Les données obtenues peuvent donner lieu à une analyse statistique.

Anticorps	**Cible**
CD1a	Cellules dendritiques
CD3	Lymphocytes T
CD4	Lymphocytes T CD4
CD8	Lymphocytes T cytotoxiques
CD163	Macrophages M2
CD68	Macrophages
FoxP3	Lymphocytes T régulateurs

TABLE 5.1 – Détails des immunomarquages réalisés sur la cohorte HUS.

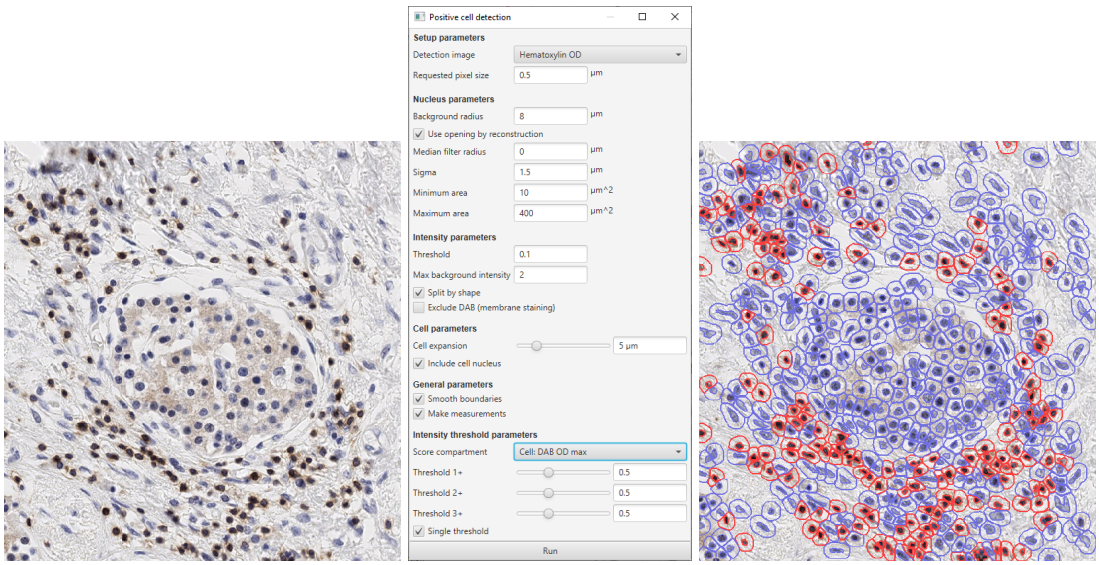
5.2.3 La définition d'un immunoscore avec QuPath

Le logiciel **QuPath** [15] est utilisé pour réaliser une estimation de la surface occupée par le tissu de chaque punch. Cette estimation surfacique est utilisée pour former l'immunoscore (voir la section 5.1) du punch/patient. Étant donné que QuPath est déjà utilisé dans le processus de traitement des données, on propose de calculer un **second score immunitaire** en suivant le même procédé mais en utilisant les modules présents dans le logiciel.

Le score immunitaire QuPath est formé à partir de la même estimation surfacique du tissu des punchs et d'une nouvelle quantification des noyaux positifs, cette fois-ci en utilisant le module *Positive cell detection* de QuPath. La méthode n'est pas à proprement parler une méthode de quantification mais plutôt une méthode de détection des noyaux. Elle consiste, similairement à la méthode décrite dans la section 5.1, à employer la déconvolution des couleurs de Ruifrok et Johnston [201], puis à filtrer le canal DAB. Ensuite, un algorithme de ligne de partage des eaux (*watershed* en anglais) est utilisé en combinaison d'un modèle d'expansion des noyaux afin d'isoler les cellules individuelles. On obtient alors une quantification des cellules positives (canal DAB) et des cellules négatives, c'est-à-dire des autres cellules (canal hématoxyline). La table 5.2 détaille les paramètres de QuPath utilisés en fonction des différents marqueurs et la figure 5.5 donne un exemple d'une telle détection/quantification cellulaire.

Métrique	Marqueur	Seuils	Expansion cellulaire
cell DAB OD Max	CD1a CD3 CD4 CD8 FoxP3	0.5/0.5/0.5	2 µm
	CD163	0.6/0.6/0.6	5 µm
	CD68	0.8/0.8/0.8	

TABLE 5.2 – Détails des paramètres utilisés dans QuPath [15] pour effectuer une quantification nucléique pour chaque marqueur.



(a) (b) (c)

FIGURE 5.5 – Exemple de quantification nucléique avec QuPath [15]. (a) Patch d'un punch en CD3. (b) Paramètres utilisés dans QuPath pour le module *Positive cell detection*. (c) Résultat de quantification avec les noyaux de cellules positives en rouge et les autres noyaux en bleu.

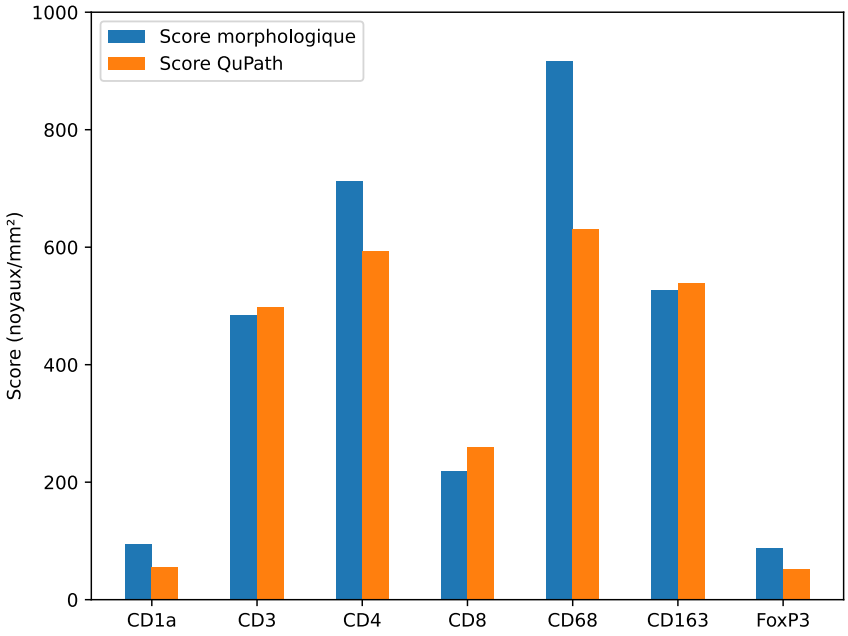
5.2.4 Les résultats et perspectives

La cohorte HUS complète

À première vue, on peut observer des différences entre les deux immunoscores utilisés (table 5.3 et figure 5.6). S'il semble que le score morphologique soit **généralement plus élevé** que le score QuPath, la tendance n'est pas générale. De fait, on observe la tendance inverse concernant l'expression de CD3, bien que les scores soient relativement proches, de CD8 et de CD163. Il est probable que le score morphologique, n'effectuant pas de segmentation en cellules individuelles, produise une **sur-estimation** de la quantification réelle des punchs.

Marqueur	**Score immunitaire**					
	Morphologique (section 5.1)			**QuPath (section 5.2.3)**		
	Moyenne	**Médiane**	**E.T.**	**Moyenne**	**Médiane**	**E.T.**
CD1a	94.2	69.9	82.2	55.1	45.6	43.6
CD3	484.1	436.2	305.9	498.1	460.9	318.6
CD4	712.7	657.7	431.4	592.6	540.6	353.8
CD8	218.4	208.9	146.3	260.0	238.3	189.9
CD68	916.8	797.9	551.9	631.1	556.8	364.5
CD163	526.1	477.8	290.3	539.6	511.9	302.3
FoxP3	88.1	39.4	218.6	52.7	39.7	60.3
CD8/CD3	0.50	0.46	0.38	0.57	0.49	0.48
CD8/CD4	0.35	0.29	0.25	0.48	0.41	0.37

TABLE 5.3 – Moyennes, médianes et écarts-types des immunoscores en nombre de noyaux par mm^2 pour chaque marqueur sur la cohorte **HUS** complète.



(a)

FIGURE 5.6 – Moyennes des immunoscores morphologiques (section 5.1) et QuPath (section 5.2.3) pour chaque marqueur sur la cohorte **HUS** complète.

Les sous-cohortes $\mathbf{HUS_{adj}}$ et $\mathbf{HUS_{nadj}}$

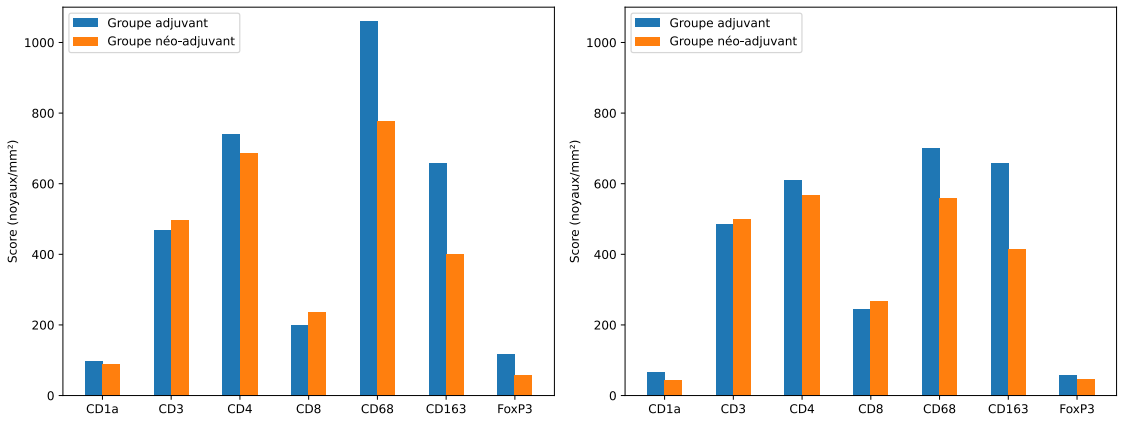
Les sous-cohortes permettent à la fois d'évaluer et de comparer les scores morphologique et QuPath, mais aussi de montrer des tendances entre patients ayant été traités par chimiothérapie adjuvante ($\mathbf{HUS_{adj}}$) et les patients ayant été traités par chimiothérapie néo-adjuvante ($\mathbf{HUS_{adj}}$).

La comparaison des scores Si l'on regarde les scores immunitaires morphologiques (section 5.1) et QuPath (section 5.2.3), on peut remarquer que les tendances sont **globalement similaires** (table 5.4 et figure 5.7). Concernant l'expression de CD1a, on observe une différence significative entre les scores à savoir une baisse de 8.43% avec le score morphologique contre une baisse bien plus importante de 31.44% pour le score QuPath. Concernant l'expression de CD3, CD4, CD8, CD68, CD163, les tendances sont similaires avec des différences proportionnelles respectivement de 5.68% contre 2.96%, 7.37% contre 7.22%, 14.70% contre 8.27%, 26.58% contre 20.00% et 39.08% contre 37.00%. Enfin, concernant l'expression de FoxP3, la tendance est similaire mais la différence est significative. En effet, on observe une baisse de 50.38% pour le score morphologique contre une baisse beaucoup plus faible de 21.16% pour le score QuPath.

La comparaison des groupes Si l'on compare maintenant les groupes de patients ayant bénéficié d'une chimiothérapie adjuvante $\mathbf{HUS_{adj}}$ avec ceux ayant bénéficié d'une chimiothérapie néo-adjuvante $\mathbf{HUS_{nadj}}$, on peut également observer des **tendances intéressantes**. Concernant le marqueur CD1a, l'expression moyenne est de 66 noyaux/mm^2 pour le groupe adjuvant $\mathbf{HUS_{adj}}$ contre 45 noyaux/mm^2 pour le groupe néo-adjuvant $\mathbf{HUS_{nadj}}$ avec une forte significativé ($p = 0.01$). Concernant le marqueur CD68, l'expression moyenne est de 706 noyaux/mm^2 pour le groupe adjuvant $\mathbf{HUS_{adj}}$ contre 560 noyaux/mm^2 pour le groupe néo-adjuvant $\mathbf{HUS_{nadj}}$ avec une significativité moyenne ($p = 0.05$). Concernant le marqueur CD163, l'expression moyenne est de 672 noyaux/mm^2 pour le groupe adjuvant $\mathbf{HUS_{adj}}$ contre 415 noyaux/mm^2 pour le groupe néo-adjuvant $\mathbf{HUS_{nadj}}$ avec une très forte significativité ($p = 0.00001$).

Marqueur	Score immunitaire			
	Morphologique (section 5.1)		QuPath (section 5.2.3)	
	$\mathbf{HUS_{adj}}$	$\mathbf{HUS_{nadj}}$	$\mathbf{HUS_{adj}}$	$\mathbf{HUS_{nadj}}$
CD1a	98.4	90.1	65.2	44.7
CD3	469.6	497.9	486.2	501.0
CD4	740.6	686.0	610.6	566.5
CD8	200.7	235.3	246.4	268.6
CD68	1060.8	778.8	700.9	560.7
CD163	657.3	400.4	659.3	415.5
FoxP3	118.7	58.9	58.6	46.2

TABLE 5.4 – Moyennes des immunoscores en nombre de noyaux par mm^2 pour chaque marqueur sur les deux sous-cohortes à savoir le groupe adjuvant $\mathbf{HUS_{adj}}$ et le groupe néo-adjuvant $\mathbf{HUS_{nadj}}$ (voir la section 4.8.1).



(a) (b)

FIGURE 5.7 – Moyennes des immunoscores morphologiques pour chaque marqueur sur les deux sous-cohortes $\mathbf{HUS_{adj}}$ et $\mathbf{HUS_{nadj}}$ (voir la section 4.8.1). (a) Moyennes avec le score immunitaire morphologique (section 5.1). (b) Moyennes avec le score immunitaire QuPath (section 5.2.3).

Les groupes de survie

Au niveau de l'infiltrat immunitaire, on s'intéresse plus particulièrement à l'expression des marqueurs CD3, CD4 et CD8. Les patients sont analysés selon trois sous-groupes : courts survivants (moins de trois ans), longs survivants (entre trois et cinq ans) et très longs survivants (plus de cinq ans) comme décrit dans la section 4.8.1. La table 5.5 montre les moyennes des immunoscores dans chaque sous-groupe pour les groupes adjuvant et néo-adjuvant avec l'immunoscore morphologique 5.1. La table 5.6 est identique mais utilise l'immunoscore QuPath 5.2.3. La figure 5.9 montre les courbes de Kaplan-Meier (courbes de survie) des expressions fortes et faibles des trois marqueurs. Les tests du log-rank (ou tests de Mantel-Cox) ont été réalisés, pour l'instant seulement concernant la méthode QuPath, avec pour le marqueur CD3 : $\chi^2 = 3.956$, $p = 0.0467$ (figure 5.9b), pour le marqueur CD4 : $\chi^2 = 5.498$, $p = 0.0190$ (figure 5.9d) et pour le marqueur CD8 : $\chi^2 = 2.509$, $p = 0.113$ (figure 5.9f).

Les survies à 3 ans Pour le marqueur CD3, l'expression moyenne est de 628 noyaux/mm^2 pour les patients dont la survie est supérieure à 3 ans contre 447 noyaux/mm^2 pour les patients dont la survie est inférieure à 3 ans avec une forte significativité ($p = 0.01$). Pour le marqueur CD4, l'expression moyenne est de 762 noyaux/mm^2 pour les patients dont la survie est supérieure à 3 ans contre 526 noyaux/mm^2 pour les patients dont la survie est inférieure à 3 ans avec une très forte significativité ($p = 0.003$). Pour le marqueur CD8, l'expression moyenne est de 289 noyaux/mm^2 pour les patients dont la survie est supérieure à 3 ans contre 235 noyaux/mm^2 pour les patients dont la survie est inférieure à 3 ans avec une faible significativité ($p = 0.17$).

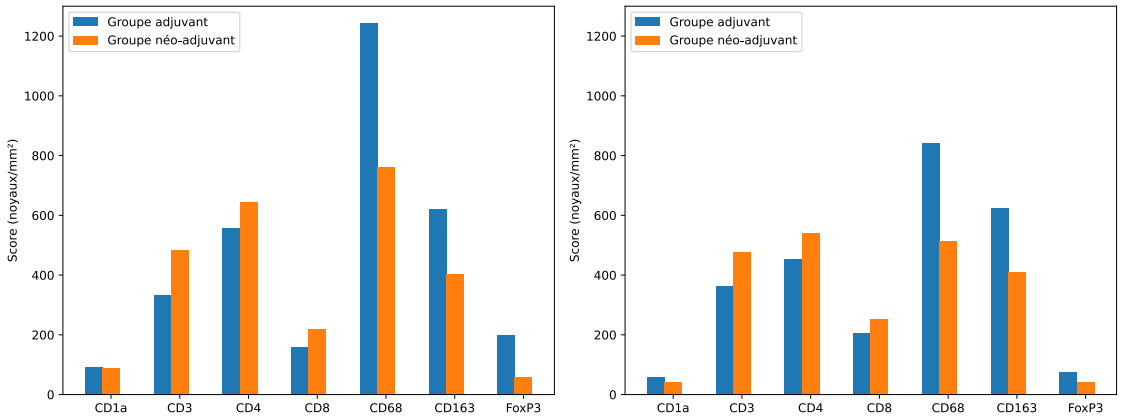
Les survies à 5 ans Pour le marqueur CD3, l'expression moyenne est de 576 noyaux/mm^2 pour les patients dont la survie est supérieure à 5 ans contre 431 noyaux/mm^2 pour les patients dont la survie est inférieure à 5 ans avec une forte significativité ($p = 0.02$). Pour le marqueur CD4, l'expression moyenne est de 692 noyaux/mm^2 pour les patients dont la survie est supérieure à 5 ans contre 506 noyaux/mm^2 pour les patients dont la survie est inférieure à 5 ans avec une forte significativité ($p = 0.01$). Pour le marqueur CD8, l'expression moyenne est de 304 noyaux/mm^2 pour les patients dont la survie est supérieure à 5 ans contre 242 noyaux/mm^2 pour les patients dont la survie est inférieure à 5 ans avec une faible significativité ($p = 0.16$).

Marqueur	Groupe de survivants					
	Courts (<3 ans)		Longs (3-5 ans)		Très longs (>5 ans)	
	Adj.	Néo-adj.	Adj.	Néo-adj.	Adj.	Néo-adj.
CD1a	91.4	87.2	79.2	78.1	114.8	113.8
CD3	333.8	483.5	559.9	424.3	621.5	632.7
CD4	556.6	642.9	917.8	600.7	926.9	924.2
CD8	159.5	219.9	218.1	245.8	250.3	270.6
CD68	1243.0	761.6	897.9	777.1	871.9	834.1
CD163	621.3	401.8	781.4	400.0	662.2	396.8
FoxP3	198.0	60.1	31.2	52.1	42.3	63.3

TABLE 5.5 – Moyennes des immunoscores morphologiques (section 5.1) en nombre de noyaux par mm^2 pour chaque marqueur sur les trois sous-groupes de survivants des deux sous-cohortes **HUS** (adjuvant $\mathbf{HUS_{adj}}$ et néo-adjuvant $\mathbf{HUS_{nadj}}$).

Marqueur	Groupe de survivants					
	Courts (<3 ans)		Longs (3-5 ans)		Très longs (>5 ans)	
	Adj.	Néo-adj.	Adj.	Néo-adj.	Adj.	Néo-adj.
CD1a	59.0	41.4	54.8	55.4	69.6	41.6
CD3	362.1	475.5	584.7	448.4	601.6	644.8
CD4	451.9	539.6	751.7	495.8	744.7	736.4
CD8	206.8	251.4	248.1	275.1	298.3	314.1
CD68	841.4	512.2	560.0	677.3	543.7	569.2
CD163	625.3	410.4	772.5	446.6	660.0	393.5
FoxP3	74.2	42.8	36.6	52.4	41.0	49.1

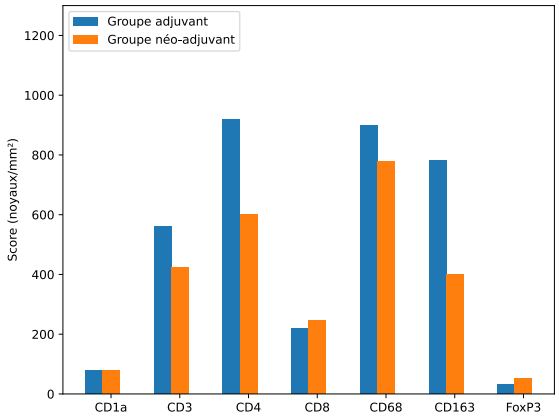
TABLE 5.6 – Moyennes des immunoscores QuPath (section 5.2.3) en nombre de noyaux par mm^2 pour chaque marqueur sur les trois sous-groupes de survivants des deux sous-cohortes **HUS** (adjuvant $\mathbf{HUS_{adj}}$ et néo-adjuvant $\mathbf{HUS_{nadj}}$).


Groupe adjuvant
Groupe néo-adjuvant
Score (noyaux/mm²)
0
200
400
600
800
1000
1200
CD1a
CD3
CD4
CD8
CD68
CD163
FoxP3

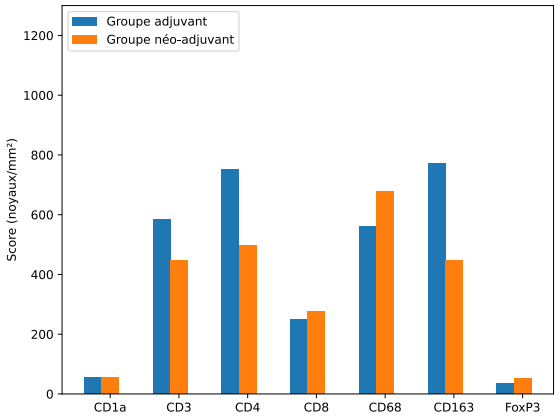
(a)

Groupe adjuvant
Groupe néo-adjuvant
Score (noyaux/mm²)
0
200
400
600
800
1000
1200
CD1a
CD3
CD4
CD8
CD68
CD163
FoxP3

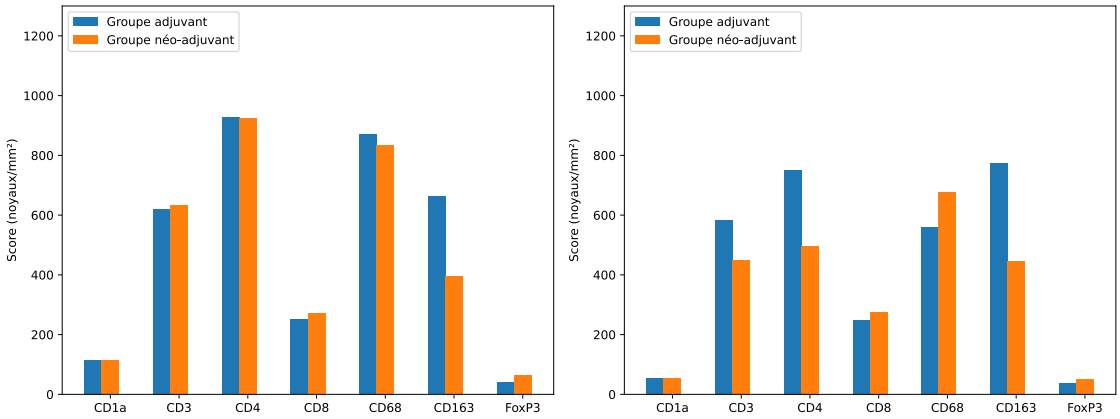
(b)


Groupe adjuvant
Groupe néo-adjuvant
Score (noyaux/mm²)
0
200
400
600
800
1000
1200
CD1a
CD3
CD4
CD8
CD68
CD163
FoxP3

(c)

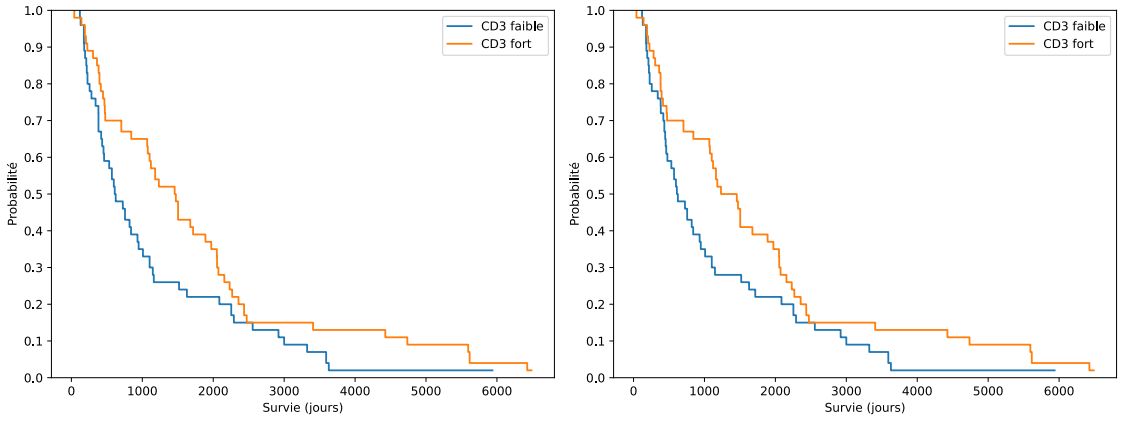

Groupe adjuvant
Groupe néo-adjuvant
Score (noyaux/mm²)
0
200
400
600
800
1000
1200
CD1a
CD3
CD4
CD8
CD68
CD163
FoxP3

(d)



(e) (f)

FIGURE 5.8 – Moyennes des immunoscores morphologiques sur les trois groupes de survivants de la cohorte **HUS** (voir la section 4.8.1). Moyennes pour les sous-groupes de (a,b) courts survivants, (c,d) longs survivants et (e,f) très longs survivants avec (a,c,e) le score immunitaire morphologique (section 5.1) et (b,d,f) le score QuPath (section 5.2.3).



(a) (b)

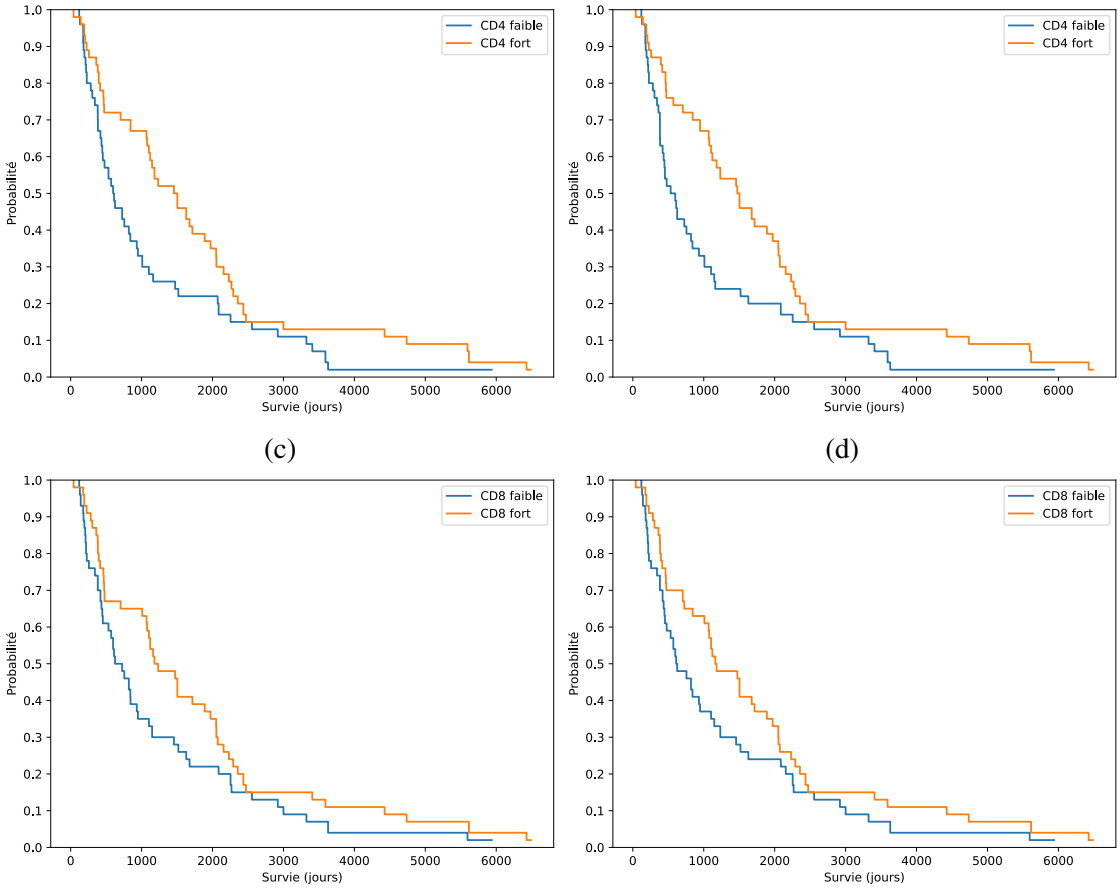


FIGURE 5.9 – Courbes de survie (courbes de Kaplan-Meier) pour (a,b) le marqueur CD3, (c,d) le marqueur CD4 et (e,f) le marqueur CD8 à partir des immunoscores (a,c,e) morphologique (section 5.1) et (b,d,f) QuPath (section 5.2.3).

Conclusion

Nous pouvons montrer une **amélioration de survie significative** des patients avec un important infiltrat immunitaire (expression de CD3 et CD4) de plus dans un effectif avec une prédominance de cancers **localement avancés**. Nous pouvons également démontrer une **baisse d'expression significative** de CD163, CD68 et CD1a après chimiothérapie **néo-adjuvante** en confirmation des données de la littérature. En revanche, nous ne pouvons pas montrer de tendance significative concernant l'expression de CD8 ($p > 0.10$).

Du point de vue méthodologique, nous avons proposé un score immunitaire inspiré par la pratique du pathologiste et intégrant quelques connaissances expertes (taille de cellule, filtrage du signal). Ce score est relativement **simple à intégrer** au sein d'un logiciel et/ou d'un pipeline de traitement utilisé en routine. De plus, la méthode proposée est **généralisable** à n'importe quel type d'images histologiques à partir du moment où une méthode de **déconvolution des couleurs** (ou équivalent) peut y être appliquée et pour n'importe quel type de coloration histologique tant que le marqueur est de type **nucleïque**.

Perspectives

Les statistiques analysées ne concernent pour l'instant que les données issues des immunoscores QuPath. Les données issues des scores morphologiques sont en cours d'analyse, ce qui nous permettrait d'approfondir d'une part l'analyse quantitative de cette nouvelle méthode, et d'autre part la comparaison entre les deux méthodes de *scoring*. Les résultats préliminaires ont fait l'objet d'une présentation orale [3] conjointe avec Arthur Bénédic (CHU de Strasbourg) lors de la *Journée du cancer du pancréas* [4] organisée par le Cancéropôle-Est [5] le 1er décembre 2023 à Besançon. L'entièreté de cette étude ainsi que la définition des scores immunitaires devrait faire l'objet d'une publication sous la forme d'un **article de journal médical** dans les prochains mois.

L'immunoscore pourrait être amélioré en vue d'être intégré dans un logiciel de traitement d'images histologiques de routine. En particulier, les estimations de quantifications par cluster (algorithme 7, lignes 8 à 14) sont indépendantes les unes des autres et pourraient être **parallélisées**. De plus, une approche similaire utilisant des ratios de surfaces pourrait être proposée afin de prendre en compte les colorants produisant un **marquage cytoplasmique** (autour des noyaux).

3. https://www.canceropole-est.org/sites/default/files/benedic_perrin.pdf
4. https://www.canceropole-est.org/journee-cancer-du-pancreas
5. https://www.canceropole-est.org/

Pour aller plus loin dans la caractérisation du MET, il serait intéressant de proposer plus qu'un score basé sur une quantification cellulaire. La caractérisation du MET pourrait se faire au moyen de la représentation des **relations spatiales** entre les cellules le composant. Pour ce faire, une segmentation robuste des différentes cellules devrait être appliquée. Nous explorons un modèle de segmentation cellulaire dans le chapitre suivant (chapitre 6), puis proposons une nouvelle méthode de segmentation cellulaire basée sur le MSCT (chapitre 7). Il serait également intéressant de tirer parti de la richesse d'information offerte par l'imagerie *multiplex* pour établir un graphe (par exemple issu du calcul d'un k-voisinnage) qui permettrait de mettre en relation les différentes cellules de cet environnement complexe. Nous proposons une nouvelle méthode de segmentation et de classification des cellules issues d'images histologiques *multiplex* à l'aide du MSCT (chapitre 8) et définissons un graphe représentatif du MET (chapitre 9).

Chapitre 6

La segmentation cellulaire avec le modèle ColorAE-UNet

6.1 Motivations

L'immunoscore développé au chapitre précédent (chapitre 5) nous permet de disposer d'une **méthode morphologique simple** de caractérisation d'un tissu. Bien que cette caractérisation soit suffisante pour émuler le travail manuel réalisé par le pathologiste, c'est-à-dire estimer une quantification d'un seul type de cellule au sein dudit tissu, elle n'est pas suffisante pour **pleinement caractériser les interactions** entre les diverses cellules le composant (voir la section 4.5). Pour obtenir une caractérisation complète des cellules d'un tissu, il est judicieux d'employer l'**histologie *multiplex*** (voir la section 4.4.5) et nécessite de segmenter et de classifier les cellules pour pouvoir ensuite analyser les relations spatiales entre elles. Dans ce chapitre, nous explorons cette première étape de segmentation à travers une serie d'expérimentations sur un modèle convolutif adapté à un type de *multiplexing*. Nous tentons d'appliquer ce modèle à des images d'un autre type de *multiplexing* et montrons la nécessité de définir une autre approche.

La plateforme **Discovery Ultra** [278, 126, 56] développée par la société Roche [1] permet de réaliser des immunomarquages en immunohistochimie multiplex. Contrairement à certains pipelines, cette plateforme n'inclut pas de logiciel de traitement d'image, ni de scanner. Les images produites sont des images RVB sur lesquelles les différentes marqueurs sont identifiables par la couleur du colorant associé. Il n'existe, à notre connaissance, qu'une seule méthode publiée et spécifiquement développée pour cette plateforme

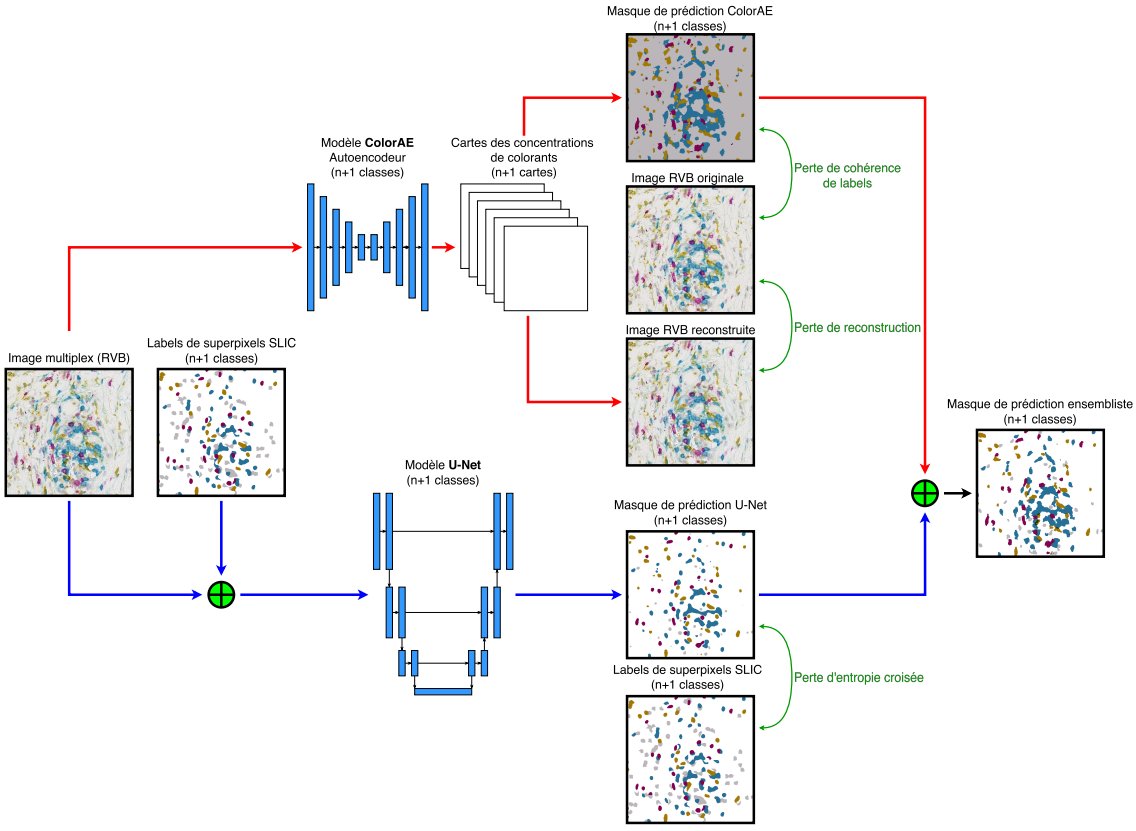
1. F. Hoffmann-La Roche

permettant d'effectuer une déconvolution des couleurs (estimer ainsi les concentrations des colorants) suivie d'une segmentation des noyaux. Cette méthode est un **modèle ensembliste dit ColorAE-UNet** introduit par Abousamra *et al.* et Fassler *et al.* [2, 68]. Ayant été confronté brièvement à ce type d'images, une expérimentation avec ce modèle a été réalisée.

Le reste du chapitre est organisé ainsi. La section 6.2 présente le modèle ensembliste ColorAE-UNet. La section 6.3 décrit les paramètres du modèle et des expérimentations sur les jeux de données **ROCHE** et **MI*EDGE**. La section 6.4 présente les résultats obtenus sur ces deux jeux de données. Enfin, la section 6.5 conclut le chapitre.

6.2 Le modèle ensembliste ColorAE-UNet

Le modèle ensembliste **ColorAE-UNet** [2, 68] est formé de deux sous-modèles dont l'un est un autoencodeur dénoté **ColorAE** et l'autre un réseau convolutionnel de type **U-Net** [193]. Le modèle est utilisé pour estimer la déconvolution des couleurs similairement à la méthode de Ruifrok et Johnston [201] ou celle de Geijs *et al.* [74] mais est applicable aux images multiplex pour lesquelles le nombre de marqueurs simultanés excède les limitations des méthodes sus-nommées. La figure 6.1 illustre le modèle ensembliste.



(a)

FIGURE 6.1 – Illustration du modèle ensembliste ColorAE-UNet composé du sous-modèle de type aucodeur ColorAE (chemin rouge) et du modèle U-Net (chemin bleu).

6.2.1 Le sous-modèle ColorAE

Le rôle de l'**autoencodeur ColorAE** est de prédire simultanément la concentration de chaque colorant en chaque pixel de l'image. La supervision est assurée par une image de labels, obtenue par superpixelisation SLIC [3] à partir des annotations ponctuelles (voir la section 6.3). Il est entraîné avec deux pertes différentes (comptant pour 50 % de la perte totale) : une **perte de reconstruction** et une **perte de cohérence de labels**.

La perte de reconstruction est une perte classique en reconstruction d'images. Elle sert à assurer que la prédiction des concentrations **reconstruit correctement** l'image originale en chaque pixel. Elle est obtenue en calculant l'erreur quadratique moyenne (*mean squared error* ou MSE en anglais) entre la densité optique de l'image reconstruite et celle de l'image originale.

La perte de cohérence de labels sert à s'assurer que les concentrations estimées restent **cohérentes avec les annotations manuelles** fournies via les annotations ponctuelles. Elle est obtenue en calculant l'erreur quadratique moyenne entre la matrice de prédiction des concentrations et l'image de labels formée à partir des annotations ponctuelles. Le sous-modèle ColorAE correspond au chemin (supérieur) rouge dans la figure 6.1.

6.2.2 Le sous-modèle U-Net

Le sous-modèle **convolutionel U-Net** est basé sur l'architecture U-Net introduite par Ronneberger *et al.* [193]. Il utilise également l'image de labels issue de la **superpixelisation SLIC** [3] comme forme de supervision (voir la section 6.3). Il est entraîné à segmenter l'image d'entrée et à reproduire le comportement de la superpixelisation SLIC.

À la différence de ColorAE (voir la section 6.2.1), il ne produit pas de prédictions de concentrations de colorants. En revanche, il sert à **générer des *features*** qui ont pour objectif de différencier les différentes classes de cellules en fonction de labels.

Il est entraîné avec un perte de type entropie croisée et un *dropout*. Les prédictions de segmentation ne sont pas aussi détaillées que celles obtenues avec ColorAE car moins de contraintes lui sont appliquées. Cependant, ces prédictions se révèlent être complémentaires. Le sous-modèle U-Net correspond au chemin (inférieur) bleu dans la figure 6.1.

6.2.3 Le modèle ensembliste

Le modèle ensembliste ColorAE-UNet combine les forces respectives des sous-modèles ColorAE et U-Net [68]. ColorAE est dévelopé pour récupérer la composition des couleurs en prédisant la composition des couleurs en chaque pixel et ainsi effectuer le déconvolution des couleurs de l'image. U-Net permet d'identifier les différents types de cellules.

Pour combiner les deux sous-modèles, plusieurs stratégies ont été étudiées [68]. La stratégie la plus à même de produire des prédictions de segmentation satisfaisantes est la stratégie **union anchor AE**. Celle-ci consiste à prendre comme prédiction finale, l'union des masques de segmentation issus de ColorAE et U-Net mais en supprimant les prédictions issues de U-Net qui ne se superposent pas à celles issues de ColorAE. Autrement dit, seules les composantes connexes contenant des pixels colorés issues de ColorAE sont conservées. Cette opération correspond à la fusion des chemins (supérieur) rouge et (inférieur) bleu dans la figure 6.1.

6.3 Les paramètres de l'expérimentation

6.3.1 Les vecteurs de référence

Afin d'estimer les concentrations des différents colorants, le modèle nécessite une information additionnelle, à savoir un vecteur de référence RVB pour chaque colorant ainsi que pour le fond.

Dans le cadre du jeu de données **MI*EDGE** les vecteurs exacts sont contenus dans les métadonnées de l'image multiplex originale. Les vecteurs sont donc obtenus par lecture de ces métadonnées au moyen du logiciel **ImageJ-Fiji** [208].

Pour le jeu de données **ROCHE**, nous n'avons pas accès à cette information. Les vecteurs ont été estimés en **moyennant les valeurs** RVB autour de chaque annotation ponctuelle de chaque classe. Il faut faire attention à ne pas inclure trop de pixels en dehors du noyau cellulaire pour ne pas fausser l'estimation. Un rayon optimal de 3 pixels a été choisi empiriquement. Il y a également le cas du *contre-marqueur* qui marque le noyau de toutes les cellules, y compris celles marquées par un marqueur spécifique (*jaune*, *cyan* ou *violet*). Le moyennage inclut de fait le *contre-marqueur* au sein de trois classes spécifiques.

Dans un second temps, la valeur moyenne du *contre-marqueur* prise pour les noyaux non marqués spécifiquement (*contre-marqueur* pur) est déduite des trois marqueurs spécifique afin d'utiliser des marqueurs plus *purs*. La figure 6.2 illustre les différents vecteurs considérés.

(a) 1 (b) 3 (c) 5 (d) 10 (e) 1 (f) 3 (g) 5 (h) 10

FIGURE 6.2 – Illustration des vecteurs représentatifs pour le jeu de données **ROCHE** pour différentes valeurs de rayon autour des annotations ponctuelles. (a-d) Vecteurs directs. (e-h) Vecteurs avec compensation de l'hématoxyline.

6.3.2 Les annotations finales

Les annotations finales, c'est-à-dire des images de labels, sont obtenues à partir des annotations ponctuelles pour les deux jeux de données **ROCHE** et **MI*EDGE**. Pour ce faire, une sur-segmentation en superpixels de type **SLIC** [3] est appliquée à chaque annotation ponctuelle. Chaque superpixel contenant une annotation se voit attribuer la classe correspondant à la classe de l'annotation ponctuelle. Les superpixels ne contenant pas d'annotation se voient attribuer la classe du fond. La figure 6.3 illustre le processus de création des annotations finales pour les deux jeux de données.

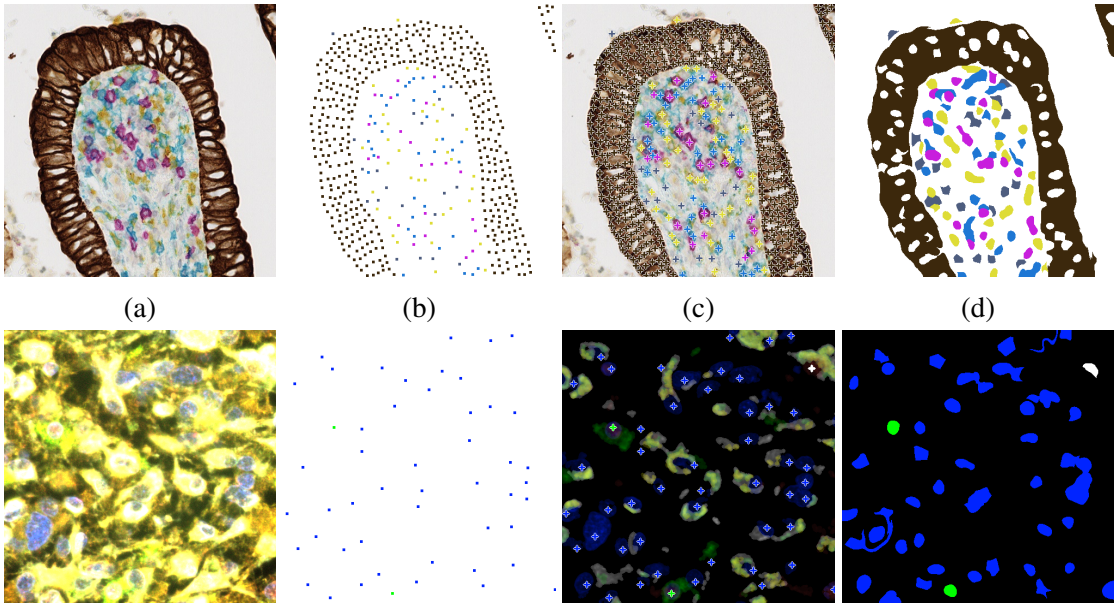


FIGURE 6.3 – Illustration du principe de construction des annotations. (a,e) Images multiplex avec (a) une image de **ROCHE** et (e) une image de **MI*EDGE**. (b,f) Annotations ponctuelles. (c,g) Superpositions des annotations ponctuelles sur les images originales. (d,h) Image de labels, résultat de la superpixelisation SLIC.

6.3.3 Les paramètres d'entraînement ROCHE

Le modèle ColorAE-UNet est dans un premier temps appliqué au jeu de données **ROCHE**.

Le modèle est entraîné séparément sur des patches aléatoires pris dans les sous-jeux de données $\mathbf{ROCHE_1}$, $\mathbf{ROCHE_2}$ et $\mathbf{ROCHE_3}$ selon les stratégies décrites dans la table 4.4. Tous les patches ont une dimension de 500×500 pixels et une résolution de 0.465 μm par pixel.

Pour l'entraînment, $n = 112$ patches sont considérés après augmentation de données (miroirs verticaux et horizontaux, rotations de 90°, 180°, and 270°) depuis les sous-jeux de données $\mathbf{ROCHE_1}$ et $\mathbf{ROCHE_3}$ et $n = 336$ patches sont considérés depuis le sous-jeu de données $\mathbf{ROCHE_2}$. L'entraînement est réalisé sur cinq itérations indépendantes pour 5000 époques avec un pas d'apprentissage de $lr = 0.0005$ et en utilisant l'optimisateur ADAM. Pour chaque itération, le modèle ayant le meilleur score sur toutes les époques est retenu.

6.3.4 Les paramètres d'entraînement MI*EDGE

Le modèle ColorAE-UNet est appliqué dans un second temps au jeu de données **MI*EDGE**.

Le modèle est entraîné sur des patches aléatoirement choisis de **MI*EDGE** de taille 500×500 pixels et à une résolution de 0.250 μm par pixel. Les canaux des images originales ont été filtrés pour supprimer la partie la plus faible du signal lors de la suppression des canaux inutilisés (voir la section 4.8.2) et les images au format RVB ont été reconstruites.

Les paramètres de la sur-segmentation SLIC ont étés ajustés afin de refléter le doublement du grossissement par rapport aux jeux de données de **ROCHE**. Pour l'entraînement, $n = 192$ patches de **MI*EDGE** sont considérés sans augmentation de données car les images exhibent une diversité plus grande que celles de **ROCHE** et totalisent un nombre de patches similaire à **ROCHE** après augmentation. L'entraînement est réalisé sur cinq itérations indépendantes de 5000 époques avec un pas d'entraînement de $lr = 0.0005$ et en utilisant l'optimisateur ADAM. Pour chaque itération, le modèle ayant le meilleur score sur toutes les époques est retenu.

6.4 Les résultats de l'expérimentation

6.4.1 Le jeu de données ROCHE

Les résultats présentés dans la table 6.5 sont moyennés sur les cinq meilleurs modèles des cinq itérations indépendantes. La figure 6.5 donne des exemples de segmentations.

À partir des expérimentations sur **ROCHE**, on peut observer que les performances sont **extrêmement stables** au sein des différentes itérations avec un écart-type maximal de 0.017 pour le marqueur *jaune* sur $\mathbf{ROCHE_3}$. Les scores F1 sont les plus stables pour le marqueur *violet* et ce pour les trois sous jeux de données. Ce résultat est attendu dans la mesure où ce marqueur est identique au sein des trois protocoles **P1**, **P2** et **P3** (voir la table 4.3) et fait alors office de référence pour comparer les autres marqueurs.

Concernant le marqueur *jaune*, on peut observer une baisse de performances entre les jeux de données $\mathbf{ROCHE_1}$ et $\mathbf{ROCHE_2}$ mais des performances similaires entre $\mathbf{ROCHE_1}$ et $\mathbf{ROCHE_3}$. Cette différence peut s'expliquer par la manière dont différents marqueurs se déposent au sein des noyaux et marquent de manière plus ou moins uniforme ceux-ci au moment de l'acquisition. Le marqueur *jaune* des protocoles **P2** et **P3** est plus subtil que celui utilisé dans le protocole **P1**, ce qui pourrait affecter la capacité du modèle à correctement estimer les concentrations de colorants. Autrement dit, **la capacité du modèle à généraliser est limitée par les propriétés intrinsèques des marqueurs utilisés**.

Concernant le marqueur *cyan*, on peut observer le phénomène inverse, à savoir une baisse de performances entre $\mathbf{ROCHE_1}$ et $\mathbf{ROCHE_3}$ mais des performances similaires entre $\mathbf{ROCHE_1}$ et $\mathbf{ROCHE_2}$. Les marqueurs *cyan* sont bien définis pour tous les protocoles mais cette fois-ci leur tailles varient. Ainsi, les noyaux marqués par le marqueur *cyan* du protocole **P1** sont plus étendus que ceux marqués par les protocoles **P2** et **P3**. Autrement dit, **la capacité du modèle à généraliser est limité par les propriétés (géométriques) intrinsèques des objets cellulaires sous-jacents**.

Concernant le marqueur *DAB*, l'analyse quantitative des résultats peut être trompeuse. En effet, ce marqueur n'est pas contenu au sein des noyaux cellulaires mais autour de ceux-ci. S'agissant de membranes, ce sont des surfaces plus ou moins bien définies suivant le dépôt des marqueurs. Une analyse qualitative est plus intéressante et le modèle permet d'extraire chaque classe indépendamment. On peut ainsi observer une **bonne qualité visuelle de segmentation** des membranes peu importe le protocole utilisé. La figure 6.4

donne des exemples de canaux obtenus par seuillage des cartes de prédictions et les membranes sont illustrées en brun (figures 6.4e, 6.4k et 6.4q).

Colorant	$\textbf{ROCHE}_1$	$\textbf{ROCHE}_2$	$\textbf{ROCHE}_3$
Jaune	0.77 (±0.003)	0.67 (±0.002)	0.77 (±0.017)
Cyan	0.85 (±0.002)	0.82 (±0.005)	0.66 (±0.003)
Violet	0.95 (±0.001)	0.96 (±0.001)	0.92 (±0.001)
DAB	0.95 (±0.001)	0.95 (±0.000)	0.92 (±0.007)
Contre-marqueur	0.09 (±0.001)	0.04 (±0.001)	0.03 (±0.001)

TABLE 6.1 – Scores F1 moyens pour chaque marqueur sur les jeux de données composant **ROCHE**.

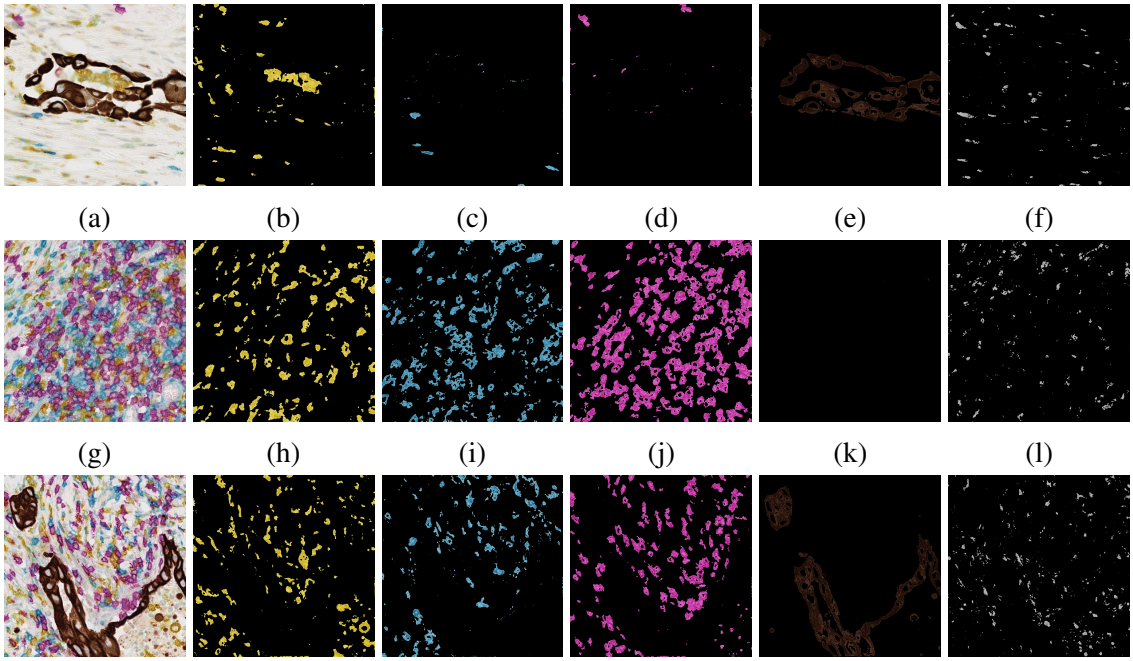


FIGURE 6.4 – Illustration des seuillages appliqués en sortie du modèle pour les images de **ROCHE**. (a,g,m) Image multiplex en entrée du modèle. (b-f,h-l,n-r) Résultat du seuillage sur la prédiction ensembliste pour (b,h,n) le canal *jaune*, (c,i,o) le canal *cyan*, (d,j,p) le canal *violet*, (e,k,q) le canal DAB et (f,l,r) le canal *contre-marqueur*.

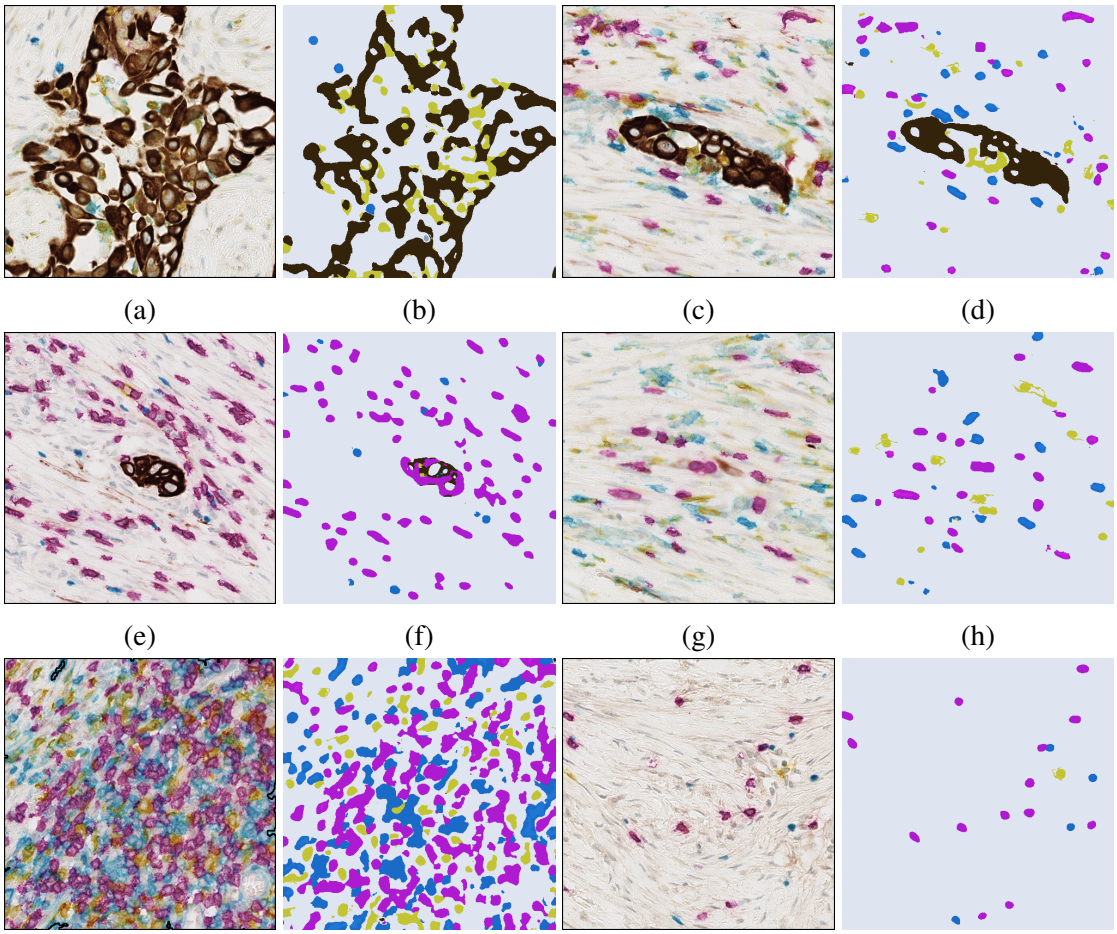


FIGURE 6.5 – Exemples de segmentations par ColorAE-UNet sur **ROCHE**. (a,c,e,g,i,k) Images multiplex. (b,d,f,h,j,l) Segmentations.

6.4.2 Le jeu de données MI*EDGE

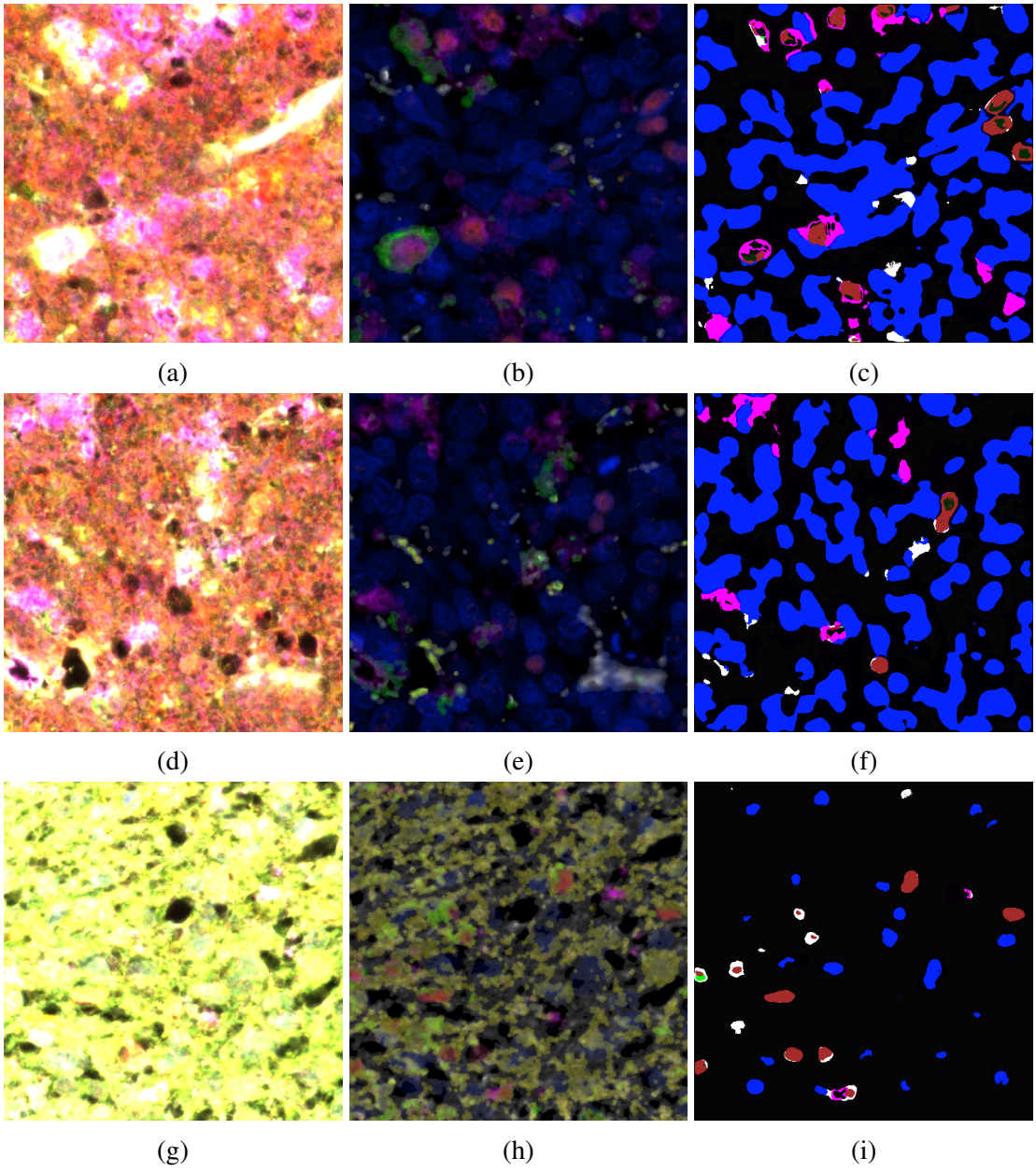
Les résultats présentés dans la table 6.2 sont moyennés sur les cinq meilleurs modèles des cinq itérations indépendantes. La figure 6.6 donne des exemples de segmentation.

On peut observer que les performances sont relativement stables à l'instar du jeu de données **ROCHE** avec de faibles écarts-types à l'exception du marqueur *ATRX*. On peut observer de très bonnes performances sur le marqueur *DAPI* et de bonnes performances sur les marqueurs *ATRX* et *CD68*. En revanche, on observe des performances très médiocres sur les marqueurs *GFAP*, *MS4A4A* et *IDH1*. Ces mauvaises performances peuvent s'expliquer par la nature beaucoup plus floue des marqueurs par rapport à la relative clarté de ceux-ci dans **ROCHE**. Ces marqueurs ont également tendance à marquer des zones en dehors des noyaux et sont, en général, moins uniformes que ceux de **ROCHE**.

Plus précisément, le marqueur *IDH1* semble produire un signal significativement plus faible sur les noyaux que les autres marqueurs, ce qui pourrait contribuer aux mauvaises performances malgré son dépôt au sein de mêmes noyaux que le marqueur *ATRX* pour lequel les performances sont significativement meilleures. Concernant le marqueur *GFAP*, les objets marqués sont les astrocytes, des cellules neuronales en forme d'étoiles avec de longs brins. Ces cellules sont probablement trop complexes à capturer avec un modèle dont l'objectif principal est d'estimer des concentrations de marqueurs au sein de noyaux de cellules. De manière générale, les images de **MI*EDGE** sont **significativement plus floues** que celles de **ROCHE**, probablement à cause des différences de précision entre les méthodes employées. Il est possible que certaines étapes de pré-traitement, notamment un débruitage, puissent améliorer les performances du modèle.

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

TABLE 6.2 – Scores F1 moyens pour chaque marqueur sur le jeu de données **MI*EDGE**.



(a) (b) (c)

(d) (e) (f)

(g) (h) (i)

FIGURE 6.6 – Exemples de segmentations par ColorAE-UNet sur **MI*EDGE**. (a,d,g) Images multiplex originales. (b,e,h) Images multiplex reconstruites. (c,f,i) Segmentations.

6.5 Conclusion

Le modèle ColorAE-UNet, bien qu'originellement développé pour la tâche spécifique consistant à estimer la concentration de colorants au sein d'images en immunohistochimie multiplex (extension de la déconvolution des couleurs de Ruifrok et Johnston [201]), est capable de produire des résultats satisfaisants pour certaines cellules en appliquant le même *modus operandi* sur un tout autre type de multiplexing exhibant des objets bien plus complexes.

Le modèle comporte néanmoins des **limitations** et n'est pas capable, en l'état, de traiter efficacement un type de **multiplexing plus complexe** et produisant des images moins nettes. Cependant, le modèle ColorAE-UNet s'avère être une solution intéressante pour traiter des images en immunofluorescence multiplex surtout si une partie de ces limitations se voyaient être levées.

Dans le cas des données **MI*EDGE**, une autre approche est nécessaire pour segmenter efficacement les cellules. L'arbre des coupes multi-échelles (MSCT) semble être une alternative prometteuse. Le chapitre 7 explore cette idée en proposant une méthode de segmentation des images de **MI*EDGE** à partir du MSCT.

Chapitre 7

La segmentation d'images histologiques à partir du MSCT

7.1 Motivations

La segmentation de cellules est une tâche importante au sein des pipelines d'analyse des images histologiques (voir la section 4.6). En particulier, les méthodes populaires récentes se basent sur l'**apprentissage profond**, notamment, les réseaux neuronaux convolutifs (CNN). Un inconvénient majeur de ces méthodes est la nécessité de disposer d'une grande quantité d'**annotations précises** afin de superviser le processus d'apprentissage.

A contrario, l'arbre des coupes multi-échelles ou MSCT (voir le chapitre 3) est capable de produire une **représentation complète et compacte** de l'image de part sa nature multi-échelles double (taille des objets et résolution des pixels). De plus, sa nature morphologique hiérarchique et sa structure d'arbre permettent de mettre en place des méthodes de **segmentation** en procédant à un **filtrage de nœuds** de l'arbre. Enfin, le MSCT ne nécessite **aucune supervision** et ne requiert par conséquent aucune annotation.

Dans ce chapitre, nous illustrons les possibilités offertes par le MSCT en proposant une méthode de segmentation de cellules sur des images histologiques. Le reste du chapitre est organisé ainsi. La section 7.2 décrit la méthode de segmentation et donne l'algorithme correspondant. La sous-section 7.2.1 détaille la procédure de filtrage des nœuds du MSCT. La sous-section 7.2.2 détaille la procédure de simplification des sous-arbres issus des nœuds choisis. La sous-section 7.2.3 détaille le filtrage de ces sous-arbres. La section 7.2.4 détaille la segmentation en cellules individuelles à partir des nœuds sélectionnés. La section 7.3 propose une amélioration de la méthode et en détaille les changements. La sec-

tion 7.4 donne les résultats de segmentation de la méthode proposées sur le jeu de données **KAGGLE** et non sur le jeu de données **MI*EDGE** car le MSCT est défini sur les images en niveaux de gris. Enfin, la section 7.5 donne quelques perspectives et conclusions.

7.2 L'algorithme de segmentation

Les images histologiques du jeu de données **KAGGLE** se composent de (noyaux de) cellules diverses. En particulier, le marquage immunitaire provoque un dépôt des colorants au sein des cellules. Ainsi, les régions exhibant un fort contraste dénotent la **présence du biomarqueur** et donc des objets cellulaires (forme) tandis que celles exhibant un faible contraste dénotent l'**absence de biomarqueur** (fond). Dans la suite, on suppose qu'un MSCT est calculé sur chaque image en suivant la procédure de construction décrite dans la section 3.3 (algorithme 1).

On propose la méthode de segmentation décrite par l'algorithme 8 qui se compose de quatre étapes.

- Premièrement, un ensemble de nœuds est extrait depuis le MSCT (ligne 3).
- Deuxièmement, chaque sous-arbre enraciné en un des nœuds choisi au sein du MSCT est simplifié pour faciliter le traitement subséquent (ligne 5).
- Troisièmement, pour chaque nœud ainsi choisi, le sous-arbre local simplifié enraciné en ce nœud est filtré (ligne 6) en fonction d'une valeur de stabilité MSER maximale. Les nœuds ainsi filtrés sont des clusters qui peuvent alors contenir plusieurs objets se touchant ou étant partiellement superposés.
- Quatrièmement, chaque cluster est nettoyé afin de supprimer les pixels du fond autour de(s) objet(s) (ligne 7), puis un algorithme de ligne de partage des eaux (*watershed*) est appliqué afin de séparer le cluster en objets individuels (ligne 8).

7.2.1 La sélection des nœuds de l'arbre

Le processus de sélection des nœuds $SelectionNoeuds$ est analogue à celui qui est utilisé lors du processus d'enrichissement du MSCT pendant sa construction (voir la section 3.3.3) étant donné que les zones plates extraites contiennent les objets cellulaires sous-jacents. Ainsi la même fonction est appliquée pour définir un ensemble de nœuds disjoints (ligne 4). Les nœuds ainsi choisis forment les **clusters intermédiaires** et peuvent à ce stade contenir une cellule mais aussi un cluster de cellules se touchant ou étant partiellement superposées.

Algorithme 8 : Segmentation cellulaire MSCT version 1

Données : $f : \mathbb{Z}^2 \to \mathbb{N}$ image en niveaux de gris, $G = (V, E)$ MSCT de f,
$MSER_{\max} \in \mathbb{N}$ valeur maximale de MSER lors du filtrage

Résultat : $P = \{P_0, \ldots, P_k\}$ ensemble de partitions partielles de f

```
1  début
2      P ← ∅
3      C_0 ← SelectionNoeuds(G')
4      pour c ∈ C_0 faire
5          G(c)' ← Simplifier(G(c))
6          C'_0 ← FiltrageNoeuds(G(c)', Racine(G(c)'), MSER_max)
7          pour c' ∈ C'_0 faire
8              c'' ← H(Ostu(FiltreGaussien(c')))
9              S ← Watershed(f, c, ErosionUltime(c''))
10             P ← P ⋃ S
11         fin
12     fin
13 fin
```

7.2.2 La simplification du MSCT

La seconde étape consiste à **simplifier les sous-arbres** issus des nœuds précédemment sélectionnés afin de faciliter la séparation en objets individuels. Pour ce faire, on se base à nouveau sur les attributs de stabilité MSER (voir la section 3.3.4). L'objectif est de **compresser chaque branche** des sous-arbres en un seul et **unique nœud** qui lui servira de représentant de branche. Pour chaque branche, tous les nœuds entre la racine locale de la branche et le premier embranchement (nœud ayant plus d'un enfant ou nœud feuille) sont fusionnés en un nouveau nœud ayant pour attribut la valeur de stabilite MSER minimale parmi les nœuds fusionnés. Le figure 7.1 donne un exemple de simplification d'un sous-arbre.

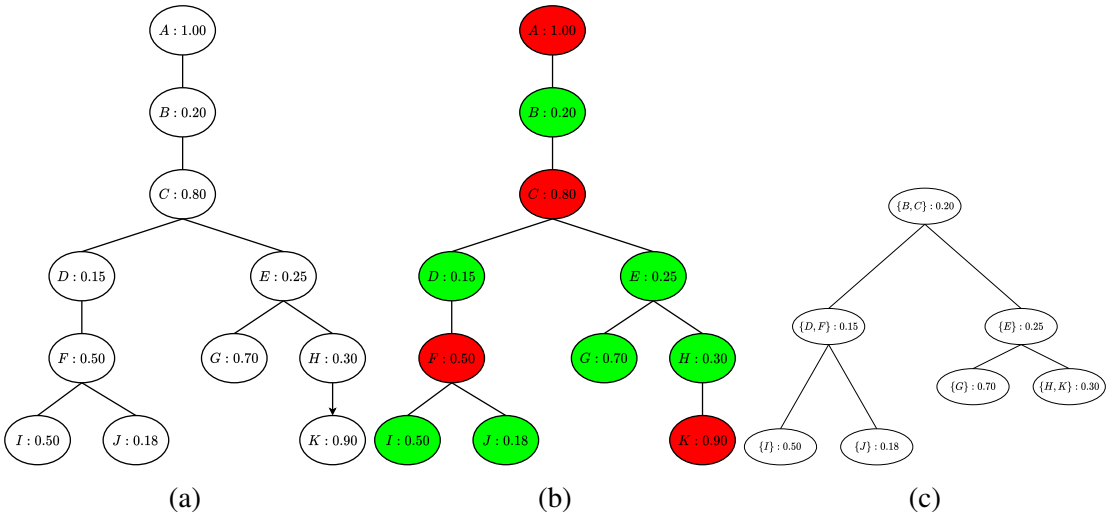


FIGURE 7.1 – Illustration de la procédure de simplification d'un sous-arbre du MSCT. (a) MSCT $G = (V, E)$ avec les stabilités MSER. (b) En vert les nœuds qui sont les minima locaux de branche et en rouge les autres nœuds. (c) MSCT simplifié $G' = (V', E')$.

7.2.3 Le filtrage des nœuds des sous-arbres simplifiés

Une troisième étape a pour objectif la **séparation des clusters intermédiaires** et peut être effectuée en filtrant chaque sous-arbre simplifié issus des nœuds sélectionnés depuis le MSCT. La fonction *ConserverNoeud* (7.1) est récursivement appliquée sur les nœuds de chaque sous-arbre en commençant par leurs racines (ligne 6). Les feuilles des sous-arbres filtrés forment alors les **clusters finaux** qui seront utilisés pour séparer les cellules.

Le fonction *ConserverNoeud* est assez restrictive. En effet, elle conserve un nœud seulement si le nœud en question respecte le **critère de stabilité** mais aussi si tous ses enfants le respectent également. Ce comportement a été défini empiriquement car avec une contrainte plus lâche, certains nœuds produisaient une décomposition trop fine et n'englobaient qu'une partie des régions formant les cellules individuelles.

$$ConserverNoeud(n, v) = \begin{cases} \text{Vrai} & \text{si } MSER(n) \leqslant v \wedge \forall n' \in Enfants(n), \\ & MSER(n') \leqslant v \\ \text{Faux} & \text{sinon} \end{cases} \tag{7.1}$$

7.2.4 La séparation en objets individuels

La quatrième et dernière étape consiste à **segmenter les clusters finaux** en objets individuels. Chaque cluster final $c' \in C'_0$ est traité séparément (lignes 7-11).

Dans un premier temps, le cluster final c' est nettoyé afin de supprimer les **pixels du fond** autour de(s) objet(s) sous-jacent(s) (ligne 8). La présence de ces pixels du fond est un effet secondaire des étapes de sur-échantillonnage/enrichissement (voir la section 3.3.3) et est due à la stratégie maximale des opérations de sous-échantillonnage (voir la section 3.3.1). Les pixels sont supprimés par application d'un filtre gaussien suivi d'un seuillage d'Otsu [166] et d'une opération de remplissage des trous $\mathcal{H}$ (ligne 8).

Dans un second temps, le nombre d'objets individuels à l'intérieur du cluster final c' est estimé en appliquant une opération d'**érosion ultime** sur la zone plate du cluster intermédiaire nettoyé c'' (ligne 9). Les centroïdes issus des composantes connexes de l'érosion ultime sont alors utilisés pour initialiser les bassins d'inondation d'un algorithme de **ligne de partage des eaux** (*watershed*) obtenant ainsi une partition complète du cluster final. L'ensemble de toutes les partitions obtenues par *watershed* sur tous les clusters finaux P est le résultat de segmentation, chaque partition étant une composante connexe représentant un objet individuel segmenté.

7.3 L'amélioration de l'algorithme de segmentation

La difficulté majeure de l'algorithme 8 réside dans l'estimation du nombre d'objets sous-jacents (ligne 9). En effet, les colorants ne se déposent pas de **manière uniforme** dans les différents tissus/cellules. De fait, l'érosion ultime n'est pas une solution satisfaisante car elle a tendance à soit significativement sous-estimer, soit significativement sur-estimer le nombre d'objets sous-jacents.

Nous proposons ici une seconde version de la méthode précédente. La nouvelle méthode décrite par l'algorithme 9, est strictement identique à la précédente en ce qui concerne les trois premières étapes (sélection des nœuds, simplification des sous-arbres, filtrage des sous-arbres). En revanche, elle remplace l'utilisation de l'érosion ultime (algorithme 8, ligne 9) par l'application d'un **modèle d'ajustement d'ellipses** (algorithme 9, ligne 9) et la définition d'une nouvelle transformée en distance euclidienne (algorithme 9, ligne 10).

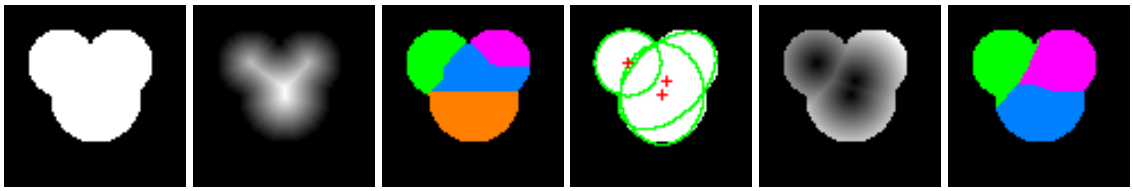
Algorithme 9 : Segmentation cellulaire MSCT version 2

Données : $f : \mathbb{Z}^2 \to \mathbb{N}$ image en niveaux de gris, $G = (V, E)$ MSCT de f,
$MSER_{\max} \in \mathbb{N}$ valeur maximale de MSER lors du filtrage
Résultat : $P = \{P_0, \ldots, P_k\}$ ensemble de partitions partielles de f

1 **début**
2 $P \leftarrow \emptyset$
3 $C_0 \leftarrow SelectionNoeuds(G')$
4 **pour** $c \in C_0$ **faire**
5 $G(c)' \leftarrow Simplifier(G(c))$
6 $C'_0 \leftarrow FiltrageNoeuds(G(c)', Racine(G(c)'), MSER_{\max})$
7 **pour** $c' \in C'_0$ **faire**
8 $c'' \leftarrow \mathcal{H}(Ostu(FiltreGaussien(c')))$
9 $E_{c''} \leftarrow RecalageEllipses(c'')$
10 $d \leftarrow TransformeeDistance(f(c''), E_{c''})$
11 $S \leftarrow Watershed(f, d, E_{c''})$
12 $P \leftarrow P \bigcup S$
13 **fin**
14 **fin**
15 **fin**

Dans un premier temps, pour chaque cluster final nettoyé c'' (ligne 8), on applique la méthode d'**ajustement d'ellipses** *Distance Transform Ellipse Center Method Algorithm* dite DTECMA [281] sur la zone plate de c'' (ligne 9). DTECMA génère un ensemble d'ellipses candidates en appliquant une transformée en distance euclidienne sur une version compressée de l'image, puis cet ensemble est filtré par une méthode de superposition. Ensuite, une méthode d'approximation de polygone est appliquée aux points concaves du contour des régions d'intérêt pour segmenter les contours. Enfin, les ellipses optimales sont choisies parmi les candidats au sein d'un sous-ensemble minimal ayant le meilleur recalage par rapport aux segments extraits.

Dans un second temps, on utilise les centres des ellipses obtenues par la méthode DTECMA. Ces centres définissent le nombre d'objets sous-jacents et leurs positions servent à initialiser un algorithme de **ligne de partage des eaux** (ligne 11). On définit pour cela une nouvelle transformée en distance euclidienne $TransformeeDistance$ (ligne 10). Au lieu de considérer la distance la plus courte d'un pixel au fond, on considère ici la **distance au centre d'ellipse le plus proche**. La figure 7.2 illustre les différences entre le *watershed* utilisé originellement et le nouveau *watershed* avec DTECMA.



(a) (b) (c) (d) (e) (f)

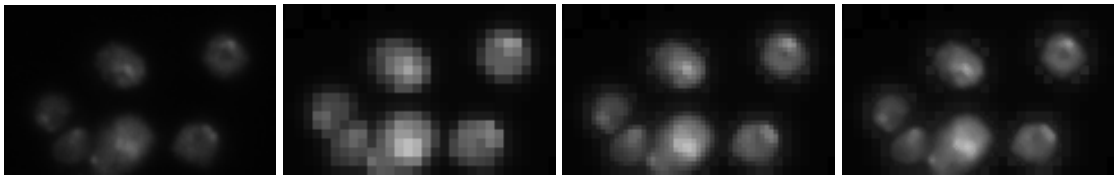
FIGURE 7.2 – Illustration des méthodes de *watershed* (algorithme 8) et *watershed* + *DTECMA* (algorithme 9). (a) image binaire avec trois objets partiellement superposés. (b) Transformée en distance euclidienne classique. (c) *Watershed* initialisé avec (b) utilisé dans l'algorithme 8. (d) Recalage d'ellipses DTECMA et centre des ellipses (croix rouges). (e) Transformée en distance euclidienne modifiée. (f) *Watershed* sur (e) initialisé avec les centres d'ellipses de (d) utilisé dans l'algorithme 9.

7.4 La segmentation cellulaire sur KAGGLE

Le jeu de données **KAGGLE** est utilisé pour évaluer la méthode de segmentation proposée (algorithme 9). Comme indiqué dans la section 4.8.4, seules les images en niveaux de gris contenant des objets clairs sur fond foncé sont utilisées.

Un MSCT est construit en utilisant la procédure définie dans la section 3.3 (algorithme 1). Les paramètres suivants ont été utilisés pour la construction des MSCT. $k = 3$ échelles sont considérées, ce qui signifie que le MSCT effectue deux étapes de sous-échantillonnage et deux étapes d'enrichissement. Les attributs de stabilité MSER sont calculés avec Δ équivalent à 10% de la hauteur du MSCT. La hauteur du MSCT est définie comme étant la profondeur de la plus profonde branche ($\leqslant 256$ pour une image en niveaux de gris). L'aire maximale d'un cluster final ne peut excéder 10% de la surface de l'image (les images étant relativement petites). Les valeurs maximales de stabilité MSER pour la sélection des nœuds (voir la section 7.2.1) et pour le filtrage des nœuds (voir la section 7.2.3) sont fixées à 1.0 qui est le paramètre par défaut.

La reconstruction d'une image depuis le MSCT n'est guère différente de la reconstruction d'une image depuis un arbre des coupes. La figure 7.3 donne un exemple de reconstruction à différentes échelles d'une image de **KAGGLE**. Au total, les n = 547 images du jeu de données **KAGGLE** ont été traitées. Un MSCT a été calculé pour chacune d'entre elles, puis la méthode de segmentation proposée (algorithme 9) a été appliquée et enfin l'image segmentée a été reconstruite.



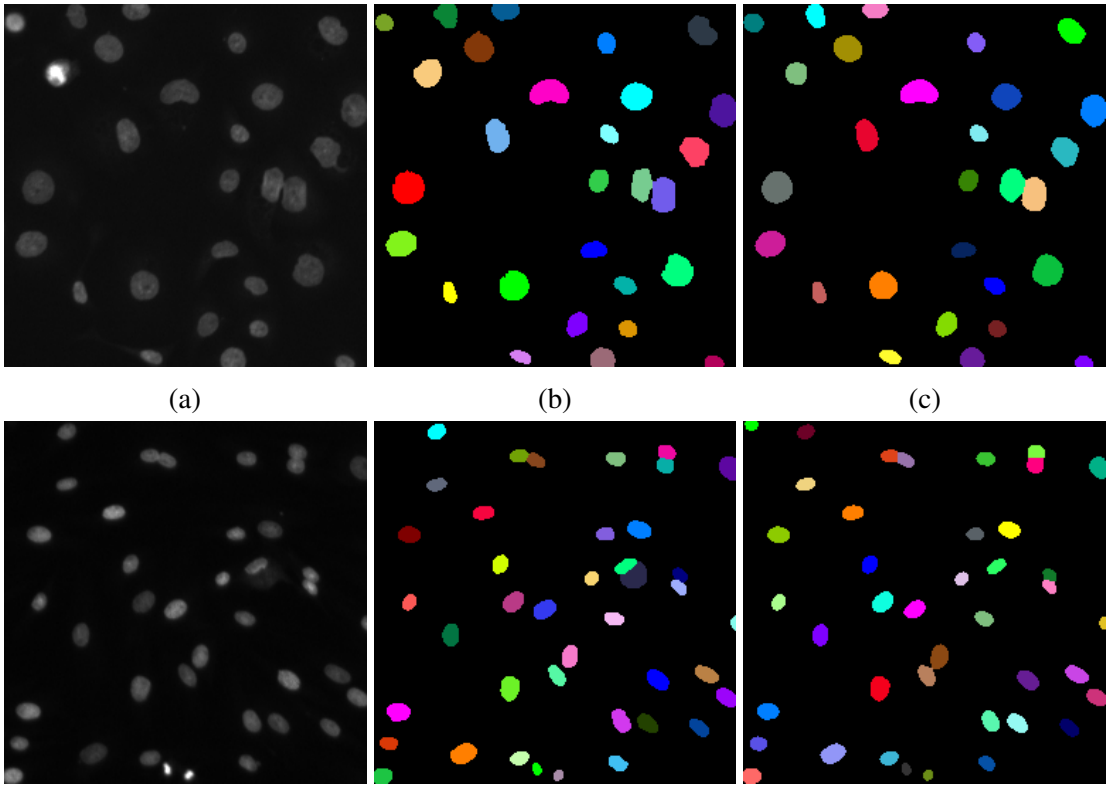
(a) Image (b) Échelle $\frac{1}{16}$ (c) Échelle $\frac{1}{4}$ (d) Échelle $\frac{1}{1}$

FIGURE 7.3 – Illustration de reconstructions à partir du MSCT. (a) Image de **KAGGLE**. (b-d) Images reconstruites à différentes échelles de sous-échantillonnage. Un filtre médian a été appliqué sur (a), raison pour laquelle les images (a) et (d) ne sont pas identiques.

La figure 7.4 montre des exemples de segmentation obtenues à partir du MSCT sur des images de **KAGGLE**. Kaggle utilise la métrique d'*intersection sur union* (*intersection over union* ou IoU en anglais) avec des seuils entre 0.50 et 0.95 pour évaluer les performances des algorithmes de segmentation [1]. Une prédiction est jugée comme *vrai positif* si le score IoU de son masque de segmentation avec le masque de vérité terrain est au moins égal au seuil considéré.

La figure 7.5 montre la courbe des scores IoU, c'est-à-dire de la précision en fonction du seuil ([0.5, 0.95]). Le score global est la moyenne des scores pris sur les points de la courbe (à des intervales de 0.05) et est égal à 0.465. On peut y remarquer un score moins élevé que les meilleures méthodes [2] qui sont des méthodes par réseaux convolutifs. La grande variabilité des méthodes d'acquisition et des tailles de cellules pose des difficultés majeures quant à la détermination des paramètres optimaux du MSCT. En fonction desdits paramètres et de l'image considérée, la méthode produit fréquemment soit une sous-segmentation, soit une sur-segmentation.

1. https://www.kaggle.com/c/data-science-bowl-2018/overview
2. https://www.kaggle.com/c/data-science-bowl-2018/leaderboard



(a) (b) (c)

(d) (e) (f)

FIGURE 7.4 – Illustration de segmentations MSCT sur **KAGGLE**. (a,d) Images de **KAGGLE**. (b,e) Vérités terrain. (c,f) Segmentations MSCT.

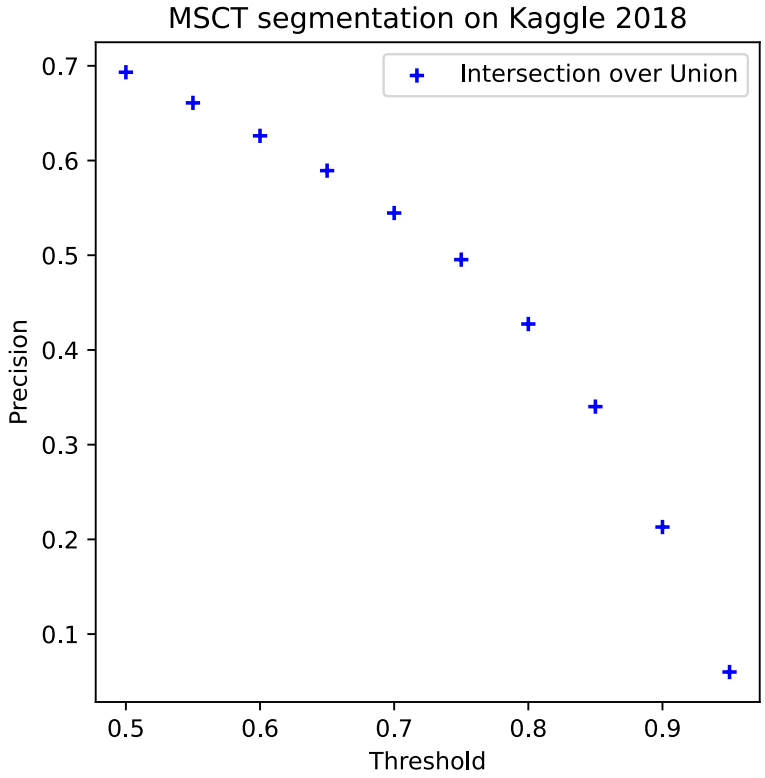


FIGURE 7.5 – Illustration des scores de segmentation IoU sur **KAGGLE**.

7.5 Conclusion

L'arbre des coupes multi-échelles de par sa nature morphologique, hiérarchique et multi-échelles, offre une représentation de l'image facile à manipuler et permet de mettre en place des méthodes de segmentation en filtrant l'arbre. Bien que les résultats obtenus sur le jeu de données **KAGGLE** ne soient pas au niveau des méthodes *state of the art*, on peut s'attendre à de meilleures performances sur un jeu de données **plus homogène** en terme de tailles et de types d'objets. Cependant, l'**absence de supervision** et la possibilité d'analyse multi-échelles offertes par le MSCT lui donne de sérieux avantages sur les méthodes susnommées.

Cela nous encourage à poursuivre ces travaux concernant la segmentation d'images en appliquant le MSCT à des **images histologiques *multiplex***. Le chapitre 8 propose une méthode d'analyse d'images histologiques *multiplex* en utilisant le MSCT pour segmenter les cellules et celui-ci est ensuite enrichi par la définition de **vecteurs de caractéristiques**.

Chapitre 8

La segmentation et la classification d'images histologiques multiplex à partir du MSCT

8.1 Motivations

Encouragés par la capacité de l'arbre des coupes multi-échelles à segmenter des cellules (voir le chapitre 7) sur des images histologiques classiques (immunohistochimie et/ou immunofluorescence) ainsi que l'incapacité du modèle ColorAE-UNet à traiter efficacement des images histologiques *multiplex* (voir le chapitre 6), nous proposons une **nouvelle méthode de traitement des images *multiplex***.

La méthode proposée vise à tirer parti des **canaux sémantiques** des images *multiplex* (voir la section 4.4.5) en construisant un MSCT sur le **canal cellulaire générique** et en enrichissant l'arbre avec les **données sémantiques** présentes dans les autres canaux afin de définir des **vecteurs de caractérisques**. Ces vecteurs sont ensuite utilisés pour effectuer une **classification** des cellules segmentées à l'aide du MSCT.

Le chapitre est organisé ainsi. La section 8.2 décrit le processus de segmentation des cellules. La section 8.3 décrit la construction des vecteurs de caractéristiques pour enrichir les MSCT avec les images *multiplex*. La section 8.4 décrit l'utilisation des vecteurs de caractéristiques pour mettre en place une classification des cellules. La section 8.5 présente les résultats de segmentation et de classification des cellules sur le jeu de données **MI*EDGE**. Enfin, la section 8.6 donne quelques perspectives et conclusions.

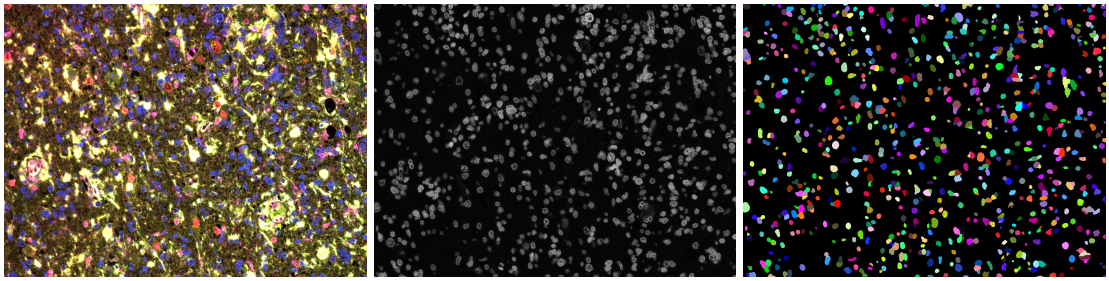
8.2 La segmentation cellulaire

Le MSCT a, jusqu'à présent, été défini sur des images en niveaux de gris. Afin de traiter les images *multiplex*, on étend le concept de MSCT aux images multispectrales. Une image multispectrale 2D comportant k canaux est dénotée par la fonction $f : \mathbb{Z}^2 \to V^k$. Le MSCT est construit sur le canal *DAPI* qui correspond au premier canal (f^0) dans les images de **MI*EDGE**. La méthode de construction utilisée est celle décrite dans la section 3.3.

Les modifications suivantes lui ont été apportées. Avant la première opération de sous-échantillonnage (voir la section 3.3.1), une étape d'**amélioration de contraste** est appliquée pour permettre au MSCT de mieux prendre en compte les régions faiblement contrastées de l'image lors du processus de sélection des nœuds (voir la section 3.3.4) et du processus d'enrichissement subséquent (voir la section 3.3.3). On applique la méthode dite *contrast limited adaptive histogram equalization* (CLAHE) [282] sur le canal *DAPI*.

Une fois le MSCT complètement enrichi, un ensemble de nœuds est sélectionné en **minimisant un critère de stabilité** basé sur les MSER tel que décrit dans la section 3.3.4. Les zones plates de ces nœuds peuvent être amenées à contenir plusieurs objets se touchant ou étant partiellement superposés. Pour chaque zone plate $n_i \in N$, le nombre d'objets (les noyaux de cellules) sous-jacents est estimé à l'aide d'un modèle d'**ajustement d'ellipses** dans la mesure où les noyaux ont tendance à avoir la forme d'ellipses (voir la section 7.3).

Les centres des ellipses trop proches les uns des autres sont fusionnés et remplacés par un nouveau centre qui est le centre de masse des anciens centres (trop proches) fusionnés. Ces centres d'ellipses sont alors utilisés pour initialiser un algorithme de **ligne de partage des eaux**. Une nouvelle transformée en distance euclidienne est utilisée car les centres d'ellipses ne correspondent pas nécessairement au pics locaux de la transformée usuelle. La nouvelle transformée est définie sur un ensemble de centres d'ellipses E_{n_i} et une composante connexe $d_c(p) = \min\{\|p - e\|_2 \mid e \in E_{n_i}, p \in CC_{n_i}\}$. Les partitions de n_i forment les noyaux segmentés S sous la forme de composantes connexes. La figure 8.1 montre un exemple de segmentation sur le canal *DAPI* d'une image de **MI*EDGE**.



(a) (b) (c)

FIGURE 8.1 – Illustration de segmentation MSCT sur **MI*EDGE**. (a) Image de **MI*EDGE**. (b) Canal *DAPI* de (a). (c) Segmentation à partir du MSCT de (b).

8.3 La construction de vecteurs de caractéristiques

Sur chaque noyau segmenté $s_i \in S$, des **caractéristiques** peuvent être calculées afin de mieux qualifier la nature de l'objet cellulaire sous-jacent. À cet égard, on utilise désormais les **autres canaux sémantiques** qui jusque là n'avaient pas été exploités. Chacun de ces canaux est associé à un **biomarqueur spécifique** et possède une signification bien précise (cellule tumorale, immunitaire, lymphocyte...). Étant donné que l'on dispose d'une segmentation en cellules individuelles et que les canaux sont tous alignés aux mêmes coordonnées dans le tissu original, on propose de tirer parti de ces masques de noyaux pour calculer des caractéristiques en leur sein, sur les autres canaux.

On considère s_i comme un masque de segmentation et on le projette sur le reste (des canaux f^i) de l'image f. La figure 8.2 illustre le concept des masques formés par les segmentations du MSCT. Soit f une image multispectrale à k canaux. f^i est le i^{e} canal de f et $f^i(p)$ désigne la valeur du pixels p dans le i^{e} canal. Un **vecteur de caractéristiques** (*feature vector* en anglais) c_i est calculé pour s_i en sommant les valeurs de pixels dans chaque canal (autre que *DAPI*) pour tous les pixels appartenant au masque s_i :

$$c_i = \left[\sum_p f^j(p) \mid p \in s_i \right]_{j=1}^{k} \tag{8.1}$$

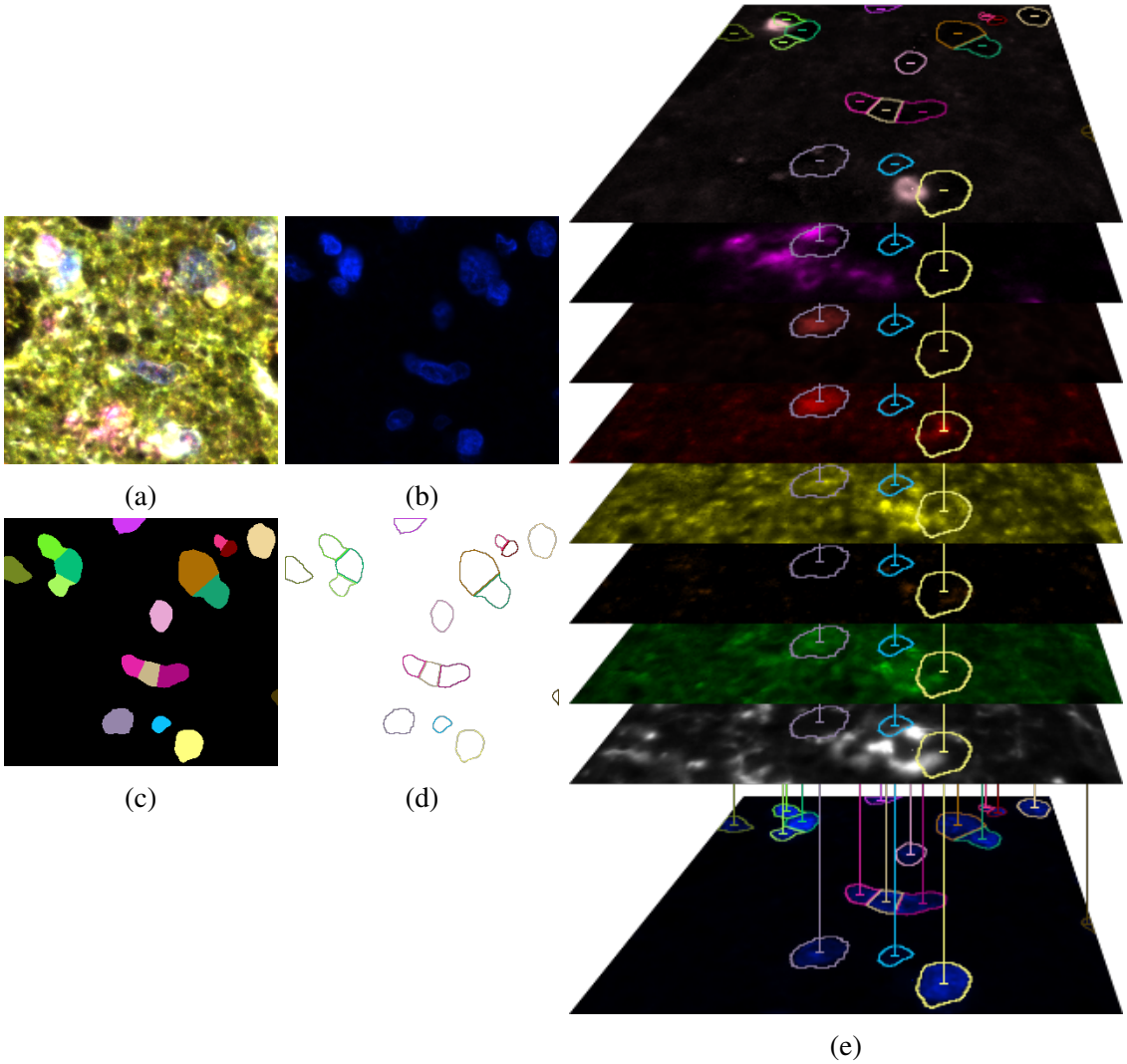


FIGURE 8.2 – Illustration des masques de segmentation du canal *DAPI*. (a) Image composite de **MI*EDGE**. (b) Canal *DAPI* de (a). (c) Segmentation à partir du MSCT de (b). (d) Contour du masque de (c) à projeter. (e) Principe de projection des masques sur les autres canaux.

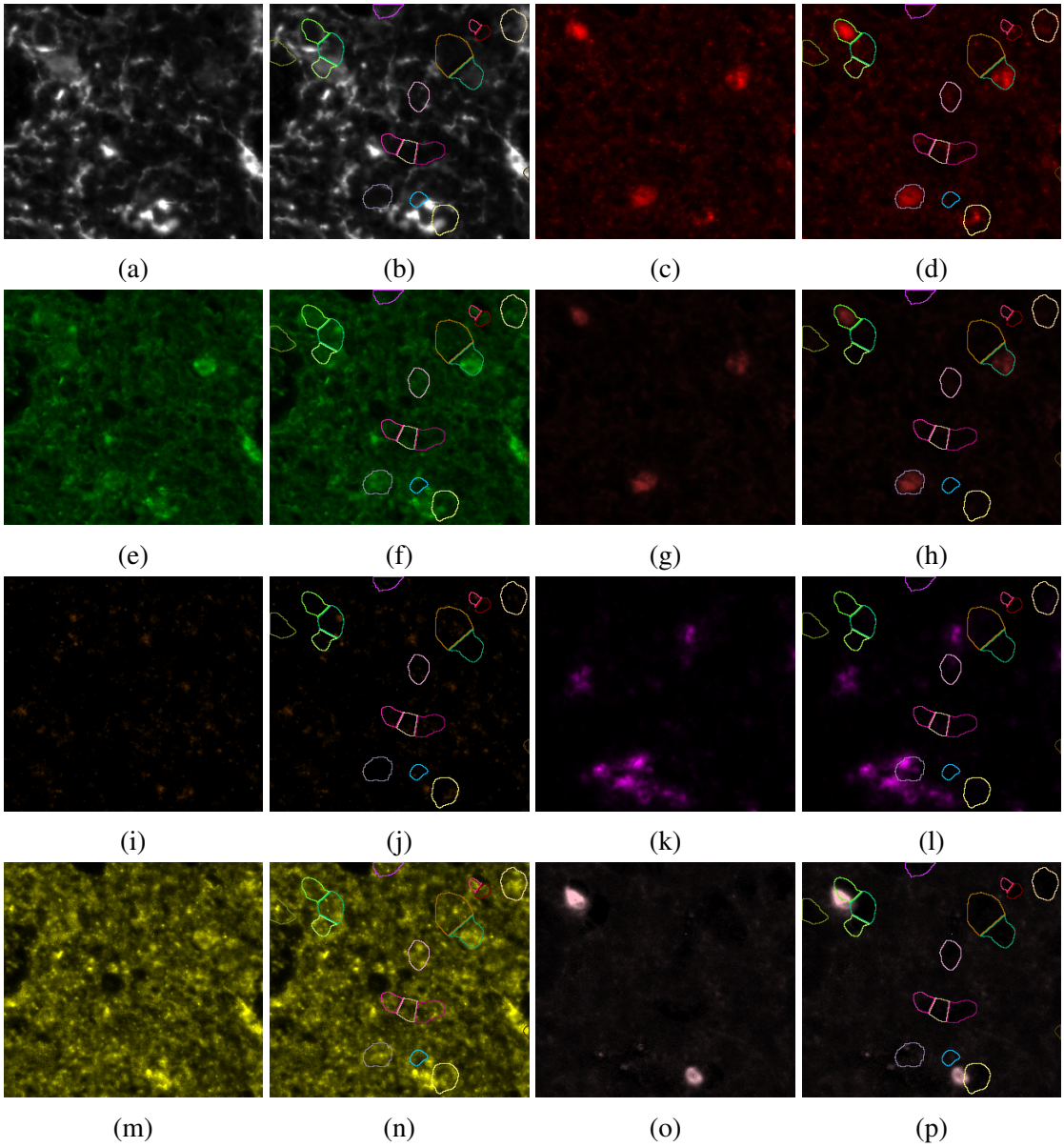


FIGURE 8.3 – Illustration des projections des masques de segmentation sur les canaux des images de **MI*EDGE**. (a,c,e,g,i,k,m,o) Canaux de l'image sur la figure 8.2. (b,d,f,h,j,l,n,p) Masque de segmentation du canal *DAPI* projetés sur les canaux respectifs.

8.4 La classification des cellules

Les vecteurs de caractéristiques construits sur chaque image, pour chaque cellule segmentée, viennent **enrichir la caractérisation des cellules**. On peut désormais intégrer les vecteurs de caractéristiques dans le(s) nœud(s) du MSCT correspondant au(x) cellule(s) segmentée(s).

On propose d'utiliser ces vecteurs seuls pour tenter de **classifier les cellules** segmentées en accord avec les différents canaux sémantiques des images multiplex et leurs biomarqueurs associés. Pour ce faire, les vecteurs à $k-1$ valeurs (l'image ayant k canaux) peuvent être réduits en utilisant l'analyse en composantes principales (ACP) et ainsi les ramener aux deux composantes principales. Un clustering peut alors être appliqué sur ces projections 2D et obtenir une prédiciton de classe en fonction de caractéristiques communes qui seraient suffisamment représentées au sein desdits vecteurs.

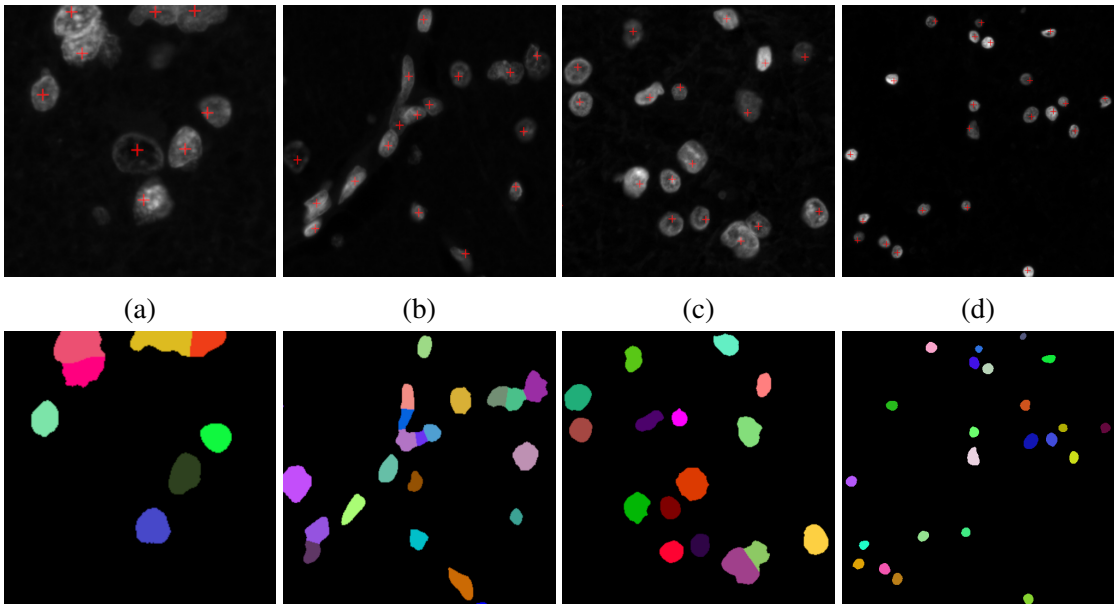
8.5 La segmentation et la classification des noyaux sur le jeu de données MI*EDGE

8.5.1 Les résultats de segmentation

Au total, les n = 62 images ($1396 \times 1860 \times 9$ pixels) multispectrales du jeu de données **MI*EDGE** (voir la section 4.8.3) ont été segmentées. Les paramètres du MSCT suivants ont été utilisés. Un nombre de $k = 3$ échelles d'images c'est-à-dire deux étapes de sous-échantillonnage (voir la section 3.3.1) et d'enrichissement (voir la section 3.3.3) sont utilisées. Les attributs de stabilité MSER ont pour valeur 10% de la hauteur du MSCT, la hauteur étant la profondeur de la branche la plus profonde ($\leqslant$ 256 pour une image en niveaux de gris). La stabilité MSER maximale lors des étapes d'enrichissement et de segmentation a été fixée à 1.0. L'aire maximale des zones plates lors de l'étape d'enrichissement a été fixée à 0.20% de la surface de l'image (soit 5 193 pixels) et à 0.15% de cette même surface (soit 3 895 pixels) pour la phase de segmentation. L'aire minimale des cellules segmentées a été fixée à 100 pixels, les objets plus petits ne sont pas considérés.

Au total, 24 296 annotations ponctuelles contenant un label assignant une classe aux cellules correspondantes ont été utilisées pour évaluer la qualité de la segmentation MSCT. Sur les n = 62 images, il y a eu un total de 18 494 cellules estampillées *vrai positif*, 6 457 cellules estampillées *faux positif* et 5 802 cellules estampillées *faux négatif*. La **précision**

est égale à 0.741 et le **rappel** à 0.761. La figure 8.4 donne des exemples de segmentations obtenues.



(a) (b) (c) (d)

(e) (f) (g) (h)

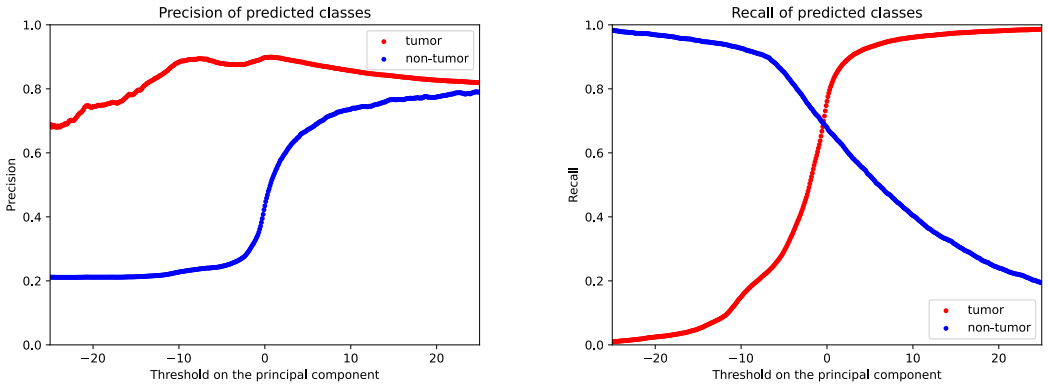
FIGURE 8.4 – Illustration des segmentations du canal *DAPI* de **MI*EDGE** avec vérités terrain. (a-d) Canal *DAPI* de quatre patches de 500×500 pixels issus d'images de **MI*EDGE** avec les annotations ponctuelles (croix rouges). (e-h) Segmentation obtenues à partir du MSCT avec chaque masque dans une couleur donnée.

8.5.2 Les résultats de classification

La méthodologie décrite dans la section 8.4 a été appliquée après avoir préalablement segmenté les images pour en extraire des masques de cellules. Un vecteur de caractéristiques composé de $k-1=8$ caractéristiques a été construit pour chaque cellule segmentée par le MSCT en projetant les masques sur les 8 canaux sémantiques (*GFAP*, *MS4A4A*, *CD3*, *IDH1*, *CD206*, *ATRX*, *CD68* et *CD34*). Les vecteurs ont alors été réduits en 2D par ACP. En l'état, ces vecteurs n'ont pas permis d'effectuer une **classification multi-classes** en 8 classes de cellules. En effet, plusieurs classes de cellules se superposaient et rendait leur séparation impossible avec les vecteurs calculés.

En revanche, il y a une séparation significative qui s'est dessinée entre deux clusters. Les n = 24 296 labels des annotations ponctuelles ont été utilisés pour vérifier quelles cellules composaient chaque cluster et s'il était possible d'en tirer une quelconque information. Nous avons pu observer que cette séparation en deux classes correspond généralement à la différence entre les cellules **tumorales** et les autres cellules (donc **non tumorales**).

Les vecteurs de caractéristiques ainsi construits sont capables d'implémenter un **classifieur binaire** permettant de prédire la nature tumorale ou non d'une cellule à partir de son vecteur. En faisant varier le seuil (valeur dans la première composante en ACP) décidant de la séparation entre les deux classes, nous avons pu évaluer les performances du classifieur. La figure 8.5 illustre les courbes de la précision et du rappel des classes de cellules **tumorales** et **non tumorales** en fonction du seuil choisi sur la composante principale des vecteurs de caractéristiques réduits en 2D. On remarque que les meilleures performances, en tenant compte à la fois de la précision et du rappel, sont obtenues pour un seuil aux alentours de 0. Ces travaux sur l'application du MSCT ont fait l'objet d'une publication à la conférence **ISBI 2024** [184] et ont également été présentés à la conférence **IABM 2024** [182].



(a) (b)

FIGURE 8.5 – Illustration des performances de classification binaire des cellules de **MI*EDGE** à partir des vecteurs de caractéristiques. (a) Précision des classes de cellules **tumorales** et **non tumorales** en fonction du seuil ACP choisi. (b) Rappel des classes de cellules **tumorales** et **non tumorales** en fonction du seuil ACP choisi.

8.6 Conclusion

Nous avons montré que l'arbre des coupes multi-échelles couplé à une nouvelle méthodologie est à même de fournir un **outil fiable et robuste de segmentation cellulaire** sur des images contenant des biomarquages de type *multiplexing*. Le MSCT permet de rendre plus abordable l'analyse automatique de ces images riches et complexes tout en apportant une base morphologique **facilement interprétable** et proche du travail effectué par un pathologiste et ne nécessitant pas de supervision et de fait pas d'annotations expertes. Il offre donc une alternative sérieuse aux méthodes d'apprentissage profond.

Il convient néanmoins de noter que les vecteurs de caractéristiques définis et construits sur le jeu de données **MI*EDGE** possèdent un pouvoir expressif insuffisant pour pleinement caractériser les cellules qu'ils représentent. Bien qu'ils aient été suffisants pour mettre en place un **classifieur binaire**, il semble pertinent de remarquer qu'en enrichissant lesdits vecteurs avec d'**autres caractéristiques** (des *hand-crafted features*) morphologiques et/ou topologiques cette fois-ci, il seraient désormais assez riches pour permettre la définition d'un **classifieur multi-classes**. Des attributs tels que l'aire, la longueur du contour, la circularité, la complexité ou encore la densité optique moyenne seraient des ajouts appropriés.

Le MSCT ayant démontré ses capacités à **segmenter et classifier** (moyennant certains ajustements) des cellules dans un contexte d'imagerie histologique *multiplex*, il semblerait judicieux d'aller plus loin en proposant son utilisation au sein d'une méthode visant à **caractériser le micro-environnement tumoral** (MET) (voir la section 4.5). De fait, la segmentation de cellules et leur classification étant les deux tâches requises pour disposer des éléments nécessaires à l'exploration du MET (voir la section 4.6 et 4.7), il serait pertinent de proposer une construction de **graphe représentatif du MET** à partir du MSCT.

Chapitre 9

La définition d'un graphe du MET à partir du MSCT

9.1 Motivations

En s'inspirant des travaux existants cités précédemment (voir la section 4.7) et des travaux applicatifs décrits dans les chapitres précédents (voir les chapitres 5 à 8), nous proposons de construire un **graphe caractérisant le micro-environnement tumoral à partir d'images histopathologiques *multiplex***.

9.2 La construction du graphe du MET

9.2.1 La segmentation des noyaux

Le MSCT [183] peut être utilisé dans le processus *classique* (au sens de celui décrit dans le chapitre 7) en remplacement des modèles de réseaux neuronaux convolutifs (CNN). En effet, le MSCT a pour intérêt principal qu'il ne **requiert pas de forme de supervision**. Ceci est particulièrement intéressant sachant que la définition de telles annotations est un travail complexe, fastidieux, et peu précis s'il s'agit de définir les contours exacts des noyaux. Le MSCT est applicable directement sur l'image, du moins tant que l'un des canaux de l'image multiplex contient un **marquage générique des noyaux** de cellules.

Un autre bénéfice de l'utilisation du MSCT réside dans les **propriétés mathématiques intrinsèques** de la morphologie mathématique (voir le Chapitre 1 sur les propriétés basiques et le Chapitre 2 sur les structures hiérarchiques) liées à sa nature morphologique (voir le Chapitre 3). Enfin un dernier bénéfice est que le MSCT offre une **représentation efficace des images**.

9.2.2 La classification des noyaux

Une fois les noyaux segmentés, ceux-ci peuvent être **classifiés** en s'inspirant du travail présenté à IABM [182] et à ISBI [184] (voir le chapitre 8). Les canaux sémantiques restants peuvent être utilisés en projetant les noyaux segmentés depuis le MSCT en formant un **vecteur de caractéristiques** (ou *feature vector* en anglais). Un vecteur plus complexe que celui présenté dans ce travail est nécessaire pour capturer la richesse de l'information contenue dans ces images. D'autres attributs géométriques, morphologiques et spectraux devraient être ajoutés afin d'enrichir le vecteur. Par exemple l'aire des noyaux, le périmètre du contour de ceux-ci, la longueur de l'axe principal et secondaire (directions principales de l'ACP) ou encore des attributs de circularité, d'excentricité ou de densité optique au sein des noyaux.

9.2.3 La construction du graphe

La construction d'un graphe peut s'effectuer au moyen d'une **métrique** permettant de mettre en relation les objets cellulaires segmentés. Plusieurs stratégies ont été mises en place par le passé : k-voisinage, critère de distance euclidienne, triangulation de Delaunay [59] ou même calcul d'arbre couvrant minimum (*minimum spanning tree* ou MST en anglais).

Le k-voisinage Le k-voisinage consiste à choisir une valeur $k > 0$. Pour chaque nœud $N \in V$, tous les nœuds $N' \in V, N' \neq N$ sont classés par ordre croissant de distance euclidienne avec N et les k premiers (plus proches) nœuds sont connectés à N. Formellement, $(N, N') \in E \iff \nexists N'' \in V, \deg(N) \leq k \wedge d_{(N,N'')} < d_{(N,N')}$. Cette approche a pour intérêt principal que l'on peut **contrôler le nombre d'arêtes du graphe**. En revanche, on ne fait pas de supposition quant à la **distance maximale** reliant deux cellules et deux cellules se trouvant dans des zones peu denses de l'image peuvent se retrouver connectées (car le nombre de liens est inférieur à k) malgré une distance élevée. À l'inverse, deux cellules peuvent se retrouver déconnectées malgré une grande proximité si elles se trouvent dans une **zone fortement dense** de l'image car le nombre de liens excède k.

La distance euclidienne L'utilisation d'une distance euclidienne ne cherche pas à limiter le nombre d'arêtes du graphe et ne se base que sur la **disposition spatiale** des objets (cellules). Pour chaque nœud $N \in V$, tous les nœuds $N' \in V, N' \neq N$ sont connectés à N si la distance euclidienne entre eux est inférieure à une valeur $v > 0$ donnée. Ainsi, $(N, N') \in E \iff d_{(N,N')\leqslant v}$. Cette approche est **très naturelle** du point de vue biologique. En effet, les cellules peuvent interagir entre elles si la distance est suffisamment faible. L'inconvenient de cette approche est que le nombre d'arêtes engendrées peut être **très élevé** pour une image comportant un nombre important de régions denses en cellules.

La triangulation de Delaunay La triangulation de Delaunay [59] offre une alternative aux deux méthodes précédentes. Elle ne limite pas le degré des nœuds à une valeur fixe comme le k-voisinage et **crée moins d'arêtes** dans les zones denses qu'une distance euclidienne. La triangulation de Delaunay produit exactement $2 \times |V| - 2 - b$ triangles en 2D avec b le nombre de points dans l'enveloppe convexe des points. En revanche, elle peut connecter des cellules trop éloignées au sens de la distance euclidienne ou du k-voisinage ce qui la rend **moins naturelle** sur le plan biologique.

Une proposition multi-échelles Une approche plus proche de celle des pathologistes serait de ne pas calculer un unique graphe à une échelle donnée, celle correspondant à la résolution de l'image, mais de créer **plusieurs graphes à différentes échelles**. Cette approche ressemble à celle du HACT-graphe de Pati *et al.* [176] mais considèrerait plus qu'un graphe tissulaire (niveau macro) et un graphe cellulaire (niveau micro). Le MSCT (voir le chapitre 3) est déjà une **représentation doublement multi-échelles** (des objets et des pixels). Les nœuds formés des cellules segmentées (section 9.2.1) peuvent être liés aux nœuds du MSCT dont ils sont issus. Ainsi on **connecte la hiérarchie du MSCT aux nœuds du graphe du MET**.

Les RCC8 Dans un second temps, on peut connecter les nœuds du MET par leurs relations spatiales [33]. Une méthode de qualification des relations est celle offerte par le **calcul de connexion régionale 8** (*region connection calculus 8* ou RCC8 en anglais) [49]. Les RCC8 sont définis à partir d'un opérateur de connexion primitif C dont la définition est libre tant que l'opérateur est réflexif et symétrique [49]. Les relations sont définies ainsi :

- $DC(A, B) \equiv \neg C(A, B)$ ($DC = DisConnected$)
- $P(A, B) \equiv \forall Z[C(Z, A) \rightarrow C(Z, B)]$ ($P = Part$)
- $O(A, B) \equiv \exists Z[P(Z, X) \wedge (Z, Y)]$ ($O = Overlap$)
- $EC(A, B) \equiv C(A, B) \wedge \neg O(A, B)$ ($EC = Externally\ Connected$)
- $PO(A, B) \equiv O(A, B) \wedge \neg P(A, B) \wedge \neg P(B, A)$ ($PO = Partial\ Overlap$)
- $PP(A, B) \equiv P(A, B) \wedge \neg P(B, A)$ ($PP = Proper\ Part$)
- $TPP(A, B) \equiv PP(A, B) \wedge \exists Z[EC(Z, A) \wedge EC(Z, B)]$ ($TPP = Tangential\ Proper\ Part$)
- $NTPP(A, B) \equiv PP(A, B) \wedge \nexists Z[EC(Z, A) \wedge EC(Z, Y)]$ ($NTPP = NonTangential\ Proper\ Part$)
- $EQ(A, B) \equiv P(A, B) \wedge P(B, A)$ ($EQ = EQuivalent$)

Les RCC8 incluent les relations DC, EC, PO, TPP et son inverse $TPPi$, $NTTP$ et son inverse $NTPPi$ et EQ. La figure 9.1 illustre les huit liaisons de connexions possibles entre deux objets en utilisant les RCC8.

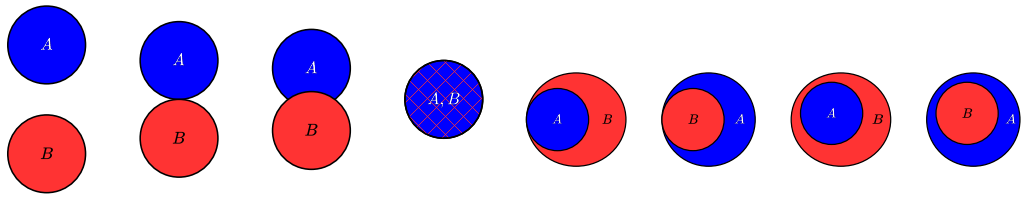
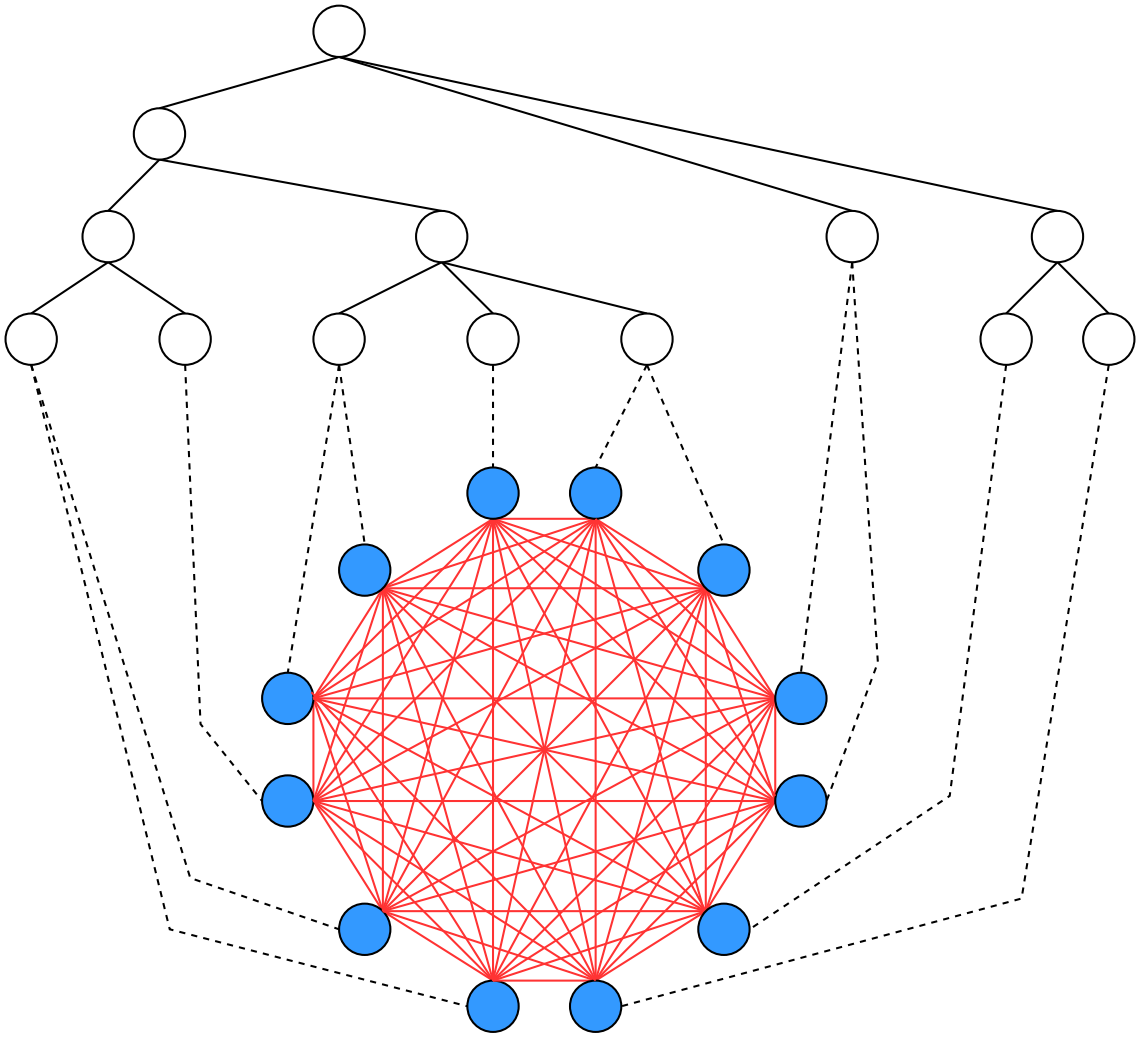


FIGURE 9.1 – Illustration des RCC8. (a) $A\ DC\ B$. (b) $A\ EC\ B$. (c) $A\ PO\ B$. (d) $A\ EQ\ B$. (c) $A\ TPP\ B$. (f) $A\ TPPi\ B$. (g) $A\ NTPP\ B$. (h) $A\ NTPPi\ B$.

Les types d'arêtes Les arêtes ainsi créees peuvent être **enrichies par un attribut de distance** correspondant à la distance euclidienne entre les deux centres des noyaux. De plus les RCC8 offrant **huit types de relations spatiales**, les arêtes peuvent se voir attribuer une **classe** correspondant à ces types de relation. De fait, les arêtes peuvent contenir **trois informations** : la distance entre les deux centres des noyaux des cellules (nœuds) aux extrémités, le type de relation spatiale RCC8 entre ces deux cellules et le type de cellule déterminé par classification (voir la section 9.2.2). La figure 9.2 illustre le principe du graphe proposé.



(a)

FIGURE 9.2 – Illustration du graphe du MET proposé. Le MSCT est représenté par les arêtes pleines (noir), les cellules par les nœuds bleus et les arêtes de type RCC8 en rouge.

9.3 Discussion

L'analyse du graphe passera probablement par l'utilisation d'un GNN, d'un GCN ou encore d'un GAT. Il semble que les GCN soient plus adaptés à traiter la richesse d'information présente dans le graphe. Le passage de message (attributs) entre nœuds devrait être influencé par la **distance** (attribut d'arête), le **type de relation** (RCC8) et la **nature des cellules** aux extrémités (classe).

L'avantage de la mise en place des RCC8 est que certaines structures biologiques présentes dans le MET peuvent être **identifiables par le type de relation** encodé dans les arêtes. Par exemple, les objets lymphoïdes tertiaires (*tumor infiltrating lymphocytes* ou TIL en anglais) correspondent à des noyaux de cellules classifiés immunitaires et qui **infiltrent** les cellules cancéreuses. Ainsi, la relation TIL entre deux nœuds A et B est qualifiée par $\exists(A,B) \in E, RCC8((A,B)) = \{TPP, TPPi, NTPP, NTPPi\}$. Les objets lymphoïdes tertiaires (*tertiary lymphoid objects* ou TLO en anglais) peuvent être caractérisés par un **cluster de cellules** de type lymphocytes et dont les arêtes ont une **distance euclidienne faible** (formation dense de cellules lymphocytaires).

9.4 Conclusion

La représentation sous forme de graphe du micro-environnement tumoral fait l'objet de **recherches actives** et tout laisse à penser que l'exploitation de ces représentations graphiques peut apporter une meilleure compréhension des interactions cellulaires au sein de cet environnement complexe. L'un des freins à l'exploitation des images fortement multiplexées est la **difficulté d'obtenir des annotations** et d'appliquer des modèles sur des données plus riches.

Cette contrainte pourrait être (partiellement) levée avec l'introduction très récente par Lems *et al.* [120] d'un modèle permettant d'effectuer une déconvolution des couleurs directement sur des images multiplex après entraînement sur des images H&E classiques. Concernant les graphes du H&E, on peut penser que les méthodes offertes par la morphologie mathématique peuvent apporter leur pierre à l'édifice car elles ne **souffrent pas de la nature *boîte noire*** des CNN et ne **nécessitent pas d'annotation**.

Conclusion générale

Apports scientifiques

Au cours de cette thèse, nous avons développé un outil **morphologique**, **hiérarchique** et **multi-échelles** permettant de traiter des images, illustré spécifiquement avec des images histologiques mais applicable sur toute image en niveaux de gris, ainsi qu'une **nouvelle approche** permettant d'appréhender la nature complexe des **images histologiques *multiplex***.

La définition du MSCT Nous avons développé une nouvelle structure morphologique, hiérarchique et multi-échelles s'inspirant de l'arbre des coupes (chapitre 3). Cette nouvelle structure, nommée **arbre des coupes multi-échelles** ou MSCT en plus de proposer une hiérarchie de partitions partielles d'une image permettant son analyse multi-échelles, intègre également une **décomposition multi-échelles sur le plan spatial** en proposant des zones plates contenant des pixels à différentes échelles [183]. Nous avons proposé une méthode de construction du MSCT à partir d'une image en niveaux de gris basée sur un processus de **sous-échantillonnage** et un processus d'**enrichissement itératif** des nœuds de l'arbre (sélection des nœuds, calcul de hiérarchies locales, fusion des hiérarchies).

La définition d'un immunoscore Nous avons développé un **score immunitaire morphologique** permettant de caractériser l'infiltrat d'un tissu sur une lame histologique par une **méthode quantitative** par opposition aux méthodes semi-quantitatives qui font toujours partie du processus de routine (chapitre 5). Cet immunoscore morphologique se base sur une première étape de **déconvolution des couleurs**, suivie d'une opération de **filtrage morphologique** du signal nucléique. Dans un second temps, les composantes connexes du signal filtré sont comparées à une cellule de référence et une **estimation de quantification** est réalisée pour chacune d'entre elles. En parallèle, la **surface totale du tissu** étudié est estimée à l'aide de QuPath [15]. Enfin, le score final est formé du ratio entre la somme des quantifications des composantes connexes et la surface totale du tissu. Cet immunoscore

a été utilisé pour comparer deux cohortes locales de patients ayant été traités par deux types de chimiothérapies et pour caractériser l'infiltrat immunitaire dans le contexte du cancer du pancréas (chapitre 5). Ces travaux ont été réalisés en collaboration avec le département de pathologie des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (remerciements au Dr Gerlinde Lang-Avérous ainsi qu'à Sylvain Mayeur et Arthur Bénédic) et débutés lors de mon emploi précédent au sein du Cancéropôle-Est (remerciements à Florence Schaffner) et devraient être publiés prochainement.

Le modèle ColorAE-UNet Nous avons exploré des stratégies d'entraînement sur un modèle de **segmentation d'images *multiplex*** (ColorAE-UNet [2, 68]). Nous avons appliqué ce modèle à des données fortement multiplex (chapitre 6) et montré les limites d'une telle approche. Le modèle éprouve des **difficultés à généraliser** sur un type de multiplexing produisant des images moins nettes, et dont la méthode d'acquisition est moins précise.

La segmentation et la classification cellulaire Nous avons proposé une **nouvelle méthode de segmentation d'objets d'intérêt** à partir de l'arbre des coupes multi-échelles d'une image en niveaux de gris [183, 182, 184]. La méthode sélectionne les nœuds du MSCT sur le même principe que lors de l'étape d'enrichissement pendant sa construction et tente de séparer les objets sous-jacents à l'aide d'un algorithme de ligne de partage des eaux (chapitre 7). Nous avons également proposé une **nouvelle manière d'aborder les images histologiques fortement *multiplex*** *via* l'utilisation du MSCT [182, 184]. Contrairement aux méthodes d'apprentissage profond qui utilisent l'image contenant tous les canaux sémantiques fusionnés, nous construisons un MSCT sur le canal contenant le contre-colorant marquant toutes les cellules. À partir du MSCT, nous avons défini des **vecteurs de caractéristiques** en agglomérant les valeurs présentes dans les autres canaux sémantiques au sein des zones plates segmentées depuis le MSCT (chapitre 8). Ces vecteurs ont permis de mettre en place un **classifieur binaire très simple** et peuvent être enrichis pour mettre en place un **classifieur multi-classes**.

Le graphe du micro-environnement tumoral Nous avons proposé une méthode de construction d'un **graphe représentatif des cellules composant le micro-environnement tumoral** au sein d'une lame histologique (chapitre 9). Le graphe permet de mettre en relation des cellules segmentées depuis le MSCT d'une part **entre elles** et d'autre part **avec la hiérarchie de partitions partielles du MSCT**. Les nœuds représentant les cellules sont mis en relations au moyen d'une **distance euclidienne** et en qualifiant les arêtes obtenues en utilisant les huit relations définies par les **RCC8**. Les nœuds segmentés sont également connectés aux nœuds du MSCT desquels ils émanent. Ainsi, l'analyse du sous-graphe des

nœuds segmentés par l'utilisation des arêtes enrichies par les RCC8 permet de remonter à travers les échelles en suivant la hiérarchie offerte par le MSCT. À ce stade, le graphe du MET n'a cependant pas encore été implémenté.

Perspectives

Les extensions du MSCT Le principe d'inclusion de la dimension multi-échelles (au sens spatial) dans les structures morphologiques hiérarchiques pourrait être poursuivi avec d'autres structures. L'arbre des coupes multi-échelles est intrinsèquement basé sur le ***max-tree*** et permet donc de représenter les objets se trouvant dans les **maxima** de l'image, mais peut aisément être adapté pour se calquer sur le ***min-tree*** et ainsi représenter les objets se trouvant dans les **minima** de l'image. Pour ce faire, l'étape de sous-échantillonnage doit être remplacée par un *min-pooling* et les calcul de *max-tree* (partiels) par des calculs de *min-tree* (partiels). Une autre solution serait de reproduire la méthodologie en se basant sur l'**arbre des formes** et ainsi prendre en compte les objets se trouvant dans les **extrema** de l'image.

Les applications du MSCT À plus court terme, il est envisageable de simplifier le code et de le rendre plus performant par exemple en le ré-implémentant à l'aide de la bibliothèque **Higra** [180] et/ou de l'intégrer au sein d'une bibliothèque morphologique comme **LibTIM** [1]. L'implémentation pourrait également être améliorée par la **parallélisation des calculs des arbres des coupes partiels** car les régions sont volontairement choisies pour être toutes mutuellement disjointes. Ainsi, cette partie du code pourrait être ré-implémentée de manière distribuée et les travaux de Blin *et al.* [25] sur le calcul de *max-tree* sur GPU pourraient également être intégrés. La méthode de segmentation proposée pourrait être améliorée en explorant d'**autres attributs** que les valeurs de stabilité MSER ou encore en explorant la possibilité d'utiliser le *power watershed* [50] à la place du *watershed* standard. Des vecteurs de caractéristiques plus riches devraient être explorés pour permettre la définition d'un **véritable classifieur multi-classes**.

Le graphe du micro-environnement tumoral Si les travaux de segmentation et de classification des cellules depuis le MSCT ont débouché sur des applications concrètes, le graphe du MET proposé dans le chapitre 9 n'est à ce stade que **théorique**. Les différents éléments nécessaires à sa construction ont été énoncés : segmentation et classification des noyaux à partir du MSCT, création d'un graphe en connectant les nœuds au moyen d'une distance euclidienne (ou d'une triangulation de Delaunay) et qualification des relations en

1. https://github.com/bnaegel/libtim

utilisant les RCC8, mise en relation du graphe avec le MSCT original pour intégrer une dimension multi-échelles et finalement, traitement du graphe pour en extraire les structures d'intérêt. Il reste à **implémenter la procédure de construction du graphe** et mettre en place un modèle de réseau convolutionnel à base de graphe en définissant avec précaution l'étape de **passage de message en fonction du type d'arête et de RCC8** présent. Cette approche devrait venir en **complément de l'immunoscore** défini dans le chapitre 5. Celui-ci devrait bientôt faire l'objet d'un article de journal (médical) qui est en cours de rédaction.

Bibliographie

[1] Mohammed M. Abdelsamea et al. “A survey on artificial intelligence in histopathology image analysis”. In : *WIREs Data Mining and Knowledge Discovery* 12.6 (2022), e1474. doi : https://doi.org/10.1002/widm.1474. eprint : https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/widm.1474. url : https://wires.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/widm.1474.

[2] 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. doi : 10.1109/ISBI45749.2020.9098652.

[3] Radhakrishna Achanta et al. “SLIC Superpixels Compared to State-of-the-Art Superpixel Methods”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 34 (2012), p. 2274-2282. url : https://api.semanticscholar.org/CorpusID:1806278.

[4] Alberto Alonso-González, Carlos López-Martínez et Philippe Salembier. “PolSAR Time Series Processing With Binary Partition Trees”. In : *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing* 52.6 (2014), p. 3553-3567. doi : 10.1109/TGRS.2013.2273664.

[5] Hani A. Alturkistani, Faris M. Tashkandi et Zuhair M. Mohammedsaleh. “Histological Stains : A Literature Review and Case Study.” In : *Global journal of health science* 8.3 (2016), p. 72-79. doi : 10.5539/gjhs.v8n3p72.

[6] Deepak Anand, Shrey Gadiya et Amit Sethi. “Histographs : graphs in histopathology”. In : *Medical Imaging 2020 : Digital Pathology*. Sous la dir. de John E. Tomaszewski et Aaron D. Ward. T. 11320. International Society for Optics et Photonics. SPIE, 2020, 113200O. doi : 10.1117/12.2550114. url : https://doi.org/10.1117/12.2550114.

[7] Nicole M. Anderson et Marie Celeste Simon. “The tumor microenvironment”. In : *Current Biology* 30.16 (2020), R921-R925. issn : 0960-9822. doi : 10.1016/j.cub.2020.06.081. url : https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.06.081.

[8] Erchan Aptoula. “Remote Sensing Image Retrieval With Global Morphological Texture Descriptors”. In : *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing* 52.5 (2014), p. 3023-3034. doi : 10.1109/TGRS.2013.2268736.

[9] Erchan Aptoula. “The impact of multivariate quasi-flat zones on the morphological description of hyperspectral images”. In : *International Journal of Remote Sensing* 35.10 (2014), p. 3482-3498. doi : 10.1080/01431161.2014.905729. url : https://doi.org/10.1080/01431161.2014.905729.

[10] Erchan Aptoula, Mauro Dalla Mura et Sébastien Lefèvre. “Vector Attribute Profiles for Hyperspectral Image Classification”. In : *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing* 54.6 (2016), p. 3208-3220. doi : 10.1109/TGRS.2015.2513424.

[11] Erchan Aptoula, Jonathan Weber et Sébastien Lefèvre. “Vectorial Quasi-flat Zones for Color Image Simplification”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Cris L. Luengo Hendriks, Gunilla Borgefors et Robin Strand. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2013, p. 231-242. isbn : 978-3-642-38294-9.

[12] Pablo Arbeláez et al. “Contour Detection and Hierarchical Image Segmentation”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 33.5 (2011), p. 898-916. doi : 10.1109/TPAMI.2010.161.

[13] Coloma Ballester, Vicent Caselles et Pascal Monasse. “The tree of shapes of an image”. eng. In : *ESAIM : Control, Optimisation and Calculus of Variations* 9 (2003), p. 1-18. url : http://eudml.org/doc/244732.

[14] Dmitry R. Bandura et al. “Mass Cytometry : Technique for Real Time Single Cell Multitarget Immunoassay Based on Inductively Coupled Plasma Time-of-Flight Mass Spectrometry”. In : *Analytical Chemistry* 81.16 (2009), p. 6813-6822. issn : 0003-2700. doi : 10.1021/ac901049w. url : https://doi.org/10.1021/ac901049w.

[15] Peter Bankhead et al. “QuPath : Open source software for digital pathology image analysis”. In : *Scientific Reports* 7 (2017), p. 168-178. issn : 2045-2322. doi : 10.1038/s41598-017-17204-5. url : https://doi.org/10.1038/s41598-017-17204-5.

[16] Vic Barnett. “The Ordering of Multivariate Data”. In : *Journal of the Royal Statistical Society. Series A (General)* 139.3 (1976), p. 318-355. issn : 00359238. url : http://www.jstor.org/stable/2344839.

[17] Anusua Basu et al. “A survey on recent trends in deep learning for nucleus segmentation from histopathology images”. In : *Evolving Systems* 15.1 (2024), p. 203-248. issn : 1868-6486. doi : 10.1007/s12530-023-09491-3. url : https://doi.org/10.1007/s12530-023-09491-3.

[18] Hans G. Beger et al. *The Pancreas : An Integrated Textbook of Basic Science, Medicine, and Surgery, Fourth Edition*. English (US). Publisher Copyright : © 2023 John Wiley & Sons Ltd. wiley, jan. 2023. isbn : 9781119875970.

[19] Michael Bender et Martin Farach-Colton. “The LCA problem revisited”. In : t. 1776. Avr. 2000, p. 88-94. isbn : 978-3-540-67306-4. doi : 10.1007/10719839_9.

[20] Jon Atli Benediktsson et al. “Hierarchical Analysis of Remote Sensing Data : Morphological Attribute Profiles and Binary Partition Trees”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Image and Signal Processing*. Sous la dir. de Pierre Soille, Martino Pesaresi et Georgios K. Ouzounis. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2011, p. 306-319. isbn : 978-3-642-21569-8. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-642-21569-8_27.

[21] Stuart Berg et al. “ilastik : interactive machine learning for (bio)image analysis”. In : *Nature Methods* 16.12 (2019), p. 1226-1232. issn : 1548-7105. doi : 10.1038/s41592-019-0582-9. url : https://doi.org/10.1038/s41592-019-0582-9.

[22] Claude Berge. *Graphs and hypergraphs*. eng. [Rev. ed.]. North-Holland mathematical library ; v. 6. Amsterdam : North-Holland Pub. Co., 1973. isbn : 0444103996.

[23] Christophe Berger et al. “Effective Component Tree Computation with Application to Pattern Recognition in Astronomical Imaging”. In : *ICIP*. 2007, p. 41-44.

[24] Serge Beucher et Christian Lantuéjoul. “Use of watersheds in contour detection”. In : *International workshop on image processing, real-time edge and motion detection*. 1979. url : https://people.cmm.minesparis.psl.eu/users/marcoteg/cv/publi_pdf/MM_refs/beucher/watershed79.pdf.

[25] Nicolas Blin et al. “Max-Tree Computation on GPUs”. In : *IEEE Transactions on Parallel and Distributed Systems* 33.12 (2022), p. 3520-3531. doi : 10.1109/TPDS.2022.3158488.

[26] Marcus Bode et Andreas Krusche. “Toponome Imaging System (TIS) : imaging the proteome with functional resolution”. In : *Nature Methods* 4.1 (2007), p. iii-iv. issn : 1548-7105. doi : 10.1038/nmeth998. url : https://doi.org/10.1038/nmeth998.

[27] Petra Bosilj, Ewa Kijak et Sébastien Lefèvre. “Beyond MSER : Maximally Stable Regions using Tree of Shapes”. In : *British Machine Vision Conference*. British Machine Vision Conference. Swansea, United Kingdom, sept. 2015. url : https://hal.science/hal-01194372.

[28] Petra Bosilj, Ewa Kijak et Sébastien Lefèvre. “Partition and Inclusion Hierarchies of Images : A Comprehensive Survey”. In : *Journal of Imaging* 4.2 (2018). issn : 2313-433X. doi : 10.3390/jimaging4020033. url : https://www.mdpi.com/2313-433X/4/2/33.

[29] Petra Bosilj, Sébastien Lefèvre et Ewa Kijak. “Hierarchical Image Representation Simplification Driven by Region Complexity”. In : *Image Analysis and Processing – ICIAP 2013*. Sous la dir. d’Alfredo Petrosino. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2013, p. 562-571. isbn : 978-3-642-41181-6. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-642-41181-6_57.

[30] Petra Bosilj et al. “Attribute Profiles from Partitioning Trees”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Jesús Angulo, Santiago Velasco-Forero et Fernand Meyer. Cham : Springer International Publishing, 2017, p. 381-392. isbn : 978-3-319-57240-6. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-319-57240-6_31.

[31] Petra Bosilj et al. “Local 2D Pattern Spectra as Connected Region Descriptors”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Jón Atli Benediktsson et al. Cham : Springer International Publishing, 2015, p. 182-193. isbn : 978-3-319-18720-4. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-319-18720-4_16.

[32] Petra Bosilj et al. “Retrieval of Remote Sensing Images with Pattern Spectra Descriptors”. In : *ISPRS International Journal of Geo-Information* 5.12 (2016). issn : 2220-9964. doi : 10.3390/ijgi5120228. url : https://www.mdpi.com/2220-9964/5/12/228.

[33] Laura E. Boucheron. “Object- and Spatial-Level Quantitative Analysis of Multispectral Histopathology Images for Detection and Characterization of Cancer”. Thèse de doct. University of California, Santa Barbara, mars 2008. url : https://vision.ece.ucsb.edu/sites/default/files/publications/boucheron_dissertation.pdf.

[34] Alan Conrad Bovik, Marianna Clark et Wilson S. Geisler. “Multichannel Texture Analysis Using Localized Spatial Filters”. In : *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.* 12 (1990), p. 55-73. URL : https://api.semanticscholar.org/CorpusID:11722295.

[35] Juan Cardelino et al. “Region Based Segmentation Using the Tree of Shapes”. In : *2006 International Conference on Image Processing*. 2006, p. 2421-2424. DOI : 10.1109/ICIP.2006.312951.

[36] Edwin Carlinet et Thierry Géraud. “A Color Tree of Shapes with Illustrations on Filtering, Simplification, and Segmentation”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Jón Atli Benediktsson et al. Cham : Springer International Publishing, 2015, p. 363-374. ISBN : 978-3-319-18720-4. DOI : https://doi.org/10.1007/978-3-319-18720-4_31.

[37] Edwin Carlinet et Thierry Géraud. “A Comparative Review of Component Tree Computation Algorithms”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 23.9 (2014), p. 3885-3895. DOI : 10.1109/TIP.2014.2336551.

[38] Edwin Carlinet et Thierry Géraud. “MToS : A Tree of Shapes for Multivariate Images”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 24.12 (2015), p. 5330-5342. DOI : 10.1109/TIP.2015.2480599.

[39] Vincent Caselles et Pascal Monasse. *Geometric Description of Images as Topographic Maps*. Springer Berlin, Heidelberg, 2009. ISBN : 978-3-642-04611-7. DOI : https://doi.org/10.1007/978-3-642-04611-7.

[40] Gabriele Cavallaro et al. “Extended Self-Dual Attribute Profiles for the Classification of Hyperspectral Images”. In : *IEEE Geoscience and Remote Sensing Letters* 12.8 (2015), p. 1690-1694. DOI : 10.1109/LGRS.2015.2419629.

[41] Gabriele Cavallaro et al. “Remote Sensing Image Classification Using Attribute Filters Defined Over the Tree of Shapes”. In : *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing* 54.7 (2016), p. 3899-3911. DOI : 10.1109/TGRS.2016.2530690.

[42] John K.C. Chan. “The Wonderful Colors of the Hematoxylin–Eosin Stain in Diagnostic Surgical Pathology”. In : *International Journal of Surgical Pathology* 22.1 (2014), p. 12-32. DOI : 10.1177/1066896913517939. eprint : https://doi.org/10.1177/1066896913517939. URL : https://doi.org/10.1177/1066896913517939.

[43] Amit Kumar Chanchal et al. “Efficient and robust deep learning architecture for segmentation of kidney and breast histopathology images”. In : *Computers & Electrical Engineering* 92 (2021), p. 107177. ISSN : 0045-7906. DOI : https://doi.org/10.1016/j.compeleceng.2021.107177. URL : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045790621001786.

[44] Ting Chen et Christophe Chefd'hotel. “Deep Learning Based Automatic Immune Cell Detection for Immunohistochemistry Images”. In : *Machine Learning in Medical Imaging*. Sous la dir. de Guorong Wu, Daoqiang Zhang et Luping Zhou. Cham : Springer International Publishing, 2014, p. 17-24. ISBN : 978-3-319-10581-9. DOI : https://doi.org/10.1007/978-3-319-10581-9_3.

[45] Wei-Lin Chiang et al. “Cluster-GCN : An Efficient Algorithm for Training Deep and Large Graph Convolutional Networks”. In : *Proceedings of the 25th ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery & Data Mining*. KDD '19. Anchorage, AK, USA : Association for Computing Machinery, 2019, p. 257-266. ISBN : 9781450362016. DOI : 10.1145/3292500.3330925. URL : https://doi.org/10.1145/3292500.3330925.

[46] Yun Shin Chun, Timothy M. Pawlik et Jean-Nicolas Vauthey. “8th Edition of the AJCC Cancer Staging Manual : Pancreas and Hepatobiliary Cancers”. In : *Annals of Surgical Oncology* 25.4 (2018), p. 845-847. ISSN : 1534-4681. DOI : 10.1245/s10434-017-6025-x. URL : https://doi.org/10.1245/s10434-017-6025-x.

[47] Kuo-Liang Chung et Ping-Chin Chen. “An efficient algorithm for computing moments on a block representation of a grey-scale image”. In : *Pattern Recognition* 38.12 (2005), p. 2578-2586. ISSN : 0031-3203. DOI : https://doi.org/10.1016/j.patcog.2005.04.004. URL : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031320305001743.

[48] Kuo-Liang Chung et Jung-Gen Wu. “Improved image compression using S-tree and shading approach”. In : *IEEE Transactions on Communications* 48.5 (2000), p. 748-751. DOI : 10.1109/26.843184.

[49] Anthony G. Cohn et al. “Qualitative Spatial Representation and Reasoning with the Region Connection Calculus”. In : *GeoInformatica* 1.3 (1997), p. 275-316. ISSN : 1573-7624. DOI : 10.1023/A:1009712514511. URL : https://doi.org/10.1023/A:1009712514511.

[50] Camille Couprie et al. “Power Watershed : A Unifying Graph-Based Optimization Framework”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 33.7 (2011), p. 1384-1399. DOI : 10.1109/TPAMI.2010.200.

[51] Jean Cousty et Laurent Najman. “Incremental Algorithm for Hierarchical Minimum Spanning Forests and Saliency of Watershed Cuts”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Image and Signal Processing*. Sous la dir. de Pierre Soille, Martino Pesaresi et Georgios K. Ouzounis. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2011, p. 272-283. isbn : 978-3-642-21569-8. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-642-21569-8_24.

[52] Jean Cousty et al. “Watershed Cuts : Minimum Spanning Forests and the Drop of Water Principle”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 31.8 (2009), p. 1362-1374. doi : 10.1109/TPAMI.2008.173.

[53] Mauro Dalla Mura, Jon Atli Benediktsson et Lorenzo Bruzzone. “Self-dual Attribute Profiles for the Analysis of Remote Sensing Images”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Image and Signal Processing*. Sous la dir. de Pierre Soille, Martino Pesaresi et Georgios K. Ouzounis. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2011, p. 320-330. isbn : 978-3-642-21569-8. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-642-21569-8_28.

[54] Mauro Dalla Mura et al. “Extended profiles with morphological attribute filters for the analysis of hyperspectral data”. In : *International Journal of Remote Sensing* 31.22 (2010), p. 5975-5991. doi : 10.1080/01431161.2010.512425. url : https://doi.org/10.1080/01431161.2010.512425.

[55] Bharath Bhushan Damodaran, Joachim Höhle et Sébastien Lefèvre. “Attribute Profiles on Derived Features for Urban Land Cover Classification”. In : *Photogrammetric Engineering & Remote Sensing* 83.3 (2017), p. 183-193. issn : 0099-1112. doi : doi:10.14358/PERS.83.3.183. url : https://www.ingentaconnect.com/content/asprs/pers/2017/00000083/00000003/art00013.

[56] William A. Day et al. “Covalently deposited dyes : a new chromogen paradigm that facilitates analysis of multiple biomarkers in situ”. In : *Laboratory Investigation* 97.1 (2017), p. 104-113. issn : 0023-6837. doi : 10.1038/labinvest.2016.115. url : https://doi.org/10.1038/labinvest.2016.115.

[57] Ercole De Castro et Carlo Morandi. “Registration of Translated and Rotated Images Using Finite Fourier Transforms”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* PAMI-9.5 (1987), p. 700-703. doi : 10.1109/TPAMI.1987.4767966.

[58] Gauthier Defossez et al. “Cancer incidence and mortality trends in France over 1990–2018 for solid tumors : the sex gap is narrowing”. In : *BMC Cancer* 21.1 (2021). issn : 1471-2407. doi : 10.1186/s12885-021-08261-1. url : https://doi.org/10.1186/s12885-021-08261-1.

[59] Boris Nikolaïevitch Delaunay. “Sur la sphère vide. À la mémoire de Georges Voronoï”. In : *Bulletin de l’Académie des sciences de l’URSS. VIIe série. Département des sciences mathématiques et naturelles* 6 (1934), p. 793-800.

[60] Agnès Desolneux, Lionel Moisan et Jean-Michel Morel. “Edge Detection by Helmholtz Principle”. In : *Journal of Mathematical Imaging and Vision* 14.3 (2001), p. 271-284. issn : 1573-7683. doi : 10.1023/A:1011290230196. url : https://doi.org/10.1023/A:1011290230196.

[61] Angela R. Dixon et al. “Recent developments in multiplexing techniques for immunohistochemistry”. In : *Expert Review of Molecular Diagnostics* 15.9 (2015). PMID : 26289603, p. 1171-1186. doi : 10.1586/14737159.2015.1069182. eprint : https://doi.org/10.1586/14737159.2015.1069182. url : https://doi.org/10.1586/14737159.2015.1069182.

[62] Minh N. Do et Martin Vetterli. “The contourlet transform : an efficient directional multiresolution image representation”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 14.12 (2005), p. 2091-2106. doi : 10.1109/TIP.2005.859376.

[63] Minh N. Do et Martin Vetterli. “The finite ridgelet transform for image representation”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 12.1 (2003), p. 16-28. doi : 10.1109/TIP.2002.806252.

[64] Richard O. Duda, Peter E. Hart et David G. Stork. “Pattern Classification”. In : t. xx. Jan. 2001. isbn : 0-471-05669-3.

[65] Abdullah Al-Dujaili, François Merciol et Sébastien Lefèvre. “GraphBPT : An Efficient Hierarchical Data Structure for Image Representation and Probabilistic Inference”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Jón Atli Benediktsson et al. Cham : Springer International Publishing, 2015, p. 301-312. isbn : 978-3-319-18720-4. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-319-18720-4_26.

[66] Logan Dunkenberger et Luis Del Valle. “Antigen Retrieval and Signal Amplification”. In : *Immunohistochemistry and Immunocytochemistry : Methods and Protocols*. Sous la dir. de Luis Del Valle. New York, NY : Springer US, 2022, p. 65-74. isbn : 978-1-0716-1948-3. doi : 10.1007/978-1-0716-1948-3_5. url : https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1948-3_5.

[67] Mohamed El Amine ELFORAICI et al. "Cell-Level GNN-Based Prediction of Tumor Regression Grade in Colorectal Liver Metastases From Histopathology Images". In : *2024 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI)*. 2024, p. 1-5. DOI : 10.1109/ISBI56570.2024.10635713.

[68] 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. ISSN : 1746-1596. DOI : 10.1186/s13000-020-01003-0. URL : https://doi.org/10.1186/s13000-020-01003-0.

[69] Pedro F. FELZENSZWALB et Daniel P. HUTTENLOCHER. "Efficient Graph-Based Image Segmentation". In : *International Journal of Computer Vision* 59 (2 2004), p. 167-181. ISSN : 1573-1405. DOI : 10.1109/34.868688. URL : https://doi.org/10.1023/B:VISI.0000022288.19776.77.

[70] Jan FLUSSER. "Refined moment calculation using image block representation". In : *IEEE Transactions on Image Processing* 9.11 (2000), p. 1977-1978. DOI : 10.1109/83.877219.

[71] Luis GARRIDO, Philippe SALEMBIER et David GARCIA. "Extensive operators in partition lattices for image sequence analysis." In : *Signal Processing* 66.2 (1998), p. 157-180. ISSN : 0165-1684. DOI : https://doi.org/10.1016/S0165-1684(98)00004-8. URL : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165168498000048.

[72] Simon GAZAGNES et Michael H.F. WILKINSON. "Distributed Component Forests in 2-D : Hierarchical Image Representations Suitable for Tera-Scale Images". In : *International Journal of Pattern Recognition and Artificial Intelligence* 33.11 (2019), p. 1940012. DOI : 10.1142/S0218001419400123. URL : https://doi.org/10.1142/S0218001419400123.

[73] Simon GAZAGNES et Michael H.F. WILKINSON. "Distributed Connected Component Filtering and Analysis in 2D and 3D Tera-Scale Data Sets". In : *IEEE Transactions on Image Processing* 30 (2021), p. 3664-3675. DOI : 10.1109/TIP.2021.3064223.

[74] Daan J. GEIJS et al. "Automatic color unmixing of IHC stained whole slide images". In : *Medical Imaging 2018 : Digital Pathology*. Sous la dir. de John E. TOMASZEWSKI et Metin N. GURCAN. T. 10581. International Society for Optics et Photonics. SPIE, 2018, p. 105810L. DOI : 10.1117/12.2293734. URL : https://doi.org/10.1117/12.2293734.

[75] Thierry Géraud et al. “A Quasi-linear Algorithm to Compute the Tree of Shapes of nD Images”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Cris L. Luengo Hendriks, Gunilla Borgefors et Robin Strand. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2013, p. 98-110. isbn : 978-3-642-38294-9. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-642-38294-9_9.

[76] Michael J. Gerdes et al. “Highly multiplexed single-cell analysis of formalin-fixed, paraffin-embedded cancer tissue”. In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110.29 (2013), p. 11982-11987. doi : 10.1073/pnas.1300136110. eprint : https://www.pnas.org/doi/pdf/10.1073/pnas.1300136110. url : https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1300136110.

[77] Pedram Ghamisi, Mauro Dalla Mura et Jon Atli Benediktsson. “A Survey on Spectral–Spatial Classification Techniques Based on Attribute Profiles”. In : *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing* 53.5 (2015), p. 2335-2353. doi : 10.1109/TGRS.2014.2358934.

[78] George Glass, Jason A. Papin et James W. Mandell. “Simple : A Sequential Immunoperoxidase Labeling and Erasing Method”. In : *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 57.10 (2009). PMID : 19365090, p. 899-905. doi : 10.1369/jhc.2009.953612. eprint : https://doi.org/10.1369/jhc.2009.953612. url : https://doi.org/10.1369/jhc.2009.953612.

[79] Yury Goltsev et al. “Deep Profiling of Mouse Splenic Architecture with CODEX Multiplexed Imaging”. In : *Cell* 174.4 (2018), 968-981.e15. issn : 0092-8674. doi : 10.1016/j.cell.2018.07.010. url : https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.010.

[80] Markus Götz et al. “Parallel Computation of Component Trees on Distributed Memory Machines”. In : *IEEE Transactions on Parallel and Distributed Systems* 29.11 (2018), p. 2582-2598. doi : 10.1109/TPDS.2018.2829724.

[81] Simon Graham et al. “Hover-Net : Simultaneous segmentation and classification of nuclei in multi-tissue histology images”. In : *Medical Image Analysis* 58 (2019), p. 101563. issn : 1361-8415. doi : https://doi.org/10.1016/j.media.2019.101563. url : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1361841519301045.

[82] Noah F. Greenwald et al. “Whole-cell segmentation of tissue images with human-level performance using large-scale data annotation and deep learning”. In : *Nature Biotechnology* 40.4 (2022), p. 555-565. issn : 1546-1696. doi : 10.1038/s41587-021-01094-0. url : https://doi.org/10.1038/s41587-021-01094-0.

[83] Éloïse Grossiord et al. “Shape-Based Analysis on Component-Graphs for Multivalued Image Processing”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Jón Atli Benediktsson et al. Cham : Springer International Publishing, 2015, p. 446-457. isbn : 978-3-319-18720-4. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-319-18720-4_38.

[84] Lionel Gueguen et Raffay Hamid. “Toward a Generalizable Image Representation for Large-Scale Change Detection : Application to Generic Damage Analysis”. In : *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing* 54.6 (2016), p. 3378-3387. doi : 10.1109/TGRS.2016.2516402.

[85] Laurent Guigues, Jean Pierre Cocquerez et Hervé Le Men. “Scale-Sets Image Analysis”. In : *International Journal of Computer Vision* 68 (3 2006), p. 289-317. issn : 1573-1405. doi : 10.1007/s11263-005-6299-0. url : https://doi.org/10.1007/s11263-005-6299-0.

[86] Hugo Hadwiger. “Minkowskische Addition und Subtraktion beliebiger Punktmengen und die Theoreme von Erhard Schmidt”. In : *Mathematische Zeitschrift* 53 (1950), p. 210-218.

[87] Will Hamilton, Zhitao Ying et Jure Leskovec. “Inductive Representation Learning on Large Graphs”. In : *Advances in Neural Information Processing Systems*. Sous la dir. d’I. Guyon et al. T. 30. Curran Associates, Inc., 2017. url : https://proceedings.neurips.cc/paper_files/paper/2017/file/5dd9db5e033da9c6fb5ba83c7a7ebea9-Paper.pdf.

[88] Paul W. Harms et al. “Multiplex Immunohistochemistry and Immunofluorescence : A Practical Update for Pathologists”. In : *Modern Pathology* 36.7 (2023). issn : 0893-3952. doi : 10.1016/j.modpat.2023.100197. url : https://doi.org/10.1016/j.modpat.2023.100197.

[89] Mohammad Hashem Faezi, Reynier Peletier et Michael H.F. Wilkinson. “Multi-Spectral Source-Segmentation Using Semantically-Informed Max-Trees”. In : *IEEE Access* 12 (2024), p. 72288-72302. doi : 10.1109/ACCESS.2024.3403309.

[90] Jiří Havel, François Merciol et Sébastien Lefèvre. “Efficient Schemes for Computing α-tree Representations”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Cris L. Luengo Hendriks, Gunilla Borgefors et Robin Strand. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2013, p. 111-122. isbn : 978-3-642-38294-9. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-642-38294-9_10.

[91] Jiří Havel, François Merciol et Sébastien Lefèvre. “Efficient tree construction for multiscale image representation and processing”. In : *Journal of Real-Time Image Processing* 16.4 (2019), p. 1129-1146. issn : 1861-8219. doi : 10.1007/s11554-016-0604-0. url : https://doi.org/10.1007/s11554-016-0604-0.

[92] Kaiming He et al. “Deep Residual Learning for Image Recognition”. In : *2016 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*. 2016, p. 770-778. doi : 10.1109/CVPR.2016.90.

[93] Henk J.A.M. Heijmans. *Morphological Image Operators*. Advances in electronics and electron physics : Supplement. Academic Press, 1994. isbn : 9780120145997. url : https://books.google.fr/books?id=G-hRAAAAMAAJ.

[94] Henk J.A.M. Heijmans. “Theoretical aspects of gray-level morphology”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 13.6 (1991), p. 568-582.

[95] Derek Hoiem, Alexei A. Efros et Martial Hebert. “Recovering Occlusion Boundaries from an Image”. In : *International Journal of Computer Vision* 91 (3 2011), p. 328-346. issn : 1573-1405. doi : 10.1007/s11263-010-0400-4. url : https://doi.org/10.1007/s11263-010-0400-4.

[96] Steven L. Horowitz et Theodosios Pavlidis. “Picture Segmentation by a Tree Traversal Algorithm”. In : *J. ACM* 23.2 (avr. 1976), p. 368-388. issn : 0004-5411. doi : 10.1145/321941.321956. url : https://doi.org/10.1145/321941.321956.

[97] Carolyn M. Hutter et al. “Gene-Environment Interactions in Cancer Epidemiology : A National Cancer Institute Think Tank Report”. In : *Genetic Epidemiology* 37.7 (2013), p. 643-657. doi : https://doi.org/10.1002/gepi.21756. eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/gepi.21756. url : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/gepi.21756.

[98] Simon Idelman et Jean Verdetti. *Endocrinologie et communications cellulaires*. EDP sciences, 2001.

[99] Laura Igual. “Image segmentation and compression using the tree of shapes of an image. Motion estimation.” Thèse de doct. Barcelona, Spain : Pompeu Fabra University, 2006.

[100] Kyuseok Im et al. “An Introduction to Performing Immunofluorescence Staining”. In : *Biobanking : Methods and Protocols*. Sous la dir. de William H. Yong. New York, NY : Springer New York, 2019, p. 299-311. isbn : 978-1-4939-8935-5. doi : 10.1007/978-1-4939-8935-5_26. url : https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_26.

[101] Andrei C. Jalba et Michel A. Westenberg. “A Comparison of Two Tree Representations for Data-Driven Volumetric Image Filtering”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Image and Signal Processing*. Sous la dir. de Pierre Soille, Martino Pesaresi et Georgios K. Ouzounis. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2011, p. 405-416. isbn : 978-3-642-21569-8. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-642-21569-8_35.

[102] Sebastian Jarosch et al. “Multiplexed imaging and automated signal quantification in formalin-fixed paraffin-embedded tissues by ChipCytometry”. In : *Cell Reports Methods* 1.7 (2021), p. 100-104. issn : 2667-2375. doi : https://doi.org/10.1016/j.crmeth.2021.100104. url : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667237521001636.

[103] Sajid Javed et al. “Multiplex Cellular Communities in Multi-Gigapixel Colorectal Cancer Histology Images for Tissue Phenotyping”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 29 (2020), p. 9204-9219. doi : 10.1109/TIP.2020.3023795.

[104] Ronald Jones. “Component trees for image filtering and segmentation”. In : *Proc. IEEE Workshop on Nonlinear Signal and Image Process* (1997).

[105] Ronald Jones. “Connected Filtering and Segmentation Using Component Trees”. In : *Computer Vision and Image Understanding* 75 (1999), p. 215-228.

[106] Ralf Jungmann et al. “Multiplexed 3D cellular super-resolution imaging with DNA-PAINT and Exchange-PAINT”. In : *Nature Methods* 11.3 (2014), p. 313-318. issn : 1548-7105. doi : 10.1038/nmeth.2835. url : https://doi.org/10.1038/nmeth.2835.

[107] John Alan Kiernan. “Does progressive nuclear staining with hemalum (alum hematoxylin) involve DNA, and what is the nature of the dye-chromatin complex ?” In : *Biotechnic & Histochemistry* 93.2 (2018), p. 133-148. doi : 10.1080/10520295.2017.1399466. eprint : https://doi.org/10.1080/10520295.2017.1399466. url : https://doi.org/10.1080/10520295.2017.1399466.

[108] Fred N. KIWANUKA et Michael H.F. WILKINSON. “Automatic attribute threshold selection for morphological connected attribute filters”. In : *Pattern Recognition* 53 (2016), p. 59-72. ISSN : 0031-3203. DOI : https://doi.org/10.1016/j.patcog.2015.11.012. URL : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003132031500432X.

[109] Tatyung KONG et Azriel ROSENFELD. “Digital topology : Introduction and survey”. In : *Computer Vision, Graphics, and Image Processing* 48.3 (1989), p. 357-393. ISSN : 0734-189X. DOI : https://doi.org/10.1016/0734-189X\(89\)90147-3. URL : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0734189X89901473.

[110] Joseph B. KRUSKAL. “On the Shortest Spanning Subtree of a Graph and the Traveling Salesman Problem”. In : *Proceedings of the American Mathematical Society* 7.1 (1956), p. 48-50. ISSN : 00029939, 10886826. URL : http://www.jstor.org/stable/2033241.

[111] Chung Ming KUO et al. “A New Mesh-Based Temporal-Spatial Segmentation for Image Sequence”. In : *24th International Computer Software and Applications Conference*. COMPSAC ’00. USA : IEEE Computer Society, 2000, p. 395. ISBN : 0769507921.

[112] Camille KURTZ, Benoît NAEGEL et Nicolas PASSAT. “Connected Filtering Based on Multivalued Component-Trees”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 23 (2014), p. 5152-5164.

[113] Camille KURTZ, Benoît NAEGEL et Nicolas PASSAT. “Multivalued Component-Tree Filtering”. In : *2014 22nd International Conference on Pattern Recognition*. 2014, p. 1008-1013. DOI : 10.1109/ICPR.2014.183.

[114] Christian LANTUÉJOUL et H. DIGABEL. “Iterative algorithms”. In : *Proc. of 2nd European Symposium on Quantitavive Analysis of Microstructures in Material Sciences, Biology and Medecine*. 1977, p. 39-49. URL : https://people.cmm.minesparis.psl.eu/users/marcoteg/cv/publi_pdf/MM_refs/Lantuejoul/1977_Digabel_Lantuejoul_watershed.pdf.

[115] Bénédicte LAPÔTRE-LEDOUX et al. “Incidence des principaux cancers en France métropolitaine en 2023 et tendances depuis 1990.” In : *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire n°12-13* (), p. 189-204. URL : http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2023/12-13/2023_12-13_1.html.

[116] Michael Y. Lee et al. “CellSeg : a robust, pre-trained nucleus segmentation and pixel quantification software for highly multiplexed fluorescence images”. In : *BMC Bioinformatics* 23.1 (2022), p. 46. ISSN : 1471–2105. DOI : 10.1186/s12859-022-04570-9. URL : https://doi.org/10.1186/s12859-022-04570-9.

[117] Tai Sing Lee. “Image representation using 2D Gabor wavelets”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 18.10 (1996), p. 959-971. DOI : 10.1109/34.541406.

[118] Thomas S. Leeson et Roland C. Leeson. *Histology.* W.B. Saunders, 1981. ISBN : 978-0721657042.

[119] Sébastien Lefèvre, Laetitia Chapel et François Merciol. “Hyperspectral image classification from multiscale description with constrained connectivity and metric learning”. In : *2014 6th Workshop on Hyperspectral Image and Signal Processing : Evolution in Remote Sensing (WHISPERS)*. 2014, p. 1-4. DOI : 10.1109/WHISPERS.2014.8077559.

[120] Carlijn M. Lems et al. “Color Deconvolution for Color-Agnostic and Cross-Modality Analysis of Immunohistochemistry Whole-Slide Images with Deep Learning”. In : *2024 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI)*. 2024, p. 1-4. DOI : 10.1109/ISBI56570.2024.10635258.

[121] Matt Levin et al. “UltraPlex Hapten-Based Multiplexed Fluorescent Immunohistochemistry”. In : *Multiplexed Imaging : Methods and Protocols*. Sous la dir. d’Eli Zamir. New York, NY : Springer US, 2021, p. 267-287. ISBN : 978-1-0716-1593-5. DOI : 10.1007/978-1-0716-1593-5_17. URL : https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1593-5_17.

[122] Pascal Lienhardt. “Topological models for boundary representation : a comparison with n-dimensional generalized maps”. In : *Computer-Aided Design* 23.1 (1991), p. 59-82. ISSN : 0010-4485. DOI : https://doi.org/10.1016/0010-4485(91)90082-8. URL : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0010448591900828.

[123] Jia-Ren Lin, Mohammad Fallahi-Sichani et Peter K. Sorger. “Highly multiplexed imaging of single cells using a high-throughput cyclic immunofluorescence method”. In : *Nature Communications* 6.1 (2015), p. 83-90. ISSN : 2041-1723. DOI : 10.1038/ncomms9390. URL : https://doi.org/10.1038/ncomms9390.

[124] Tsung-Yi Lin et al. “Focal Loss for Dense Object Detection”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 42.2 (2020), p. 318-327. DOI : 10.1109/TPAMI.2018.2858826.

[125] Huihai Lu, John C. Woods et Mohammed Ghanbari. “Binary Partition Tree Analysis Based on Region Evolution and Its Application to Tree Simplification”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 16.4 (2007), p. 1131-1138. doi : 10.1109/TIP.2007.891802.

[126] Zhaoxuan Ma et al. “Data integration from pathology slides for quantitative imaging of multiple cell types within the tumor immune cell infiltrate”. In : *Diagnostic Pathology* 12.1 (2017), p. 69. issn : 1746–1596. doi : 10.1186/s13000-017-0658-8. url : https://doi.org/10.1186/s13000-017-0658-8.

[127] Shino Magaki et al. “An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry”. In : *Biobanking : Methods and Protocols*. Sous la dir. de William H. Yong. New York, NY : Springer New York, 2019, p. 289-298. isbn : 978-1-4939-8935-5. doi : 10.1007/978-1-4939-8935-5_25. url : https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_25.

[128] Ujjwal Mukund Mahajan et al. “Immune Cell and Stromal Signature Associated With Progression-Free Survival of Patients With Resected Pancreatic Ductal Adenocarcinoma”. In : *Gastroenterology* 155.5 (2018), p. 1625-1639. issn : 0016-5085. doi : 10.1053/j.gastro.2018.08.009. url : https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.08.009.

[129] Stéphane G. Mallat. “A theory for multiresolution signal decomposition : the wavelet representation”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 11.7 (1989), p. 674-693. doi : 10.1109/34.192463.

[130] Stéphane G. Mallat et Wen Liang Hwang. “Singularity detection and processing with wavelets”. In : *IEEE Transactions on Information Theory* 38.2 (1992), p. 617-643. doi : 10.1109/18.119727.

[131] Mael Manesse et al. “The InSituPlex® Staining Method for Multiplexed Immunofluorescence Cell Phenotyping and Spatial Profiling of Tumor FFPE Samples”. In : *Biomarkers for Immunotherapy of Cancer : Methods and Protocols*. Sous la dir. de Magdalena Thurin, Alessandra Cesano et Francesco M. Marincola. New York, NY : Springer New York, 2020, p. 585-592. isbn : 978-1-4939-9773-2. doi : 10.1007/978-1-4939-9773-2_26. url : https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9773-2_26.

[132] Beatriz Marcotegui, Andrés Serna et Jorge Hernández. “Ultimate Opening Combined with Area Stability Applied to Urban Scenes”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Jesús Angulo, Santiago Velasco-Forero et Fernand Meyer. Cham : Springer Interna-

tional Publishing, 2017, p. 261-268. ISBN : 978-3-319-57240-6. DOI : https://doi.org/10.1007/978-3-319-57240-6_21.

[133] Paula MARTIN-GONZALEZ, Mireia CRISPIN-ORTUZAR et Florian MARKOWETZ. "Predictive Modelling of Highly Multiplexed Tumour Tissue Images by Graph Neural Networks". In : *Interpretability of Machine Intelligence in Medical Image Computing, and Topological Data Analysis and Its Applications for Medical Data*. Sous la dir. de Mauricio REYES et al. Cham : Springer International Publishing, 2021, p. 98-107. ISBN : 978-3-030-87444-5.

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

[135] Shimrit MAYER et al. "The tumor microenvironment shows a hierarchy of cell-cell interactions dominated by fibroblasts". In : *Nature Communications* 14.1 (2023), p. 5810. ISSN : 2041-1723. DOI : 10.1038/s41467-023-41518-w. URL : https://doi.org/10.1038/s41467-023-41518-w.

[136] Isabel MEJIA et al. "Pancreatic Adenocarcinoma Invasiveness and the Tumor Microenvironment : From Biology to Clinical Trials". In : *Biomedicines* 8.10 (2020). ISSN : 2227-9059. DOI : 10.3390/biomedicines8100401. URL : https://www.mdpi.com/2227-9059/8/10/401.

[137] François MERCIOL, Thibaud BALEM et Sébastien LEFÈVRE. "Efficient and large-scale land cover classification using multiscale image analysis". In : *Proceedings of the 2017 conference on Big Data from Space*. Sous la dir. de Pierre SOILLE et Pier Giorgio MARCHETTI. Luxembourg (Luxembourg) : Publications Office of the European Union, 2017. ISBN : 978-92-79-73527-1 (pdf). DOI : 10.2760/383579(online).

[138] François MERCIOL et Sébastien LEFÉVRE. "Fast building extraction by multiscale analysis of digital surface models". In : *2015 IEEE International Geoscience and Remote Sensing Symposium (IGARSS)*. 2015, p. 553-556. DOI : 10.1109/IGARSS.2015.7325823.

[139] François MERCIOL et Sébastien LEFÈVRE. "Buffering Hierarchical Representation of Color Video Streams for Interactive Object Selection". In : *Advanced Concepts for Intelligent Vision Systems*. Sous la dir. de Sebastiano BATTIATO et al. Cham : Springer International Publishing, 2015, p. 864-875. ISBN : 978-3-319-25903-1. DOI : https://doi.org/10.1007/978-3-319-25903-1_74.

[140] François MERCIOL et Sébastien LEFÈVRE. "Fast Image and Video Segmentation Based on Alpha-tree Multiscale Representation". In : *2012 Eighth International Conference on Signal Image Technology and Internet Based Systems*. 2012, p. 336-342. DOI : 10.1109/SITIS.2012.56.

[141] Christopher R. Merritt et al. “Multiplex digital spatial profiling of proteins and RNA in fixed tissue JO - Nature Biotechnology”. In : 38.5 (2020), p. 586-599. issn : 1546-1696. doi : 10.1038/s41587-020-0472-9. url : https://doi.org/10.1038/s41587-020-0472-9.

[142] Fernand Meyer. “An Overview of Morphological Segmentation”. In : *Int. J. Pattern Recognit. Artif. Intell.* 15 (2001), p. 1089-1118. url : https://api.semanticscholar.org/CorpusID:28064888.

[143] Fernand Meyer. “Minimum Spanning Forests for Morphological Segmentation”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Image Processing*. Sous la dir. de Jean Serra et Pierre Soille. Dordrecht : Springer Netherlands, 1994, p. 77-84. isbn : 978-94-011-1040-2. doi : 10.1007/978-94-011-1040-2_11. url : https://doi.org/10.1007/978-94-011-1040-2_11.

[144] Fernand Meyer et Laurent Najman. “Segmentation, Minimum Spanning Tree and Hierarchies”. In : *Mathematical Morphology*. John Wiley & Sons, Ltd, 2013. Chap. 9, p. 229-261. isbn : 9781118600788. doi : https://doi.org/10.1002/9781118600788.ch9. eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9781118600788.ch9. url : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781118600788.ch9.

[145] Hermann Minkowski. “Volumen on Oberäche”. In : *Mathematische Annalen* 57 (1903), p. 447-495.

[146] Sherif A. Mohamed et Moustafa M. Fahmy. “Binary image compression using efficient partitioning into rectangular regions”. In : *IEEE Trans. Commun.* 43 (1995), p. 1888-1893. url : https://api.semanticscholar.org/CorpusID:19468837.

[147] Pascal Monasse. “Représentation morphologique d’images numériques et application au recalage”. 2000PA090037. Thèse de doct. 2000, 1 vol. (211 p.) url : http://www.theses.fr/2000PA090037/document.

[148] Pascal Monasse et Frédéric Guichard. “Fast computation of a contrast-invariant image representation”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 9.5 (2000), p. 860-872. doi : 10.1109/83.841532.

[149] Pascal Monasse et Frédéric Guichard. “Scale-Space from a Level Lines Tree”. In : 11.2 (juin 2000), p. 224-236. issn : 1047-3203. doi : 10.1006/jvci.1999.0441. url : https://doi.org/10.1006/jvci.1999.0441.

[150] Alexandre Morimitsu, Wonder A.L. Alves et Ronaldo F. Hashimoto. “Incremental and Efficient Computation of Families of Component Trees”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Jón Atli Benediktsson et al. Cham : Springer International Publishing, 2015, p. 681-692. isbn : 978-3-319-18720-4. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-319-18720-4_57.

[151] Alexandre Morimitsu et al. “Efficient component-hypertree construction based on hierarchy of partitions”. In : *Pattern Recognition Letters* 135 (2020), p. 30-37. issn : 0167-8655. doi : https://doi.org/10.1016/j.patrec.2020.02.032. url : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167865520300775.

[152] Alexandre Morimitsu et al. “Incremental Attribute Computation in Component-Hypertrees”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Bernhard Burgeth et al. Cham : Springer International Publishing, 2019, p. 150-161. isbn : 978-3-030-20867-7. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-030-20867-7_12.

[153] Alexandre Morimitsu et al. “Minimal Component-Hypertrees”. In : *Discrete Geometry for Computer Imagery*. Sous la dir. de Michel Couprie et al. Cham : Springer International Publishing, 2019, p. 276-287. isbn : 978-3-030-14085-4. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-030-14085-4_22.

[154] Ugo Moschini, Arnold Meijster et Michael H.F. Wilkinson. “A Hybrid Shared-Memory Parallel Max-Tree Algorithm for Extreme Dynamic-Range Images”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 40.3 (2018), p. 513-526. doi : 10.1109/TPAMI.2017.2689765.

[155] Benoît Naegel et Nicolas Passat. “Colour Image Filtering with Component-Graphs”. In : *2014 22nd International Conference on Pattern Recognition*. 2014, p. 1621-1626. doi : 10.1109/ICPR.2014.287.

[156] Benoît Naegel et al. “Segmentation using vector-attribute filters : Methodology and application to dermatological imaging”. In : *ISMM 2007, 8th International Symposium on Mathematical Morphology* 1 (oct. 2007).

[157] Aravind Nair et al. “A graph neural network framework for mapping histological topology in oral mucosal tissue”. In : *BMC Bioinformatics* 23.1 (2022), p. 506. issn : 1471-2105. doi : 10.1186/s12859-022-05063-5. url : https://doi.org/10.1186/s12859-022-05063-5.

[158] Laurent Najman. “On the Equivalence Between Hierarchical Segmentations and Ultrametric Watersheds”. In : *Journal of Mathematical Imaging and Vision* 40 (3 2011), p. 231-247. issn : 1573-7683. doi : 10.1007/s10851-011-0259-1. url : https://doi.org/10.1007/s10851-011-0259-1.

[159] Laurent Najman et Michel Couprie. “Building the Component Tree in Quasi-Linear Time”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 15 (2006), p. 3531-3539.

[160] Laurent Najman, Jean Cousty et Benjamin Perret. “Playing with Kruskal : Algorithms for Morphological Trees in Edge-Weighted Graphs”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Cris L. Luengo Hendriks, Gunilla Borgefors et Robin Strand. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2013, p. 135-146. isbn : 978-3-642-38294-9. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-642-38294-9_12.

[161] Laurent Najman et Thierry Géraud. “Discrete Set-Valued Continuity and Interpolation”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Cris L. Luengo Hendriks, Gunilla Borgefors et Robin Strand. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2013, p. 37-48. isbn : 978-3-642-38294-9. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-642-38294-9_4.

[162] Laurent Najman et Michel Schmitt. “Geodesic saliency of watershed contours and hierarchical segmentation”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 18.12 (1996), p. 1163-1173. doi : 10.1109/34.546254.

[163] Laurent Najman et Pierre Soille. *On Morphological Hierarchical Representations for Image Processing and Spatial Data Clustering*. International Association for Pattern Recognition, 2010, p. 52-61. url : http://mdigest.jrc.ec.europa.eu/wadgmm2010/procs.html.

[164] Thanh Xuan Nguyen et al. “CGO : Multiband Astronomical Source Detection With Component-Graphs”. In : *2020 IEEE International Conference on Image Processing (ICIP)*. 2020, p. 16-20. doi : 10.1109/ICIP40778.2020.9191276.

[165] David Nistér et Henrik Stewénius. “Linear Time Maximally Stable Extremal Regions”. In : *Computer Vision – ECCV 2008*. Sous la dir. de David Forsyth, Philip Torr et Andrew Zisserman. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2008, p. 183-196. isbn : 978-3-540-88688-4. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-540-88688-4_14.

[166] Nobuyuki Otsu. “A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms”. In : *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics* 9.1 (1979), p. 62-66. doi : 10.1109/TSMC.1979.4310076.

[167] Hamadou Oumarou Hama et al. “Immunohistochemical diagnosis of human infectious diseases : a review”. In : *Diagnostic Pathology* 17.1 (2022), p. 17. issn : 1746-1596. doi : 10.1186/s13000-022-01197-5. url : https://doi.org/10.1186/s13000-022-01197-5.

[168] Georgios K. Ouzounis et Michael H.F. Wilkinson. “Hyperconnected Attribute Filters Based on k-Flat Zones”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 33.2 (2011), p. 224-239. doi : 10.1109/TPAMI.2010.74.

[169] Georgios K. Ouzounis et Michael H.F. Wilkinson. “Mask-Based Second Generation Connectivity and Attribute Filters”. In : *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.* 29 (juill. 2007), p. 990-1004. doi : 10.1109/TPAMI.2007.1045.

[170] Nicolas Passat, Julien Mendes Forte et Yukiko Kenmochi. “Morphological Hierarchies : A Unifying Framework with New Trees”. In : *Journal of Mathematical Imaging and Vision* 65.5 (2023), p. 718-753. doi : https://doi.org/10.1007/s10851-023-01154-x.

[171] Nicolas Passat et Benoît Naegel. “An extension of component-trees to partial orders”. In : *2009 16th IEEE International Conference on Image Processing (ICIP)*. 2009, p. 3981-3984. doi : 10.1109/ICIP.2009.5413807.

[172] Nicolas Passat et Benoît Naegel. “Component-Hypertrees for Image Segmentation”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Image and Signal Processing*. Sous la dir. de Pierre Soille, Martino Pesaresi et Georgios K. Ouzounis. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2011, p. 284-295. isbn : 978-3-642-21569-8. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-642-21569-8_25.

[173] Nicolas Passat et Benoît Naegel. “Component-Trees and Multivalued Images : Structural Properties”. In : *Journal of Mathematical Imaging and Vision* 49 (2014), p. 37-50. issn : 1573-7683. doi : 10.1007/s10851-013-0438-3. url : https://doi.org/10.1007/s10851-013-0438-3.

[174] Nicolas Passat, Benoît Naegel et Camille Kurtz. “Component-Graph Construction”. In : *Journal of Mathematical Imaging and Vision* 61.6 (2019), p. 798-823. issn : 1573-7683. doi : 10.1007/s10851-019-00872-5. url : https://doi.org/10.1007/s10851-019-00872-5.

[175] Nicolas Passat, Benoît Naegel et Camille Kurtz. “Implicit Component-Graph : A Discussion”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Jesús Angulo, Santiago Velasco-Forero et Fernand Meyer. Cham : Springer International Publishing, 2017, p. 235-248. isbn : 978-3-319-57240-6. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-319-57240-6_19.

[176] Pushpak Pati et al. “Hierarchical graph representations in digital pathology”. In : *Medical Image Analysis* 75 (2022), p. 102264. issn : 1361-8415. doi : https://doi.org/10.1016/j.media.2021.102264. url : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1361841521003091.

[177] Stavros J. Perantonis, Basilios Gatos et Nikos Papamarkos. “Block decomposition and segmentation for fast Hough transform evaluation”. In : *Pattern Recognition* 32.5 (jan. 1999), p. 811-824. doi : 10.1016/S0031-3203(98)00125-3.

[178] Benjamin Perret et Christophe Collet. “Connected image processing with multivariate attributes : An unsupervised Markovian classification approach”. In : *Computer Vision and Image Understanding* 133 (2015), p. 1-14. issn : 1077-3142. doi : https://doi.org/10.1016/j.cviu.2014.09.008. url : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1077314214001908.

[179] Benjamin Perret et al. “Directed Connected Operators : A symmetric Hierarchies for Image Filtering and Segmentation”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 37 (2015), p. 1162-1176.

[180] Benjamin Perret et al. “Higra : Hierarchical Graph Analysis”. In : *SoftwareX* 10 (2019), p. 100335. issn : 2352-7110. doi : https://doi.org/10.1016/j.softx.2019.100335. url : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S235271101930247X.

[181] Benjamin Perret et al. “Hyperconnections and Hierarchical Representations for Grayscale and Multiband Image Processing”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 21.1 (2012), p. 14-27. doi : 10.1109/TIP.2011.2161322.

[182] Romain Perrin et al. *L’arbre des coupes multi-échelles pour une meilleure représentation dans l’imagerie immunohistochimique multiplex*. Colloque Français d’Intelligence Artificielle en Imagerie Biomédicale (IABM). Poster. Mars 2024. url : https://hal.science/hal-04440939.

[183] Romain Perrin et al. “Multi-scale Component-Tree : A Hierarchical Representation for Sparse Objects”. In : *Discrete Geometry and Mathematical Morphology*. Sous la dir. de Sara Brunetti, Andrea Frosini et Simone Rinaldi. Cham : Springer Nature Switzerland, 2024, p. 312-324. isbn : 978-3-031-57793-2. doi : 10.1007/978-3-031-57793-2_24. url : https://doi.org/10.1007/978-3-031-57793-2_24.

[184] Romain Perrin et al. “Multi-Scale Component-Trees for Enhanced Representation in Multiplex Immunohistochemistry Imaging”. In : *2024 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI)*. 2024, p. 1-5. doi : 10.1109/ISBI56570.2024.10635272.

[185] Minh-Tan Pham, Erchan Aptoula et Sébastien Lefèvre. “Feature Profiles from Attribute Filtering for Classification of Remote Sensing Images”. In : *IEEE Journal of Selected Topics in Applied Earth Observations and Remote Sensing* 11.1 (2018), p. 249-256. doi : 10.1109/JSTARS.2017.2773367.

[186] Minh-Tan Pham, Sébastien Lefèvre et Erchan Aptoula. “Local Feature-Based Attribute Profiles for Optical Remote Sensing Image Classification”. In : *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing* PP (oct. 2017), p. 1-14. doi : 10.1109/TGRS.2017.2761402.

[187] Minh-Tan Pham, Sébastien Lefèvre et Erchan Aptoula. “Local Feature-Based Attribute Profiles for Optical Remote Sensing Image Classification”. In : *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing* 56.2 (2018), p. 1199-1212. doi : 10.1109/TGRS.2017.2761402.

[188] Fedde K. Potjer. “Region Adjacency Graphs and Connected Morphological Operators”. In : *Mathematical Morphology and its Applications to Image and Signal Processing*. Sous la dir. de Petros Maragos, Ronald W. Schafer et Muhammad Akmal Butt. Boston, MA : Springer US, 1996, p. 111-118. isbn : 978-1-4613-0469-2. doi : 10.1007/978-1-4613-0469-2_13. url : https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0469-2_13.

[189] Andrea J. Radtke et al. “IBEX : an iterative immunolabeling and chemical bleaching method for high-content imaging of diverse tissues”. In : *Nature Protocols* 17.2 (2022), p. 378-401. issn : 1750-2799. doi : 10.1038/s41596-021-00644-9. url : https://doi.org/10.1038/s41596-021-00644-9.

[190] Jimmy Francky Randrianasoa et al. “AGAT : Building and evaluating binary partition trees for image segmentation”. In : *SoftwareX* 16 (2021), p. 100855. issn : 2352-7110. doi : https://doi.org/10.1016/j.softx.2021.100855.

URL : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352711021001308.

[191] Jimmy Francky RANDRIANASOA et al. "Binary Partition Tree construction from multiple features for image segmentation". In : *Pattern Recognition* 84 (2018), p. 237-250. ISSN : 0031-3203. DOI : https://doi.org/10.1016/j.patcog.2018.07.003. URL : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031320318302358.

[192] Romain REMARK et al. "In-depth tissue profiling using multiplexed immunohistochemical consecutive staining on single slide". In : *Science Immunology* 1.1 (2016), aaf6925-aaf6925. DOI : 10.1126/sciimmunol.aaf6925. eprint : https://www.science.org/doi/pdf/10.1126/sciimmunol.aaf6925. URL : https://www.science.org/doi/abs/10.1126/sciimmunol.aaf6925.

[193] Olaf RONNEBERGER, Philipp FISCHER et Thomas BROX. "U-Net : Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation". In : *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2015*. Sous la dir. de Nassir NAVAB et al. Cham : Springer International Publishing, 2015, p. 234-241. ISBN : 978-3-319-24574-4. DOI : https://doi.org/10.1007/978-3-319-24574-4_28.

[194] Christian RONSE. "A Generalisation of Flat Morphology, II : Main Properties, Duality and Hybrid Operators". In : *Journal of Mathematical Imaging and Vision* 65.4 (2023), p. 657-685. ISSN : 1573-7683. DOI : 10.1007/s10851-023-01145-y. URL : https://doi.org/10.1007/s10851-023-01145-y.

[195] Christian RONSE. "Flat Morphological Operators on Arbitrary Power Lattices". In : *LNCS 2616 Geometry, Morphology, and Computational Imaging, 11th International Workshop on Theoretical Foundations of Computer Vision*. Dagstuhl Castle, Germany, 2003, p. 1-21.

[196] Christian RONSE. "Ordering Partial Partitions for Image Segmentation and Filtering : Merging, Creating and Inflating Blocks". In : *J. Math. Imaging Vis.* 49.1 (mai 2014), p. 202-233. ISSN : 0924-9907. DOI : 10.1007/s10851-013-0455-2. URL : https://doi.org/10.1007/s10851-013-0455-2.

[197] Christian RONSE. "Partial Partitions, Partial Connections and Connective Segmentation". In : *Journal of Mathematical Imaging and Vision* 32 (2 2008), p. 97-125. ISSN : 1573-7683. DOI : 10.1007/s10851-008-0090-5. URL : https://doi.org/10.1007/s10851-008-0090-5.

[198] Christian Ronse. “Set-Theoretical Algebraic Approaches to Connectivity in Continuous or Digital Spaces”. In : *Journal of Mathematical Imaging and Vision* 8 (1 1998), p. 41-58. ISSN : 1573-7683. DOI : 10.1023/A:1008210216583. URL : https://doi.org/10.1023/A:1008210216583.

[199] Azriel Rosenfeld. “Adjacency in digital pictures”. In : *Information and Control* 26.1 (1974), p. 24-33. ISSN : 0019-9958. DOI : https://doi.org/10.1016/S0019-9958(74)90696-2. URL : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0019995874906962.

[200] Michael H. Ross et Wojciech Pawlina. *Histology : A Text and Atlas : with Correlated Cell and Molecular Biology*. Online access : Lippincott LWW Health Library : Integrated Basic Sciences Collection. Wolters Kluwer Health, 2016. ISBN : 9781451187427. URL : https://books.google.gr/books?id=A7zooQEACAAJ.

[201] 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.

[202] Jiwoo Ryu, Scott C. Trager et Michael H. F. Wilkinson. “A Fast Alpha-Tree Algorithm for Extreme Dynamic Range Pixel Dissimilarities”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 46.5 (2024), p. 3199-3212. DOI : 10.1109/TPAMI.2023.3341721.

[203] Philippe Salembier et Samuel Foucher. “Optimum Graph Cuts for Pruning Binary Partition Trees of Polarimetric SAR Images”. In : *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing* 54.9 (2016), p. 5493-5502. DOI : 10.1109/TGRS.2016.2566581.

[204] Philippe Salembier et Luis Garrido. “Binary partition tree as an efficient representation for image processing, segmentation, and information retrieval”. In : *Trans. Img. Proc.* 9.4 (avr. 2000), p. 561-576. ISSN : 1057-7149. DOI : 10.1109/83.841934. URL : https://doi.org/10.1109/83.841934.

[205] Philippe Salembier, Albert Oliveras et Luis Garrido. “Antiextensive connected operators for image and sequence processing”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 7.4 (1998), p. 555-570. DOI : 10.1109/83.663500.

[206] Philippe Salembier et Jean Serra. “Flat zones filtering, connected operators, and filters by reconstruction”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 4.8 (1995), p. 1153-1160. DOI : 10.1109/83.403422.

[207] Philippe Salembier et Michael H.F. Wilkinson. “Connected Operators : A review of region-based morphological image processing techniques”. English. In : *Ieee signal processing magazine* 26.6 (nov. 2009). Relation : http ://www.rug.nl/informatica/onderzoek/bernoulli Rights : University of Groningen, Johann Bernoulli Institute for Mathematics and Computer Science, p. 136-157. issn : 1053-5888. doi : 10.1109/MSP.2009.934154.

[208] Johannes Schindelin et al. “Fiji : an open-source platform for biological-image analysis”. In : *Nature Methods* 9.7 (2012), p. 676-682. issn : 1548-7105. doi : 10.1038/nmeth.2019. url : https://doi.org/10.1038/nmeth.2019.

[209] Jean-Louis Schlienger. “Le pancréas au fil des siècles”. In : *Médecine des Maladies Métaboliques* 16.5 (2022). Dénutrition, p. 467-472. issn : 1957-2557. doi : https://doi.org/10.1016/j.mmm.2022.04.001. url : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1957255722001122.

[210] Uwe Schmidt et al. “Cell Detection with Star-Convex Polygons”. In : *Medical Image Computing and Computer Assisted Intervention – MICCAI 2018*. Sous la dir. d’Alejandro F. Frangi et al. Cham : Springer International Publishing, 2018, p. 265-273. isbn : 978-3-030-00934-2. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-030-00934-2_30.

[211] Manfred Schwab. *Encyclopedia of Cancer*. Encyclopedia of Cancer. Springer Berlin Heidelberg, 2008. isbn : 9783540368472.

[212] Jean Serra. “A Lattice Approach to Image Segmentation”. In : *Journal of Mathematical Imaging and Vision* 24 (1 2006), p. 83-130. issn : 1573-7683. doi : 10.1007/s10851-005-3616-0. url : https://doi.org/10.1007/s10851-005-3616-0.

[213] Jean Serra. “Connectivity on Complete Lattices”. In : *Journal of Mathematical Imaging and Vision* 9.3 (1998), p. 231-251. issn : 1573-7683. doi : 10.1023/A:1008324520475. url : https://doi.org/10.1023/A:1008324520475.

[214] Jean Serra. *Image Analysis and Mathematical Morphology, Vol. 2 : Theoretical Advances*. 2e éd. London : Academic Press, 1988.

[215] Jean Serra et al. “Mathematical morphology for Boolean lattices”. In : *Image Analysis and Mathematical Morphology, II : Theoretical Advances* (1988), p. 37-58.

[216] Jean Serra et Philippe Salembier. “Connected operators and pyramids”. In : *Image Algebra and Morphological Image Processing IV*. Sous la dir. d’Edward R. Dougherty, Paul D. Gader et Jean C. Serra. International Society for Optics et Photonics. SPIE, 1993, p. 65-76. doi : 10.1117/12.146672. url : https://doi.org/10.1117/12.146672.

[217] Wenjie Sheng et al. “Multiplex Immunofluorescence : A Powerful Tool in Cancer Immunotherapy”. In : *International Journal of Molecular Sciences* 24.4 (2023). issn : 1422-0067. doi : 10.3390/ijms24043086. url : https://www.mdpi.com/1422-0067/24/4/3086.

[218] Mara H. Sherman et Gregory L. Beatty. “Tumor Microenvironment in Pancreatic Cancer Pathogenesis and Therapeutic Resistance”. In : *Annual Review of Pathology : Mechanisms of Disease* 18.Volume 18, 2023 (2023), p. 123-148. issn : 1553-4014. doi : https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-031621-024600. url : https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-pathmechdis-031621-024600.

[219] Jianbo Shi et Jitendra Malik. “Normalized cuts and image segmentation”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 22.8 (2000), p. 888-905. doi : 10.1109/34.868688.

[220] Korsuk Sirinukunwattana et al. “Locality Sensitive Deep Learning for Detection and Classification of Nuclei in Routine Colon Cancer Histology Images”. In : *IEEE Transactions on Medical Imaging* 35.5 (2016), p. 1196-1206. doi : 10.1109/TMI.2016.2525803.

[221] Pierre Soille. “Constrained connectivity for hierarchical image partitioning and simplification”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 30.7 (2008), p. 1132-1145. doi : 10.1109/TPAMI.2007.70817.

[222] Pierre Soille. “Constrained connectivity for the processing of very-high-resolution satellite images”. In : *International Journal of Remote Sensing* 31.22 (2010), p. 5879-5893. doi : 10.1080/01431161.2010.512622. eprint : https://doi.org/10.1080/01431161.2010.512622. url : https://doi.org/10.1080/01431161.2010.512622.

[223] Pierre Soille. *Morphological Image Analysis : Principles and Applications*. 2e éd. Berlin, Heidelberg : Springer-Verlag, 2003. isbn : 3540429883.

[224] Pierre Soille. “On Genuine Connectivity Relations Based on Logical Predicates”. In : *14th International Conference on Image Analysis and Processing (ICIAP 2007)*. 2007, p. 487-492. doi : 10.1109/ICIAP.2007.4362825.

[225] Pierre Soille. “Preventing Chaining through Transitions While Favouring It within Homogeneous Regions”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Image and Signal Processing*. Sous la dir. de Pierre Soille, Martino Pesaresi et Georgios K. Ouzounis. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2011, p. 96-107. isbn : 978-3-642-21569-8. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-642-21569-8_9.

[226] Pierre Soille et Jacopo Grazzini. “Constrained Connectivity and Transition Regions”. In : *Proceedings of the 9th International Symposium on Mathematical Morphology and Its Application to Signal and Image Processing*. ISMM ’09. Groningen, The Netherlands : Springer-Verlag, 2009, p. 59-69. isbn : 9783642036125. doi : 10.1007/978-3-642-03613-2_6. url : https://doi.org/10.1007/978-3-642-03613-2_6.

[227] Pierre Soille et Laurent Najman. “On Morphological Hierarchical Representations for Image Processing and Spatial Data Clustering”. In : *Applications of Discrete Geometry and Mathematical Morphology*. Sous la dir. d’Ullrich Köthe, Annick Montanvert et Pierre Soille. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2012, p. 43-67. isbn : 978-3-642-32313-3. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-642-32313-3_4.

[228] Pierre Soille et Laurent Najman. *On Morphological Hierarchical Representations for Image Processing and Spatial Data Clustering*. T. 7346. Berlin (Germany) : Springer : Berlin/Heidelberg, 2012, p. 43-67. isbn : 978-3-642-32312-6. doi : 10.1007/978-3-642-32313-3_4. url : http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-32313-3_4.

[229] Andrés Solé et al. “Morse description and geometric encoding of DEM data”. In : *Proceedings 2003 International Conference on Image Processing (Cat. No.03CH37429)*. T. 2. 2003, p. II-235. doi : 10.1109/ICIP.2003.1246660.

[230] Yuqing Song. “A Topdown Algorithm for Computation of Level Line Trees”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 16.8 (2007), p. 2107-2116. doi : 10.1109/TIP.2007.899616.

[231] Yuqing Song et Aidong Zhang. “Analyzing scenery images by monotonic tree”. In : *Multimedia Systems* 8 (2003), p. 495-511. issn : 1432-1882. doi : 10.1007/s00530-002-0067-y. url : https://doi.org/10.1007/s00530-002-0067-y.

[232] Yuqing Song et Aidong Zhang. “Monotonic Tree”. In : *Discrete Geometry for Computer Imagery*. Sous la dir. d’Achille Braquelaire, Jacques-Olivier Lachaud et Anne Vialard. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2002, p. 114-123. isbn : 978-3-540-45986-6.

[233] Edward C. Stack et al. “Multiplexed immunohistochemistry, imaging, and quantitation : A review, with an assessment of Tyramide signal amplification, multispectral imaging and multiplex analysis”. In : *Methods* 70.1 (2014). Advancing the boundaries of molecular cellular pathology, p. 46-58. issn : 1046-2023. doi : https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.08.016. url : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1046202314002837.

[234] Alan Stevens. “The Haematoxylins.” In : *Theory and Practice of Histological Techniques*. Sous la dir. de John D. Bancroft et Alan Stevens. Longman Group. London, 1982, p. 109-122.

[235] Carsen Stringer et al. “Cellpose : a generalist algorithm for cellular segmentation”. In : *Nature Methods* 18.1 (2021), p. 100-106. issn : 1548-7105. doi : 10.1038/s41592-020-01018-x. url : https://doi.org/10.1038/s41592-020-01018-x.

[236] Felipe Petroski Such et al. “Robust Spatial Filtering With Graph Convolutional Neural Networks”. In : *IEEE Journal of Selected Topics in Signal Processing* 11.6 (2017), p. 884-896. doi : 10.1109/JSTSP.2017.2726981.

[237] Mookund Sureka et al. “Visualization for Histopathology Images using Graph Convolutional Neural Networks”. In : *2020 IEEE 20th International Conference on Bioinformatics and Bioengineering (BIBE)*. 2020, p. 331-335. doi : 10.1109/BIBE50027.2020.00060.

[238] Wilbert Tabone et al. “Alpha-tree segmentation of human anatomical photographic imagery”. In : *Proceedings of the 2nd International Conference on Applications of Intelligent Systems*. APPIS ’19. Las Palmas de Gran Canaria, Spain : Association for Computing Machinery, 2019. isbn : 9781450360852. doi : 10.1145/3309772.3309776. url : https://doi.org/10.1145/3309772.3309776.

[239] Mingxing Tan et Quoc Le. “EfficientNet : Rethinking Model Scaling for Convolutional Neural Networks”. In : *Proceedings of the 36th International Conference on Machine Learning*. Sous la dir. de Kamalika Chaudhuri et Ruslan Salakhutdinov. T. 97. Proceedings of Machine Learning Research. PMLR, 2019, p. 6105-6114. url : https://proceedings.mlr.press/v97/tan19a.html.

[240] Mingxing TAN, Ruoming PANG et Quoc V. LE. “EfficientDet : Scalable and Efficient Object Detection”. In : *2020 IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*. 2020, p. 10778-10787. DOI : 10.1109/CVPR42600.2020.01079.

[241] Wei Chang Colin TAN et al. “Overview of multiplex immunohistochemistry/immunofluorescence techniques in the era of cancer immunotherapy”. In : *Cancer Communications* 40.4 (2020), p. 135-153. DOI : https://doi.org/10.1002/cac2.12023. eprint : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/cac2.12023. URL : https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cac2.12023.

[242] Steve TANIMOTO et Theo PAVLIDIS. “A hierarchical data structure for picture processing”. In : *Computer Graphics and Image Processing* 4.2 (1975), p. 104-119. ISSN : 0146-664X. DOI : https://doi.org/10.1016/S0146-664X(75)80003-7. URL : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0146664X75800037.

[243] Robert Endre TARJAN. “Efficiency of a Good But Not Linear Set Union Algorithm”. In : *J. ACM* 22.2 (avr. 1975), p. 215-225. ISSN : 0004-5411. DOI : 10.1145/321879.321884. URL : https://doi.org/10.1145/321879.321884.

[244] Paul TEENINGA et al. “Improved Detection of Faint Extended Astronomical Objects Through Statistical Attribute Filtering”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Jón Atli BENEDIKTSSON et al. Cham : Springer International Publishing, 2015, p. 157-168. ISBN : 978-3-319-18720-4. DOI : https://doi.org/10.1007/978-3-319-18720-4_14.

[245] Michael TITFORD. “Progress in the Development of Microscopical Techniques for Diagnostic Pathology”. In : *Journal of Histotechnology* 32.1 (2009), p. 9-19. DOI : 10.1179/his.2009.32.1.9. eprint : https://doi.org/10.1179/his.2009.32.1.9. URL : https://doi.org/10.1179/his.2009.32.1.9.

[246] Guillaume TOCHON et al. “Object Tracking by Hierarchical Decomposition of Hyperspectral Video Sequences : Application to Chemical Gas Plume Tracking”. In : *IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing* 55.8 (2017), p. 4567-4585. DOI : 10.1109/TGRS.2017.2694159.

[247] Guillaume TOCHON et al. “On the use of binary partition trees for the tree crown segmentation of tropical rainforest hyperspectral images”. In : *Remote Sensing of Environment* 159 (2015), p. 318-331. ISSN : 0034-4257. DOI : 10.1016/j.rse.2014.12.020.

[248] Marta Truffi, Luca Sorrentino et Fabio Corsi. “Fibroblasts in the Tumor Microenvironment”. In : *Tumor Microenvironment : Non-Hematopoietic Cells*. Sous la dir. d’Alexander Birbrair. Cham : Springer International Publishing, 2020, p. 15-29. isbn : 978-3-030-37184-5. doi : 10.1007/978-3-030-37184-5_2. url : https://doi.org/10.1007/978-3-030-37184-5_2.

[249] Florence Tushabe et Michael H.F. Wilkinson. “Image Preprocessing for Compression : Attribute Filtering”. In : *Lecture Notes in Engineering and Computer Science* 2167 (oct. 2007).

[250] Jasper R.R. Uijlings et al. “Selective Search for Object Recognition”. In : *International Journal of Computer Vision* 104 (2 2013), p. 154-171. issn : 1573-1405. doi : 10.1007/s11263-013-0620-5. url : https://doi.org/10.1007/s11263-013-0620-5.

[251] Erik R. Urbach. “Intelligent Object Detection Using Trees”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Jón Atli Benediktsson et al. Cham : Springer International Publishing, 2015, p. 289-300. isbn : 978-3-319-18720-4. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-319-18720-4_25.

[252] Erik R. Urbach, Jos B.T.M. Roerdink et Michael H.F. Wilkinson. “Connected Shape-Size Pattern Spectra for Rotation and Scale-Invariant Classification of Gray-Scale Images”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 29.2 (2007), p. 272-285. doi : 10.1109/TPAMI.2007.28.

[253] Erik R. Urbach et Michael H.F. Wilkinson. “Shape-Only Granulometries and Grey-Scale Shape Filters”. In : jan. 2002, p. 305-314.

[254] Valentina Vadori et al. “Revealing Cortical Layers in Histological Brain Images with Self-Supervised Graph Convolutional Networks Applied to Cell-Graphs”. In : *2024 IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI)*. 2024, p. 1-5. doi : 10.1109/ISBI56570.2024.10635252.

[255] Silvia Valero, Philippe Salembier et Jocelyn Chanussot. “Comparison of merging orders and pruning strategies for Binary Partition Tree in hyperspectral data”. In : *2010 IEEE International Conference on Image Processing*. 2010, p. 2565-2568. doi : 10.1109/ICIP.2010.5652595.

[256] Silvia Valero, Philippe Salembier et Jocelyn Chanussot. “Object recognition in hyperspectral images using Binary Partition Tree representation”. In : *Pattern Recognition Letters* 56 (2015), p. 45-51. issn : 0167-8655. doi : https://doi.org/10.1016/j.patrec.2015.01.003. url : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167865515000215.

[257] David A. Van Valen et al. “Deep Learning Automates the Quantitative Analysis of Individual Cells in Live-Cell Imaging Experiments”. In : *PLoS Comput Biol* 12.11 (2016), e1005177. URL : https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005177.

[258] Claudia Vanea et al. “Mapping cell-to-tissue graphs across human placenta histology whole slide images using deep learning with HAPPY”. In : *Nature Communications* 15.1 (2024), p. 2710. ISSN : 2041-1723. DOI : 10.1038/s41467-024-46986-2. URL : https://doi.org/10.1038/s41467-024-46986-2.

[259] Miguel A. Veganzones et al. “Hyperspectral Image Segmentation Using a New Spectral Unmixing-Based Binary Partition Tree Representation”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 23.8 (2014), p. 3574-3589. DOI : 10.1109/TIP.2014.2329767.

[260] Petar Veličković et al. “Graph Attention Networks”. In : *International Conference on Learning Representations* (2018). URL : https://openreview.net/forum?id=rJXMpikCZ.

[261] Ruben Verloy et al. “Cold Atmospheric Plasma Treatment for Pancreatic Cancer–The Importance of Pancreatic Stellate Cells”. In : *Cancers* 12.10 (2020). ISSN : 2072-6694. DOI : 10.3390/cancers12102782. URL : https://www.mdpi.com/2072-6694/12/10/2782.

[262] Martin Vetterli et Jelena Kovacevic. “Wavelets and Subband Coding”. In : *Prentice Hall Signal Processing Series*. 2013. URL : https://api.semanticscholar.org/CorpusID:10506924.

[263] Alla Vichik, Renato Keshet et David Malah. “Self-dual morphology on tree semilattices and applications.” In : *Proceedings of the 8th International Symposium on Mathematical Morphology ISMM*. 2007, p. 49-60.

[264] Verónica Vilaplana, Ferran Marqués et Philippe Salembier. “Binary Partition Trees for Object Detection”. In : *IEEE Transactions on Image Processing* 17 (déc. 2008), p. 2201-2216. DOI : 10.1109/TIP.2008.2002841.

[265] Luc M. Vincent et Pierre Soille. “Watersheds in Digital Spaces : An Efficient Algorithm Based on Immersion Simulations”. In : *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.* 13 (1991), p. 583-598. URL : https://api.semanticscholar.org/CorpusID:15436061.

[266] Michel A. Westenberg, Jos B.T.M. Roerdink et Michael H.F. Wilkinson. "Volumetric Attribute Filtering and Interactive Visualization Using the Max-Tree Representation". In : *IEEE Trans. Image Process.* 16.12 (2007), p. 2943-2952. doi : 10.1109/TIP.2007.909317. url : https://doi.org/10.1109/TIP.2007.909317.

[267] Michael H.F. Wilkinson. "A fast component-tree algorithm for high dynamic-range images and second generation connectivity". In : *2011 18th IEEE International Conference on Image Processing*. 2011, p. 1021-1024. doi : 10.1109/ICIP.2011.6115597.

[268] Michael H.F. Wilkinson et Michel A. Westenberg. "Shape Preserving Filament Enhancement Filtering". In : *MICCAI*. 2001, p. 770-777. isbn : "978-3-540-45468-7". doi : https://doi.org/10.1007/3-540-45468-3_92.

[269] Dietrich Wittekind. "Traditional staining for routine diagnostic pathology including the role of tannic acid. 1. Value and limitations of the hematoxylin-eosin stain". In : *Biotechnic & Histochemistry* 78.5 (2003), p. 261-270. doi : 10.1080/10520290310001633725. eprint : https://doi.org/10.1080/10520290310001633725. url : https://doi.org/10.1080/10520290310001633725.

[270] Yongchao Xu, Thierry Géraud et Laurent Najman. "Context-based energy estimator : Application to object segmentation on the tree of shapes". In : *2012 19th IEEE International Conference on Image Processing*. 2012, p. 1577-1580. doi : 10.1109/ICIP.2012.6467175.

[271] Yongchao Xu, Thierry Géraud et Laurent Najman. "Hierarchical image simplification and segmentation based on Mumford–Shah-salient level line selection". In : *Pattern Recognition Letters* 83 (2016). Efficient Shape Representation, Matching, Ranking, and its Applications, p. 278-286. issn : 0167-8655. doi : https://doi.org/10.1016/j.patrec.2016.05.006. url : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167865516300848.

[272] Yongchao Xu, Thierry Géraud et Laurent Najman. "Morphological filtering in shape spaces : Applications using tree-based image representations". In : *Proceedings of the 21st International Conference on Pattern Recognition, ICPR 2012, Tsukuba, Japan, November 11-15, 2012*. IEEE Computer Society, 2012, p. 485-488. url : https://ieeexplore.ieee.org/document/6460177/.

[273] Yongchao Xu et al. "Tree-Based Morse Regions : A Topological Approach to Local Feature Detection". In : *IEEE Transactions on Image Processing* 23.12 (2014), p. 5612-5625. doi : 10.1109/TIP.2014.2364127.

[274] Yongchao. Xu, Thierry Géraud et Laurent Najman. “Connected Filtering on Tree-Based Shape-Spaces”. In : *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 38.6 (2016), p. 1126-1140. doi : 10.1109/TPAMI.2015.2441070.

[275] Clarence Yapp et al. “UnMICST : Deep learning with real augmentation for robust segmentation of highly multiplexed images of human tissues”. In : *Communications Biology* 5.1 (2022), p. 1263. issn : 2399-3642. doi : 10.1038/s42003-022-04076-3. url : https://doi.org/10.1038/s42003-022-04076-3.

[276] Jiwoo You, Scott C. Trager et Michael H.F. Wilkinson. “A Fast, Memory-Efficient Alpha-Tree Algorithm Using Flooding and Tree Size Estimation”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Bernhard Burgeth et al. Cham : Springer International Publishing, 2019, p. 256-267. isbn : 978-3-030-20867-7. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-030-20867-7_20.

[277] Zitao Zeng et al. “RIC-Unet : An Improved Neural Network Based on Unet for Nuclei Segmentation in Histology Images”. In : *IEEE Access* 7 (2019), p. 21420-21428. doi : 10.1109/ACCESS.2019.2896920.

[278] Wenjun Zhang et al. “Fully automated 5-plex fluorescent immunohistochemistry with tyramide signal amplification and same species antibodies”. In : *Laboratory Investigation* 97.7 (2017), p. 873-885. issn : 0023-6837. doi : 10.1038/labinvest.2017.37. url : https://doi.org/10.1038/labinvest.2017.37.

[279] Xiaoxuan Zhang et Michael H. F. Wilkinson. “Preventing Chaining in Alpha-Trees Using Gabor Filters”. In : *Mathematical Morphology and Its Applications to Signal and Image Processing*. Sous la dir. de Bernhard Burgeth et al. Cham : Springer International Publishing, 2019, p. 268-280. isbn : 978-3-030-20867-7. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-030-20867-7_21.

[280] Mohammed Zidane et al. “A review on deep learning applications in highly multiplexed tissue imaging data analysis”. In : *Front Bioinform* 26.3 (juill. 2023), p. 1159381. doi : 10.3389/fbinf.2023.1159381.

[281] 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. doi : 10.1007/s10044-020-00951-z. url : https://doi.org/10.1007/s10044-020-00951-z.

[282] Karel Zuiderveld. “Contrast limited adaptive histogram equalization”. In : *Graphics Gems IV*. USA : Academic Press Professional, Inc., 1994, p. 474-485. isbn : 0123361559.

[283] Hasib Zunair et Abdessamad Ben Hamza. “Sharp U-Net : Depthwise convolutional network for biomedical image segmentation”. In : *Computers in Biology and Medicine* 136 (2021), p. 104699. issn : 0010-4825. doi : https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2021.104699. url : https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010482521004935.

Université de Strasbourg

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

msii ÉCOLE DOCTORALE

Résumé

La **morphologie mathématique** fournit des outils de traitement de l'image qui considèrent les images comme étant composées de **régions connexes** comportant des caractéristiques communes. Les structures dites **hiérarchiques** représentent les images sous la forme d'**arbres des composantes connexes**. Ces structures ont néanmoins une limitation commune. Une image naturelle de grande taille n'est généralement composée d'objets d'intérêt ne représentant qu'une faible proportion des pixels de celle-ci. Or les modèles existants représentent tous les pixels à la **même échelle**.

Dans cette thèse, nous définissons une nouvelle structure hiérarchique baptisée **arbres des coupes multi-échelles** inspirée de l'arbre des coupes. Elle constitue une représentation multi-échelles de l'image sur le plan **spatial** en permettant aux nœuds de l'arbre de comporter des **pixels à différentes échelles**. Nous illustrons cette nouvelle structure sur des tâches de **segmentation** et de **classification** cellulaire sur des images histologiques (*multiplex*).

Mots-clefs : morphologie mathématique, structures hiérarachiques, arbre des coupes, histologie, segmentation, classification, multiplexing

Summary

Mathematical morphology provides image processing tools which consider the images as being composed of **connected regions** having common features. Structures labelled **hierarchical** represent the images as being **trees of connected components**. Nevertheless, these structures have a common limitation. A large natural image is generally composed of objects of interest representing only a small proportion of all the pixels contained in the image. However, the existing models represent all pixels at the **same scale**.

In this thesis, we define a **new hierarchical structure** called the **multi-scale component-tree** inspired by the regular component-tree. This structure is a **spatial** multi-scale representation of an image by allowing each node of the tree to contain **pixels at different scales**. We illustrate this new structure by tackling both cell **segmentation** and **classification** tasks on (*multiplex*) histological images.

Keywords : mathematical morphology, hierarchical structures, component tree, histology, segmentation, classification, multiplexing