HAL
open science

Restauration d'images de noyaux cellulaires en microscopie 3D par l'introduction de connaissance a priori

Mathieu Bouyrie

▶ **To cite this version:**

Mathieu Bouyrie. Restauration d'images de noyaux cellulaires en microscopie 3D par l'introduction de connaissance a priori. Informatique et langage [cs.CL]. Université Paris Saclay (COmUE), 2016. Français. NNT : 2016SACLA032 . tel-02371220

HAL Id: tel-02371220

https://theses.hal.science/tel-02371220v1

Submitted on 19 Nov 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

NNT : 2016SACLA032

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay préparée à AgroParisTech

École Doctorale N°581

Agriculture Alimentation Biologie Environnement et Santé

Spécialité Informatique Appliquée

Par

M. BOUYRIE Mathieu

Restauration d'images de noyaux cellulaires en microscopie 3D par l'introduction de connaissance a priori

Thèse présentée et soutenue à PARIS, le 29 Novembre 2016

Composition du Jury :

Pr.	ATIF Jamal	Professeur	Univ. Paris-Dauphine	Rapporteur
Dr.	BOUDIER Thomas	MC	Univ. Pierre et Marie Curie	Rapporteur
Pr.	FADILI Jalal	Professeur	ENSICAEN	Président
Pr.	GUYON Isabelle	Professeur	Univ. Paris Sud	Examinatrice
Dr.	LORENZO Corinne	CR	ITAV - CNRS	Examinatrice
Pr.	CORNUÉJOLS Antoine	Professeur	AgroParisTech	Co-directeur
Dr.	PEYRIÉRAS Nadine	DR	BioEmergences - CNRS	Co-directrice

Glossaire

Méthodes et Acronymes

BM3D (part. 3.2.3, p. 42)	:	*Block Matching 3D*.
CANDLE (part. 3.3.2, p. 48)	:	*Collaborative Approach for eNhanced Denoising under Low-light Excitation*.
DOG (part. 5.3.2, p. 95)	:	*Difference Of Gaussians*, Différence de Gaussiennes.
DUDE (part. 3.2.5, p. 45)	:	*Discrete Universal DEnoiser*.
EDP (part. 3.3.1, p. 46)	:	Equation aux Dérivées Partielles.
HT (eq. 3.13, p. 34)	:	*Hard Tresholding* , Seuillage Dur.
IUWT (part. 3.4.1, p. 52)	:	*Isotropic Undecimated Wavelet Transform*, Transformée Non Décimée en Ondelettes Isotropes.
MPG (part. 2.6, p. 15)	:	Bruit Mixe Poisson-Gaussien.
MSVST (part. 3.4.3, p. 59)	:	*MultiScale Variance Stabilizing Transform*, Stabilisation de Variance Multi-Echelle.
NLM (part. 3.2.2, p. 41)	:	*Non Local Mean*, Moyennes Non Locales.
PMT (part. 2.4.1, p. 12)	:	*PhotoMultpiplier Tube*, Tube Photo-Multiplicateur.
SNR (part. 5.3.1, p. 94)	:	*Signal-To-Noise-Ratio*, Rapport-Signal-Sur-Bruit.
ST (eq. 3.12, p. 34)	:	*Soft Tresholding*, Seuillage Doux.
TV (part. 3.1.3, p. 31)	:	*Total Variation*, Variation Totale
UINTA (part. 3.2.4, p. 43)	:	*Unsupervised Information-Theoretic Adaptive Filtering*.
Voxel (part. 2.5, p. 15)	:	*Volume Pixel*, Pixel 3D.
Xlets (part. 3.1.4, p. 33)	:	Termes générique faisant référence à tout type d'opérateur multi-échelle, dérivé des ondelettes.

Opérateurs Mathématiques

Dans ce document, u est la donnée. Quand nous utiliserons des algorithmes de restauration, nous noterons le résultat $\tilde{u}$, l'image débruitée.

— Les images que nous manipulerons seront 2D ou 3D ; chaque pixel sera référencé, en fonction, par 2 ou 3 entiers. Nous utiliserons la notation $u(i_x, i_y)$ (pour la 2D) ou $u(i_x, i_y, i_z)$ (pour la 3D) pour indexer ces pixels. La coordonnée $\underline{i}$ désigne le set (i_x, i_y) (pour la 2D) ou (i_x, i_y, i_z) (pour la 3D). $\underline{i}$ est défini pour l'ensemble des coordonées spatiales de l'image. On notera $\mathcal{U}$ cet ensemble.

— $\mathcal{P}$ désigne l'opérateur qui prend en argument un réel λ et qui renvoie une variable aléatoire qui suit une loi de Poisson de paramètre λ.

— $\mathcal{N}$ désigne l'opérateur qui prend en argument deux réels μ et σ, et qui renvoie la distribution normale de centre μ et de variance σ^2.

— Le symbole $\sharp$ désigne le cardinal d'un ensemble. Par exemple $\sharp(\mathcal{U})$ est le nombre de pixels/voxels d'une image.

— Si F est une fonction quelconque, $\mathrm{dom}(F)$ est son ensemble de définition.

— La dimension d'un espace vectoriel est donnée par l'opérateur dim.

— L'ensemble des images possibles est généralement un sous ensemble de $l_\infty(\mathcal{U})$, qui est l'ensemble des fonctions d'intensité finie sur $\mathcal{U}$.

— À partir d'une image il est possible de définir l'opérateur discret du gradient ∇ de l'image qui renvoie 3 images ($\partial_x u$, $\partial_y u$, $\partial_z u$) :

$$\begin{aligned}
\nabla u &= (\partial_x u, \partial_y u, \partial_z u) \\
(\partial_x u)_{\underline{i}} &= u(i_x + 1, i_y, i_z) - u(i_x, i_y, i_z) \\
(\partial_y u)_{\underline{i}} &= u(i_x, i_y + 1, i_z) - u(i_x, i_y, i_z) \\
(\partial_z u)_{\underline{i}} &= u(i_x, i_y, i_z + 1) - u(i_x, i_y, i_z)
\end{aligned} \tag{1}$$

— Nous pouvons aussi définir l'opérateur discret de la divergence, ∇^T qui, à partir de 3 images (u_x, u_y, u_z), renvoie :

$$\begin{aligned}
\nabla^T(u_x, u_y, u_z) &= (\partial_x^T u_x) + (\partial_y^T u_y) + (\partial_z^T u_z) \\
(\partial_x^T u)_{\underline{i}} &= u(i_x, i_y, i_z) - u(i_x - 1, i_y, i_z) \\
(\partial_y^T u)_{\underline{i}} &= u(i_x, i_y, i_z) - u(i_x, i_y - 1, i_z) \\
(\partial_z^T u)_{\underline{i}} &= u(i_x, i_y, i_z) - u(i_x, i_y, i_z - 1)
\end{aligned} \tag{2}$$

— La norme du gradient appliqué à une image est donnée par :

$$|\nabla u|_{\underline{i}} = \sqrt{(\partial_x u)_{\underline{i}}^2 + (\partial_z u)_{\underline{i}}^2 + (\partial_z u)_{\underline{i}}^2} \tag{3}$$

— Soit deux images u et u', nous pouvons définir divers opérateurs

◇ Le produit scalaire entre les deux images

$$\langle u, u' \rangle = \sum_{\underline{i} \in \mathcal{U}} u_{\underline{i}} u'_{\underline{i}} \tag{4}$$

◇ Les opérations terme à terme : la somme $\oplus$, la différence $\ominus$, et le produit $\otimes$, et la division $\oslash$:

$$(u \oplus u')_{\underline{i}} = u_{\underline{i}} + u'_{\underline{i}} \tag{5}$$

$$(u \ominus u')_{\underline{i}} = u_{\underline{i}} - u'_{\underline{i}} \tag{6}$$

$$(u \otimes u')_{\underline{i}} = \ u_{\underline{i}} \ \ u'_{\underline{i}} \tag{7}$$

$$(u \oslash u')_{\underline{i}} = u_{\underline{i}} \ / \ u'_{\underline{i}} \tag{8}$$

$$\tag{9}$$

◇ La norme 2 d'une image :

$$\|u\|_2 = \sqrt{\sum_{\underline{i} \in \mathcal{U}} u_{\underline{i}}^2} \tag{10}$$

◇ La norme 1 d'une image :

$$\|u\|_1 = \sum_{\underline{i} \in \mathcal{U}} |u_{\underline{i}}| \tag{11}$$

◇ La norme 0 comme le nombre de voxels/pixels non nuls de l'image.

Table des matières

1 Introduction **1**

1.1 Problématique : débruiter des images de deux-photons 3

1.1.1 Caractéristique des images traitées 4

1.1.2 Les contraintes de la méthode 5

1.1.3 La littérature en débruitage d'image 6

1.1.4 Méthode proposée 6

1.2 Déroulement du document 7

2 De l'embryon à l'image **9**

2.1 Principe de la microscopie à balayage laser 9

2.2 La fluorescence 9

2.3 Le faisceau d'excitation 11

2.4 Le marquage fluorescent 11

2.4.1 Le Tube Photo-Multiplicateur 12

2.5 Modélisation d'une image 15

2.6 Modélisation du bruit par une loi de type Mixe Poisson Gaussienne . . . 15

2.6.1 Cas du PMT classique 17

2.6.2 Cas du PMT hybride 22

3 Analyse de l'évolution des différents courants en débruitage d'image et mise en lien avec l'application à la microscopie 3D **25**

3.1 Les débuts du débruitage : des corrélations de voisinage 27

3.1.1 Les premières méthodes de débruitage 27

3.1.2 Les méthodes par Équation aux Dérivées Partielles (EDP) 31

3.1.3 La Variation Totale 31

3.1.4 Les opérateurs de type ondelette 33

3.2 Des méthodes locales aux méthodes globales 37

3.2.1 Du modèle ondelettes à l'apprentissage de dictionnaires 37

3.2.2 L'algorithme Non Local Mean 41

3.2.3 L'algorithme Block Matching 3D 42
3.2.4 L'algorithme UINTA 43
3.2.5 L'algorithme DUDE 45
3.3 Les méthodes exportées à l'imagerie microscopique 3D 46
3.3.1 Les méthodes locales 46
3.3.2 Les méthodes non locales 47
3.4 Thèse et sa justification : choix de la méthode sur les images de noyaux . 50
3.4.1 La Transformée Non Décimée en Ondelettes Isotropes 52
3.4.2 Construction des filtres $h^{(j)}$ 55
3.4.3 Un test d'hypothèse pour retrouver les coefficients significatifs à partir de l'IUWT 59
3.4.4 Reconstruction de l'image débruitée à partir des coefficients significatifs 67
3.4.5 Robustesse de la seconde génération IUWT par rapport à la première 71
3.5 Adaptation de la MSVST-IUWT au débruitage des noyaux celullaire . . 73

4 La Transformée Multi-Echelle de Stabilisation de Variance et la Transformée Non Décimée en Ondelettes Isotropes pour le débruitage d'images 2-photons 75
4.1 Extension 3D de la MSVST-IUWT 75
4.1.1 L'IUWT 76
4.1.2 La MSVST, le test d'hypothèse et l'algorithme de reconstruction . 79
4.2 Extension de la méthode pour une grille anisotrope 79
4.3 Changement de l'algorithme d'optimisation 84

5 Protocole expérimental de validation 87
5.1 Algorithmes comparés 87
5.2 Données traitées 89
5.2.1 Construction d'images étalon 89
5.2.2 Jeux de données réelles 90
5.3 Protocole de comparaison 94
5.3.1 Distance de l'image débruitée par rapport à l'image non bruitée . 94
5.3.2 Application d'une détection de centre a posteriori 95
5.4 Résultats obtenus 99
5.4.1 SNR des images débruitées 99
5.4.2 Détection de centres 100
5.4.3 Validation de l'intérêt du débruitage 105

5.5 Conclusion et interprétation des résultats 108
5.5.1 Confrontation des différents algorithmes 108
5.5.2 Différences entre données artificielles et données réelles 109
5.6 Quelques résultats sur le PMT hybride 110

6 Discussions **113**
6.1 Critique théorique des modèles utilisés 113
6.1.1 Réflexion autour de l'opérateur de reconstruction 113
6.1.2 Une analyse de bruit plus fine 115
6.2 Extension de la méthode à d'autres objets, d'autres images 116
6.2.1 Débruitage de membranes 116
6.2.2 Le microscope à scanner résonnant 116
6.3 Critique des méthodes de validation 117
6.3.1 Une vérité terrain perfectible 117
6.3.2 Une exploration de paramètre plus exhaustive et plus précise . . . 119
6.3.3 Amélioration des méthodes de validation manuelle 119

7 Conclusion **121**
7.1 Le contexte très particulier de la microscopie à deux photons 121
7.2 Une nouvelle exportation à la troisième dimension de la MSVST-IUWT . 122
7.3 Mise en place de deux protocoles de validation différents 122
7.4 Perspectives 123
7.5 Ouverture de la méthode à d'autres données 124

ANNEXES **125**
A Une solution analytique pour le modèle de restauration IUWT dans le cas de la transformée en ondelettes première génération. 125
B Calculs des différents opérateurs pour l'implémentation de l'algorithme Primal-Dual 127
B.1 l'Algorithme de Chambolle-Pock 127
B.2 Adaptation de l'Algorithme de Chambolle-Pock au modèle 3.63 . 128
B.3 Calcul des différents opérateurs pour l'adaptation de la Méthode de Chambolle Pock au modèle 3.63 129

Remerciements

Ce projet, financé par l'Initiative d'Excellence (IDEX) de Paris-Saclay, a été le fruit d'une collaboration entre le laboratoire MIA de l'AgroParisTech et celui de BioEmergences du CNRS. L'accueil de l'Institut des Systèmes Complexes Paris-Ile-de-France (ISCPIF) en a grandement facilité le déroulement.

Le doctorat reste une épreuve difficile. Pour ce qui me concerne, je ne sais pas si j'aurais pu mener à son terme le travail engagé il y a quatre ans sans le soutien de mon entourage, personnel et professionnel. En dépit de ce que certains auront pu dire, non, le travail de thèse n'est pas et ne doit pas être une épreuve solitaire.

Je citerai en premier Antoine, mon directeur. Qu'il soit ici remercié de m'avoir accueilli dans son laboratoire pour la réalisation de mon doctorat.

Mes seconds, naturellement vers Nadine, ma co-directrice. La confiance inébranlable qu'elle accorde spontanément à tout un chacun , mêlée à un optimisme dans les moments les plus difficiles, a été un pilier sur lequel je me suis reposé, parfois même avec abus.

Je souhaite ensuite témoigner ma reconnaissance à Cristina. Que de patience pour parvenir à me faire structurer mon écrit et à acquérir un oral scientifique académique ! Ce que j'ai appris à son contact, et ce n'est pas rien, me sera certainement utile dans les années à venir.

Mes remerciements se dirigent ensuite vers Jalal Fadili qui participe aujourd'hui à mon jury de thèse mais aussi a pris le temps de me venir en aide en m'accueillant deux jours dans son laboratoire et en répondant à tous mes mails avec une réactivité stupéfiante. Les discussions menées avec lui ont été décisives dans le choix des directions données à mon projet.

D'autres personnes non partie prenante de ce projet m'ont aussi énormément aidé. Je pense tout d'abord à Thierry et à toutes les nocturnes passées avec lui pour élaborer un plan d'expérience exhaustif. Si ce document pouvait comporter des co-auteurs, il occuperait une place de choix dans la liste.

Je pense aussi à mon père, envers lequel je suis extrêmement reconnaissant pour les looooooooooooooongues heures passées en visio-conférence à reformuler la moindre expression, revoir la moindre ponctuation, ou encore déconstruire la moindre subordonnée qui alourdit le texte, que j'utilise à mauvaise escient, et qui, les trois quarts du temps, peuvent être remplacées, comme c'est le cas maintenant. Et, mine de rien, une phrase de quatre lignes, c'est cadeau.

Je souhaite aussi témoigner toute ma gratitude envers Jamal Atif et Thomas Boudier pour avoir accepté de *rapporter* ce manuscrit. Bien entendu, pour le temps qu'ils ont accordé à cette thèse, ma reconnaissance ira ensuite aux membres restants du jury : Isabelle Guyon et Corinne Lorenzo.

Un travail de thèse ne se déroulera pas harmonieusement si l'ambiance des équipes et la cohésion entre doctorants n'est pas au rendez-vous. Personnellement, dans les différents laboratoires que j'ai fréquentés, j'ai trouvé une solidarité certaine entre thésards, voire amitié dans certains cas. Dans ce contexte, je remercie Adeline, Dimitri, Joe, Mister Jules (ou Docteur Sublime), Juan (coloc forever ! En disant cela, mon pouce et mon auriculaire se touchent !), Matthieu, PAM, Paul , et Raphaël (tu n'as pas fait partie des doctorants mais je tiens à te faire apparaître ici !) pour leur soutien moral dans les moments les plus difficiles.

Mes remerciements concernent également les membres restants de l'équipe BioEmergences, anciens et nouveaux. Ils ont su créer au quotidien une bonne ambiance de travail : Adeline et son "management directif" (j'ai beaucoup aimé la formulation, désolé !) , Adil, Antonio, Clovis, Fanny que j'ai dû ennuyer avec mon projet d'embryons fixés, Gaelle et ses jeux de mots aléatoires, Julien pour les mêmes raisons, Louise, René et son légendaire franc-parler, Sylvia, Mark, Monique et Yannick. Un remerciement particulier à Paul B. toujours aussi enthousiaste lorsqu'un nouveau projet se présente à lui !

Je tiens également à remercier l'Institut des Systèmes Complexes et tous ses résidents, actuels et anciens, pour la convivialité qu'ils ont su apporter : Alex, Chloé, Constance, David et nos repas CROUS, David, Geneviève, Giullia, Fadila, Franck, Guillaume, Marcel,

Margaux, Marlène, Mathieu, Maud, Maziyar, Nathalie , Noé, Pierre, Romain, Romain, Salma, Samuel et Stéphanie ! Un remerciement particulier à Laurence et Catherine ; je saurai garder en mémoire les longues discussions tenues avec elles autour d'un café !
Certains des résultats obtenus dans ce document ont été calculé sur biomed et sur vo.complex-system.eu, la grille européenne de calcul. J'en remercie donc l'infrastructure ainsi que France-Grille pour le support matériel.

Je n'oublie pas non plus les membres de l'équipe LINK et leur accueil chaleureux : Asma, Christine, Juliette, Liliana et tous ses conseils sur la pédagogie, Stéphane et mes pause-café dans son bureau !

Réussir ses études sans le soutien matériel et surtout moral de ses parents est plus difficile. Je tiens donc à remercier les miens pour leur présence attentionnée pendant ces 9 années (et plus).

Nous arrivons à la fin de cette séquence "remerciements" . Je ne peux la terminer sans citer Pierre Weiss, mon directeur de stage de M1, à la génèse de mon cursus doctoral. Je n'occuperais pas aujourd'hui cette place s'il ne m'avait poussé dans la voie de la recherche. Pour cette raison, je le remercie fortement et l'assure de ma reconnaissance.

Un tout dernier mot : la liste de mes remerciements serait incomplète si n'y apparaissaient Marie-Hélène du magasin Mococha et son chocolat chaud ; celui-ci peut, en toute objectivité, être couronné "Meilleur chocolat chaud de Paris".

À Maminou

Chapitre 1

Introduction

L'apparition de l'outil informatique a permis de grandes avancées dans beaucoup de domaines scientifiques. La biologie quantitative, en particulier, a marqué et marque encore un tournant au sein de la biologie du développement. Les changements se situent à deux niveaux différents :

— au niveau méthodologique : l'observation n'est plus une évaluation subjective et non calculable des processus étudiés, mais un ensemble de mesures quantifiables, indépendantes de l'interprétation du scientifique.

— au niveau des perspectives : il est possible de distinguer les comportements types des comportements anormaux, ce qui permet une meilleure analyse des être vivants et de leur développement.

Dans ce contexte, l'étude de la morphogénèse ("origine des formes") animale et, plus particulièrement, de celle de l'embryon précoce sont des branches de la biologie développementale dans lesquelles la quantification des processus devient centrale. La morphogénèse englobe l'ensemble des phénomènes physico-chimiques d'une part, génétiques d'autre part, qui, à partir de la cellule-oeuf, mènent à la formation structurée d'organes dans un être vivant. En général, son étude ne porte pas sur l'ensemble des espèces animales présentes sur la planète : seules certaines, choisies en fonction de plusieurs critères, sont analysées. La fonctionnalité sera le premier critère retenu : une espèce peut-elle être élevée dans un laboratoire ? Peut-elle être facilement imagée par des appareils optiques ? Viennent ensuite les critères culturels. Il existe, par exemple, une très grande littérature sur le développement de la souris, ce qui facilite la mise en œuvre des protocoles expérimentaux nécessaires à son étude. Pour terminer, le développement de l'espèce étudiée doit respecter un compromis entre simplicité du modèle et pertinence sur l'arbre de l'évolution.

Pour pouvoir imager un embryon pendant les premières heures de son développement, la microscopie à deux-photons, sous-branche de la microscopie à balayage laser, se révèle être un outil efficace. Elle permet de capturer l'intégralité d'un embryon en trois dimensions (*in toto*), de la cellule-œuf au stade adulte, sans pour autant empêcher son développement (*in vivo*). Son principe est le suivant :

— Une zone d'intérêt (membrane, noyau ou cytoplasme) est choisie au sein de la cellule. Dans cette thèse, les images traitées ne porteront que sur des noyaux cellulaires.
— L'embryon est modifié génétiquement de manière à ce que toutes ses cellules produisent des protéines fluorescentes dans la zone d'intérêt.
— Lors de la mise en image de l'embryon, ces protéines sont excitées pour émettre de la lumière collectée par un système d'acquisition convertisseur de signal lumineux en électrique. Dans notre étude, le Tube Photo-Multiplicateur (PMT, Photo-Multiplier Tube) sera utilisé dans ce sens. Son fonctionnement sera brièvement décrit dans la partie 2.4.1.
— En imageant l'embryon à différents instants consécutifs, il est possible de recréer des films 3D+temps qui retracent son développement.

Cette technique d'imagerie s'inscrit dans un ensemble de méthodes dites *point par point* : les voxels, pixels 3D, sont balayés consécutivement par le faisceau en produisant une intensité variable suivant la concentration en protéines fluorescentes. Le faisceau lumineux parcourt ainsi une grille d'échantillonnage, potentiellement paramétrée par l'expérimentateur. Cette grille, bien que cartésienne [1], n'est en général pas isotrope : la taille du voxel, espacement entre deux points d'acquisition consécutifs, diffère selon les directions de l'espace, x, y ou z.

Ce système d'acquisition, comme tout système d'acquisition en imagerie, introduit des dégradations entre l'émission de fluorescence "théorique", cas où la quantité de lumière émise est directement fonction de l'intensité d'excitation des protéines et de leur concentration, et le signal électrique qu'il restitue réellement. Ces dégradations trouvent le plus souvent leur origine dans l'absorption et la diffusion de la lumière au sein de l'embryon, ainsi que dans les défauts optiques du PMT. Elles peuvent se présenter sous 4 formes :

— Le bruit : c'est une distorsion du signal qui agit indépendamment sur chaque voxel. La valeur effective du signal reçu après acquisition est modélisée comme un tirage d'une variable aléatoire. La loi de probabilité en est inconnue et doit être déterminée a priori. Ce modèle de distribution, qui dépend en général du système

1. i.e. rectangulaire

d'acquisition, doit assurer une égalité entre l'espérance de la variable aléatoire et le signal théorique.

— Le flou : la lumière se diffuse en traversant l'embryon. Un point lumineux, par exemple, se dégradera pour se présenter sous la forme d'une "tache" sur l'image reçue. Le flou est en général modélisé comme une moyenne locale entre un voxel et ses voisins au sein de l'image.

— Les signaux résiduels qui polluent le signal à imager.

— La perte de signal : les tissus organiques absorbent la lumière. Dans ce contexte, le signal reçu par le système d'acquisition est amoindri par rapport au signal théorique. Deux conséquences découlent alors de ce phénomène : une perte de contraste qui empêche de bien distinguer les objets et une perte d'information liée à la conversion d'un signal continu en signal discret.

Ce n'est que lorsque des mesures sont réalisées à partir des images microscopiques que la biologie quantitative intervient. Ces mesures se présentent sous la forme de positions et trajectoires de noyaux ou encore sous la forme de géométries membranaires. Elles sont construites automatiquement à partir du voxel (pixel 3D) au moyen d'algorithmes de détection [54, 91, 70], de tracking (reconstruction de trajectoires [65, 66, 63]) ou de segmentation (reconstruction de formes, [39, 17]).

Mais ces mesures, du fait de la mauvaise qualité des images issues d'un microscope confocal, manquent cruellement de précision. En effet, les détériorations du signal précédemment énoncées et la basse résolution du système d'acquisition sont sources d'erreurs sur les résultats provenus des algorithmes de mesure. Il peut donc être intéressant d'utiliser des algorithmes dits de "restauration" qui reconstruisent un signal proche du signal théorique à partir d'un signal très fortement détérioré.

La littérature traitant de la restauration d'images explore deux grands axes : le débruitage et la déconvolution. Le premier tente d'annihiler la composante bruit de la détoriation du signal tandis que le second vise la reconstruction d'une image nette à partir d'une image floue. Notre travail se concentrera sur le premier de ces deux axes : le débruitage.

1.1 Problématique : débruiter des images de deux-photons

Dans ce document, nous travaillerons à partir d'images obtenues à l'aide de la microscopie deux-photons. La protéine utilisée pour les réaliser a été rattachée au noyau qui

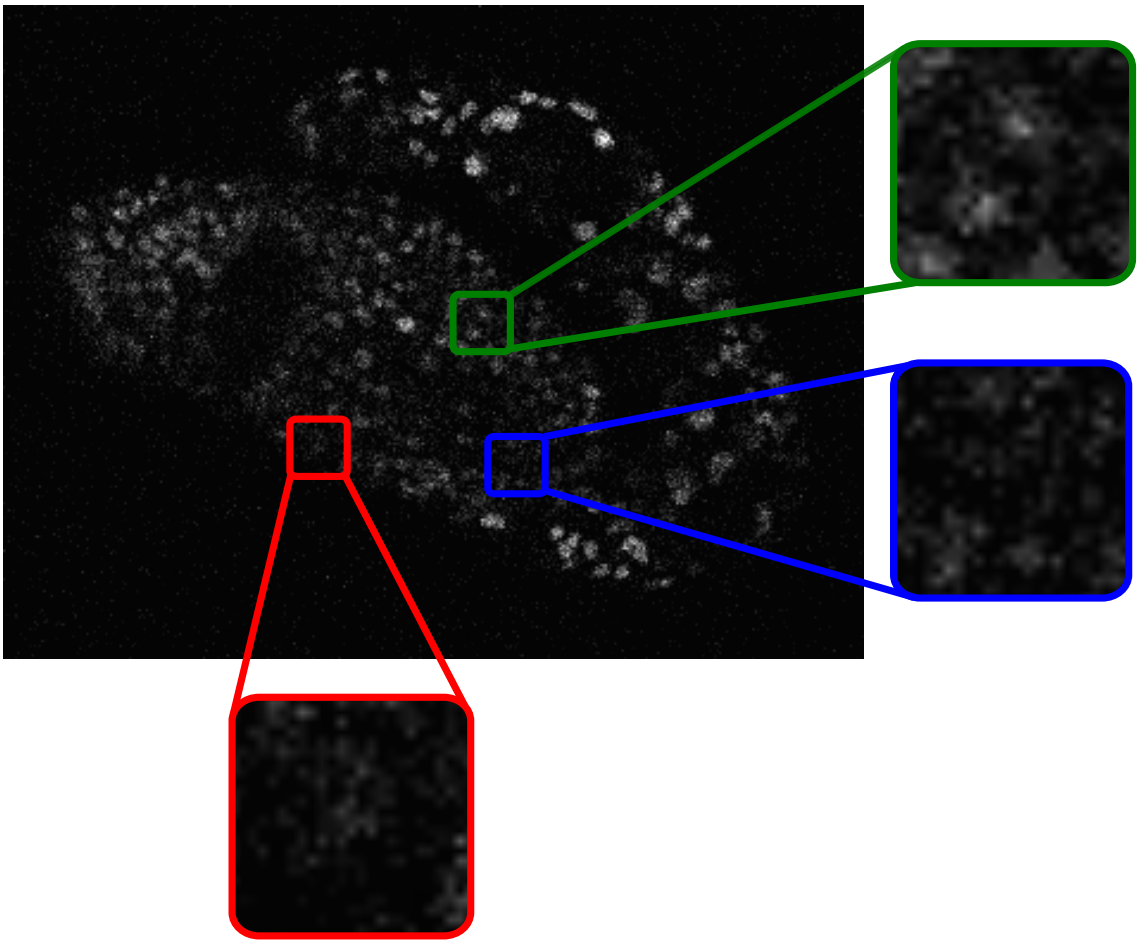


FIGURE 1.1 – Exemple d'une *slice* 2D d'une image deux-photons tridimensionnelle, qui révèle des noyaux cellulaires dans un embryon d'ascidie. Dégradations sur l'image : 1- en vert : le bruit - 2 - en rouge : la perte de signal - 3 - en bleu : le marquage ectopique. Auteur de l'image 3D : Adeline Rausch, CNRS.

sera donc l'objet d'intérêt. Comme le microscope à deux photons ne génère pas de flou, nous délaisserons ce côté-là de la restauration pour nous consacrer au débruitage.

1.1.1 Caractéristique des images traitées

La figure 1.1 fait apparaître un exemple de noyaux cellulaires recherchés. Au vu du décalage entre leurs caractéristiques très spécifiques et la généralité des méthodes actuelles, traiter ces images avec les outils les plus récents de la littérature n'est pas pertinent.

Le premier élément disctinctif de ces images réside dans la simplicité des objets qu'elles contiennent, les noyaux cellulaires. Ces objets, presque sphériques, ne possèdent pas

d'autre structure particulière. Ils ne présentent pas non plus une quelconque texture [2]. Comme nous l'analyserons par la suite, les tendances actuelles en traitement d'image visent à reconstruire des objets texturels de taille de plus en plus petite. Dans notre cas, ce n'est pas nécessaire.

Ces images issues de la microscopie à deux photons sont aussi extrêmement détériorées. Qui plus est, un signal parasite causé par la présence de protéines fluorescentes en dehors de la zone d'intérêt vient s'ajouter et noyer ce signal, déjà faible. Ce signal résiduel, appelé aussi marquage ectopique, peut poser problème quand il s'agit de reconnaissance d'objets ; généralement, il n'est pas non plus traité par les algorithmes classiques de débruitage. Cette lacune trouve son explication dans la dissimilitude entre le marquage ectopique et le bruit : le premier présente de fortes dépendances entre pixels voisins, le second, lui, ne présente aucune corrélation. Le problème du débruitage d'image devient alors un problème de détection de signal.

1.1.2 Les contraintes de la méthode

Une efficacité face à un signal d'intensité variable

La question de la détection du signal face aux basses intensités se pose aussi. Notre méthode doit pouvoir reconstruire le mieux possible les objets et ceci même quand :

— le rapport signal sur bruit est très faible.

— le signal est noyé au milieu du marquage ectopique.

A ce stade, un autre élément doit être rappelé : la perte de signal en profondeur. Le but de la méthode sera ici de détecter le signal produit par les noyaux cellulaires, même quand la lumière a été absorbée par les tissus organiques. Dans cette situation, les noyaux sont en général à peine discernables à l'oeil nu et seul *l'expert* peut valider la présence ou non des objets biologiques dans les images.

Enfin, comme le but final de notre méthode est l'application a posteriori d'algorithmes de mesure (tracking, segmentation, ou détection de centres), il est important que notre méthode n'ajoute pas d'artefact supplémentaire à ceux apportés par le système microscopique.

Un temps de calcul raisonnable

Quand on s'intéresse aux images 3D, il est important de prendre en compte la taille des données. Certains algorithmes, jusqu'alors acceptables d'un point de vue temps de calcul

2. En analyse d'images, on appelle texture une mixture de motifs. Ces motifs ont généralement l'ordre de grandeur du pixel mais peuvent lui être inférieurs ; ils se répètent sur des surfaces plus étendues.

sur des images 2D, deviennent inutilisables lorsqu'on bascule à la troisième dimension.

Nous disposons, pour faire tourner nos programmes, de serveurs de calculs dotés de 40 coeurs qui fonctionnent en parallèle. Mais, souhaitant voir notre méthode utilisée en un temps raisonnable par un biologiste, on considérera ici le temps de process acceptable s'il assure le débruitage d'un film 3D en un week-end, soit 60 heures. Pour une vidéo de 300 pas de temps, cela revient à traiter 5 images en 1h, soit une image toutes les 12 minutes.

La performance sur les temps de calcul n'est toutefois pas le sujet central de ce rapport. Il ne s'agit pas non plus de comparer la vitesse d'exécution de toutes les méthodes décrites, même si cette contrainte établit un facteur discriminant vis à vis de méthodes qui sont trop lentes face aux données à disposition.

1.1.3 La littérature en débruitage d'image

Depuis le début des années 90, le débruitage d'image a connu une forte progression. Encore, aujourd'hui, de nouvelles méthodes naissent et se développent autour de nombreuses heuristiques et théories diverses. La tendance actuelle se situe dans la recherche de la méthode la plus générale possible, qui prendra exhaustivement en compte les formes, les textures et les distributions de bruit [3]. Or ce qui est efficace dans un cas très général ne l'est pas forcément dans un cas plus particulier.

Pour ce qui nous concerne, le bruit, du fait de sa dépendance au système microscopique, est donc très spécifique. Egalement, les formes des objets recherchés peuvent être simplement caractérisées.

1.1.4 Méthode proposée

L'objectif de cette thèse est donc de montrer que, par l'utilisation de méthodes qui reposent sur divers a-priori, il est possible d'obtenir de bien meilleurs résultats que ceux présentés par les propositions les plus récentes de l'état de l'art. Ces connaissances a-priori traitent principalement des formes recherchées ainsi que des propriétés du bruit.

Dans notre étude, les seuls objets imagés sont des noyaux cellulaires : leur morphologie, jugée simple, peut être caractérisée comme étant isotrope. Par définition, un trait isotrope montre une invariance dans toutes les directions de l'espace ; lorsqu'on parle d'une géométrie, le terme d'isotropie pointe indifféremment une sphère ou une boule.

Pour ce qui relève de la dégradation, nous nous intéresserons à une détérioration communément admise en microscopie 3D, le bruit Mixe Poisson Gaussien (MPG). Un

3. En effet, étant donné la définition que nous avons donnée du bruit, il existe différentes lois possibles de probabilités, donc différentes distributions possibles de bruits.

bruit se définit comme l'introduction d'un aléa ajouté au signal théorique qui se traduit comme tirage d'une variable aléatoire. Cette variable aléatoire se distribue différemment, compte tenu de l'intensité du signal en un pixel donné : la définition de sa loi en fonction de la valeur du pixel caractérise entièrement le bruit.

Pour modéliser les dégradations liées au système optique du microscope, le bruit MPG allie deux distributions très bien connues des statisticiens : la distribution de Poisson et la distribution Gaussienne. Nous en discuterons la pertinence dans le chapitre 2.

Dans ce contexte, nous proposons d'adapter à la troisième dimension une méthode qui a déjà fait ses preuves dans le domaine de l'imagerie astronomique en 2D : la stabilisation de variance multi-échelle pour la transformée non décimée en ondelettes isotropes (MSVST-IUWT [114], pour Multi-Scale Variance Stabilizing Transform for Isotropic Undecimated Wavelet Transform). Pour restaurer les images stellaires, cette technique allie une transformée parcimonieuse adaptée aux formes isotropes, l'IUWT, et une analyse statistique spécifique au bruit MPG, la MSVST. En raison de la similarité morphologique entre noyaux cellulaires et étoiles, nous espérons de très bons résultats sur nos images microscopiques deux photons.

1.2 Déroulement du document

Pour mieux situer notre méthode dans son contexte, il est nécessaire de connaître l'origine des images : avant d'en analyser les déteriorations, nous présenterons brièvement le fonctionnement du microscope confocal deux photons. Un modèle statistique du bruit pourra ainsi être établi et la pertinence du modèle MPG discutée.

Par la suite, nous explorerons les différentes méthodes proposées au cours des 30 dernières années en analyse d'image, en précisant celles qui ont été adaptées à l'imagerie biomédicale en trois dimensions. Nous développerons aussi la méthode 2D sur laquelle s'appuie notre proposition. Elle sera ensuite directement transposée au cas 3D puis adaptée à notre problème : les mêmes caractéristiques d'isotropie devront être conservées dans le cas d'un embryon échantillonné sous une grille anisotrope. Enfin, nous optimiserons la partie itérative de l'algorithme original dans le but d'accélérer les temps de calcul.

La comparaison de notre méthode avec l'état de l'art s'effectuera à partir de plusieurs points :

— Nous confronterons dans un premier temps notre algorithme avec ceux dont il est dérivé : la méthode originale 2D appliquée coupe par coupe sur l'image 3D et la méthode 3D qui ne tient pas compte des propriétés de la grille d'échantillonnage balayée par la faisceaux d'excitation.

— Nous nous intéresserons ensuite à la méthode qui interprète l'IUWT comme une dictionnaire (cf . partie 3.2.1).
— Nous comparerons notre technique à des stratégies récentes en imagerie bio-médicale 3D ou, du moins, encore référentes dans l'état de l'art.

Chapitre 2

De l'embryon à l'image

Dans ce chapitre nous nous intéresserons au processus de création des images, depuis la modification génétique de l'embryon jusqu'au signal pixélisé. Nous analyserons par la suite les différentes déteriorations du signal inhérentes à ce système global.

2.1 Principe de la microscopie à balayage laser

Nous travaillons dans cette thèse avec des piles d'images 2D d'embryons vivants réalisées à différents pas de temps. L'acquisition d'une pile permet d'observer l'ensemble du volume d'un spécimen sous forme d'image 3D. Ces données sont acquises grâce à l'émission de signaux de fluorescence par des protéines introduites dans l'organisme. En réalité l'embryon étudié est modifié génétiquement de manière à émettre des protéines fluorescentes. On dit alors qu'il est marqué.

La fluorescence est un phénomène de physique quantique au travers duquel un système ré-emet de la lumière, à partir d'une excitation lumineuse à une autre fréquence, de l'ultra-violet au proche infra-rouge. Lorsqu'il est question de microscopie à balayage laser, on image des protéines fluorescentes : la convergence d'un faisceau lumineux excite la protéine qui ré-émet alors un photon à une fréquence donnée.

Le point de convergence est alors déplacé ; il est ainsi possible d'observer, point par point, l'ensemble des protéines présentes dans l'embryon. Le principe général de la microscopie à balayage laser est donné dans la figure (2.1).

2.2 La fluorescence

Une molécule fluorescente peut-être modélisée sous la forme d'amas de noyaux et d'électrons atomiques avec un ou plusieurs électrons qui gravitent autour de cet ensemble.

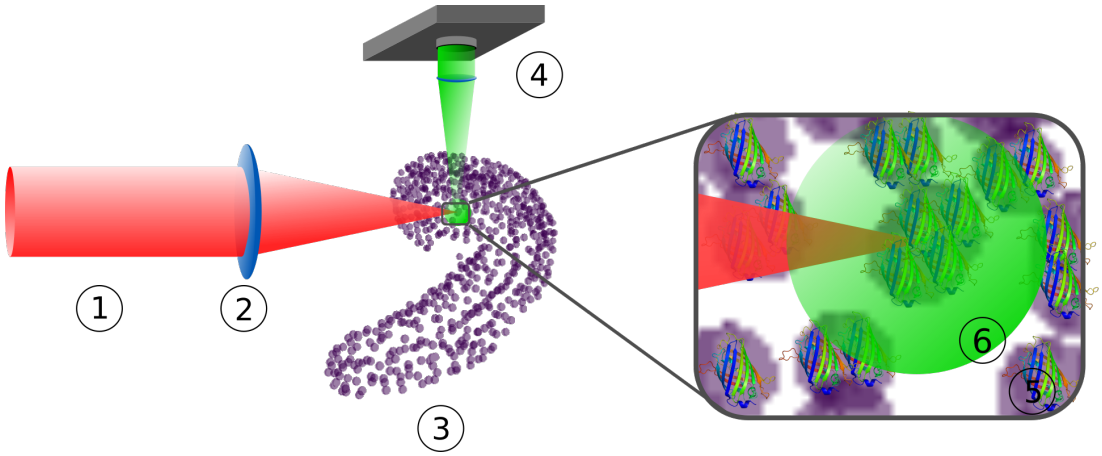


FIGURE 2.1 – Processus d'acquisition de l'image en microscopie à balayage laser, point par point. 1 - faisceau lumineux d'excitation. 2 - lentille responsable de la convergence du faisceau. 3 - Embryon à imager. 4 - système d'acquisition, tube photo-multiplicateur. 5 - protéine fluorescente. 6 - émission de lumière à une fréquence différente de celle de l'excitation.

Ces électrons peuvent adopter plusieurs niveaux d'énergie. L'ensemble des niveaux possibles d'énergie reste cependant discret. Autrement dit, les énergies possibles de cette particule ne couvriront pas tout un spectre parmi les réels mais prendront des valeurs à divers paliers. L'électron sera dans un état stable lorsqu'il aura l'énergie la plus basse ; il sera excité dans le cas contraire. Tous les électrons d'une molécule au repos sont stables. Lorsque qu'un photon vient percuter un électron, deux cas de figure se présentent :

— Soit le photon n'a pas suffisamment d'énergie pour exciter l'électron et le faire basculer à un état énergétique supérieur. Dans ce cas-là, rien ne se passe.
— Soit le photon est doté de l'énergie minimale nécessaire pour exciter l'électron qui passe alors au niveau d'énergie supérieur.

Si un électron est dans un état excité, il va chercher à redevenir stable en émettant un photon dont l'énergie prendra la valeur de la différence entre ces deux états. Il y aura donc émission de lumière. En réalité, l'énergie d'un photon est proportionnelle à sa fréquence, avec h, constante de Planck, coefficient de proportionnalité.

$$E = h\nu$$

Ici E est l'énergie du photon, ν sa fréquence. Ainsi, pour exciter un électron, le photon doit avoir une fréquence minimale $\nu_{\min} = \frac{E_{\min}}{h}$, $E_{\min}$ étant l'énergie nécessaire à cet excitation. Pour retourner à son état stable, il émettra alors un photon de fréquence $\nu_{\min}$.

2.3 Le faisceau d'excitation

La microscopie confocale classique [67], branche de la micrcoscopie à balayage laser, utilise un faisceau lumineux de fréquence supérieure à $\nu_{\min}$. Ce faisceau, en passant au travers d'une lentille, converge vers le point que l'on souhaite imager. Si une protéine se situe au point de convergence, elle réémettra de la lumière à la fréquence $\nu_{\min}$. Dans le cas contraire, il ne se passera rien.

Ce modèle, très théorique, n'a pas l'efficacité attendue : dans la pratique, le système ne se comporte pas aussi précisément que prévu. En effet, avant de se focaliser, le cône lumineux excitera toutes les molécules fluorescentes sur son passage. Des signaux lumineux autres que celui qui nous intéresse seront observés. Plusieurs méthodes ont été mises en oeuvre pour isoler l'information voulue au moment de l'acquisition : la confocalité vient du tri de la lumière émise par fluorescence au moyen d'un *pinhole*, dispositif qui ne laisse passer que la lumière qui provient du plan focal [1].

En revanche, les images utilisées dans cette thèse proviennent d'une alternative à la microscopie confocale , appelée microscopie à deux photons. Cette technique utilise une autre méthode d'excitation de la molécule. Au lieu d'exciter un électron avec un photon d'énergie supérieur à $E_{\min}$, deux photons d'énergie $\frac{E_{\min}}{2}$ sont sollicités. En contrepartie, pour augmenter la probabilité qu'ils convergent simultanément, il est nécessaire d'envoyer une très forte impulsion à travers l'embryon.

Comme les photons suivent une trajectoire différente et ne recèlent pas à eux seuls l'énergie suffisante pour exciter les molécules sur leur passage, la seule zone excitée sera la zone d'intérêt, c'est-à-dire celle de convergence du faisceau, le plan focal. De plus, dans le cadre de la microscopie à deux photons, le faisceau, de moindre énergie, donc de fréquence plus basse, offre l'avantage de mieux pénétrer dans l'embryon : la matière organique absorbe beaucoup moins la lumière de basse fréquence ; Nous aurons alors un gain de signal grâce à une moindre diffusion du faisceau excitateur.

2.4 Le marquage fluorescent

Il existe deux méthodes pour marquer génétiquement l'embryon :

— La première consiste à injecter dans la cellule oeuf une quantité d'ARN codeur de la protéine. A chaque mitose, le volume contenu dans la cellule mère se trouve partagé entre les deux cellules filles : la quantité par cellule diminue au fur et à mesure du développement embryonnaire. Egalement, du fait de la détérioration

1. c'est à dire le plan imagé par la caméra.

de l'ARN dans le temps, la concentration des protéines fluorescentes devient trop faible pour que l'embryon puisse être imagé. De plus, l'expression de cet ARN ne se manifeste pas immédiatement après injection : observer l'animal dès le stade *une cellule* ne sera donc pas possible.

— On modifie le génome de la cellule oeuf en injectant de l'ADN dans son noyau. Cet ADN va se répliquer tout au long des divisions cellulaires. L'expression de ce gêne amènera à la production de la protéine fluorescente. Dans ce cas-là, l'expression fluorescente peut être présente au moment d'intérêt et conservée le temps nécessaire à l'étude.

La localisation de ces protéines à l'intérieur de la cellule est déterminée a priori à l'aide d'un fragment protéique adéquat (H2B,RAS). Ce fragment est fusionné avec la protéine fluorescente et la fixe à l'objet que l'on souhaite imager. H2B, par exemple, restreint au noyau la molécule qui lui est rattachée. Dans le cas du fragment RAS, la membrane est choisie comme zone d'expression.

Il existe des dizaines de combinaisons protéines fluorescentes/protéines d'adressage ; les protéines fluorescentes utilisées pour les applications de cette thèse sont la GFP (Green Fluorescente Protein [105], de couleur verte) et la mCherry ([68], de couleur rouge).

2.4.1 Le Tube Photo-Multiplicateur

Le tube Photo-Multiplicateur est la composante du microscope qui, après avoir détecté et amplifié le signal lumineux de basse intensité, le convertit en signal électrique. Cet appareil est en général optimisé pour la réception de plages de fréquences lumineuses particulières . Nous distinguons deux différents types de photo-multiplicateurs :

— La superposition de dynodes.

— La photo-diode à avalanche.

Le PhotoMultiplicateur classique : superposition de dynodes

La figure (2.2) nous donne un schéma des différentes parties d'un photo-multiplicateur à dynodes.

Il se compose de :

— Un convertisseur photo-électronique appelé photo-cathode.

— Un système de dynodes servant à l'amplification du signal électronique.

— Un convertisseur de signal électronique en signal électrique, appelé anode.

Le photon émis par la protéine fluorescente arrive sur la photo cathode, qui peut être modélisée par une plaque soit métallique soit semi-conductrice. Au moment de la collision,

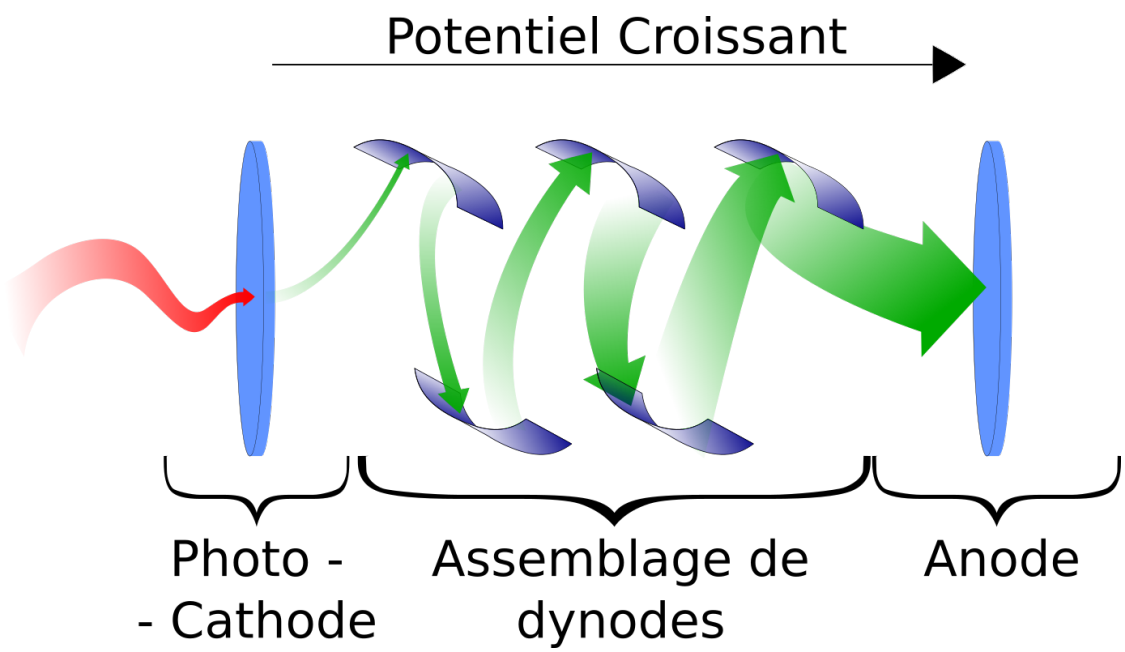


FIGURE 2.2 – Résumé des différentes composantes d'un tube PhotoMultiplicateur. En rouge le faisceau de photons, en vert le faisceau d'électrons.

si le photon possède une énergie suffisante, un électron est arraché de la plaque pour se diriger vers le système d'amplification.

Le système d'amplification se compose de plusieurs dynodes, électrodes superposées d'un matériau doté d'une couche électronique à faible potentiel. Si un électron percute une dynode avec une vitesse suffisante, plusieurs autres électrons de cette couche seront éjectés à une vitesse beaucoup plus faible. Cet effet est comparable à l'effet photo-électrique proposé par Albert Einstein en 1905 : dans ce cas, la particule pertubatrice du système est non pas un photon mais un électron. Entre chaque électrode, une différence de potentiel électrique est générée de manière à accélérer tout électron situé entre les dynodes.

Ainsi, les électrons arrachés de la photo-cathode percutent la première dynode, multipliant le nombre d'électrons qui sont accélérés vers la dynode suivante ; le choc engendre encore plus d'électrons. Ce processus se répète sur l'ensemble des dynodes. Tous les électrons ainsi générés sont collectés par l'anode. Un courant électrique d'une intensité proportionnelle au nombre total d'électrons reçus est alors produit.

Le PhotoMultiplicateur hybride : une photo-diode à avalanche

Ce tube photo-multiplicateur, beaucoup plus sensible que son prédécesseur, est capable de détecter un signal à très basse intensité. En théorie, un seul photon suffit à

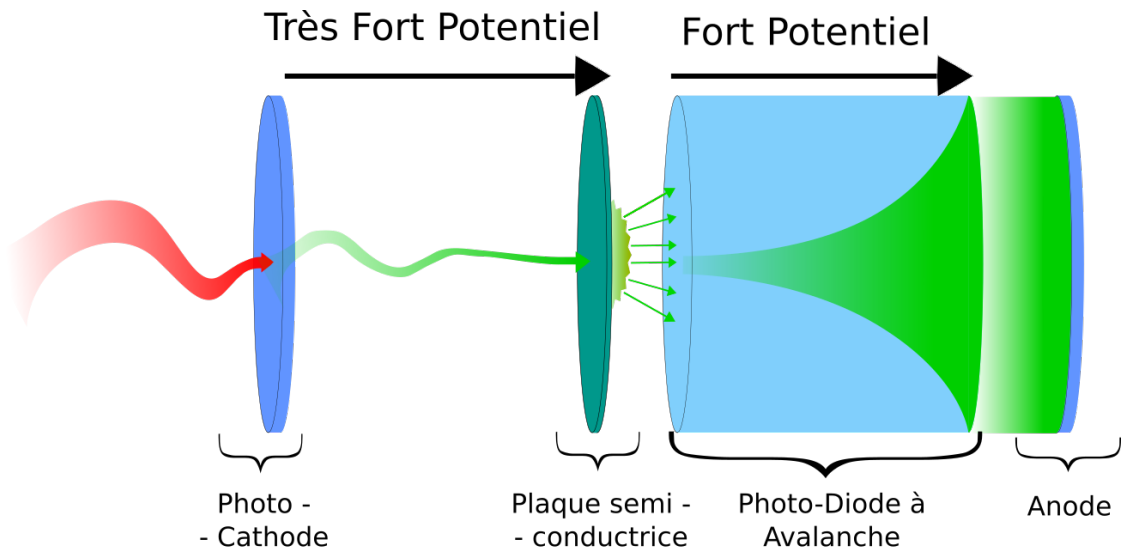


FIGURE 2.3 – Résumé des différentes composantes d'un tube Photo-Multiplicateur avec photo-diode à avalanche. En rouge le faisceau de photons, en vert le faisceau d'électrons.

exciter ce système. La figure (2.3) en schématise les composantes. La photo-cathode, responsable de la conversion du signal lumineux en signal électronique, est identique à celle du PMT à dynodes. L'anode est également commune aux deux appareils. En revanche, les composants vecteurs de l'amplification électronique diffèrent. Dans le cas du PMT hybride, l'amplification se construit au travers de deux composants : une plaque de semi-conducteur et une photo-diode à avalanche.

Les électrons issus de l'anode sont accélérés avec un potentiel de 8000V. Ce potentiel est tel que les électrons arrivent sur la plaque semi-conductrice avec une énergie suffisante pour l'arrachage d'autres électrons. Le nombre d'électrons sortants est ainsi multiplié. Ces particules atteignent par la suite la photo-diode.

La photo-diode est un semi-conducteur ou un isolant, composé d'atomes excitables par un potentiel électrique. De cette manière, les électrons de la couche supérieure sortent de leur orbite. Deux propriétés en découlent :

— Le matériau devient conducteur.
— la moindre perturbation électronique entraîne une réaction en chaîne : chaque électron accéléré entraîne plusieurs électrons sur son passage.

Les électrons émis par la dernière dynode sont par la suite collectés par la photo-diode. L'avalanche d'électrons produite par la réaction en chaîne amplifie, de manière exponentielle, le signal qui sera collectée par l'anode.

2.5 Modélisation d'une image

Une image 3D est construite sous la forme d'un tableau d'intensités en 3 dimensions. Le pixel en trois dimensions est appelé voxel. L'image théorique, non bruitée, est notée u^*, l'image bruitée, u. Ainsi u et u^* possèdent trois entrées, i_x, i_y et i_z, qui indiquent l'intensité de chaque voxel pointé par ces trois coordonnées. Chaque intensité sera notée $u(i_x, i_y, i_z)$ ou plus simplement $u(\underline{i})$, ou encore $u_{\underline{i}}$. L'indice $\underline{i}$ désigne un ensemble de trois coordonnées (i_x, i_y, i_z).

L'ensemble de toutes les coordonnées sur lesquelles sont définies les intensités de l'image est noté $\mathcal{U}$. On suppose que toutes les intensités de u et u^* sont finies. Ainsi l'ensemble de toutes les images possibles existantes sera noté $l_\infty(\mathcal{U})$ [2].

Enfin, étant donné un voxel de l'image non bruitée $u^*_{\underline{i}}$, nous pouvons modéliser une variable aléatoire $U_{\underline{i}}$ dont la loi de probabilité sera définie en (2.6). $U_{\underline{i}}$ est paramétrée de manière à ce que $\mathbb{E}(U_{\underline{i}}) = u^*_{\underline{i}}$. Le voxel bruité $u_{\underline{i}}$ est alors un tirage de $U_{\underline{i}}$. En reprenant les notations de façon globale, U est un vecteur aléatoire, l'image non bruitée u^*, l'espérance (ou la "moyenne") de U, et, pour terminer, u un tirage de U.

Dans toute cette thèse, nous noterons l'estimation de u^*, $\tilde{u}$. u^* sera appelée image non bruitée et, en parallèle, $\tilde{u}$ sera l'image débruitée.

Le principe du débruitage d'image est le suivant : étant donné le seul tirage aléatoire u que l'on possède, comment estimer u^* ? Si nous utilisons directement l'estimateur de vraisemblance pixel par pixel, alors on a $\tilde{u} = u$, ce qui n'apporte aucune information. Les techniques actuelles du débruitage consistent donc à introduire des hypothèses supplémentaires, telles que des corrélations entre pixels voisins ou des similarités de motifs au sein de l'image. Ces a-priori sont caractéristiques de la méthode de débruitage.

2.6 Modélisation du bruit par une loi de type Mixe Poisson Gaussienne

Quand on s'intéresse aux dégradations de l'image finale, il est bien important de distinguer celles qui relèvent du système d'acquisition et celles qui relèvent du système de marquage. En effet, techniquement, la microscopie par fluorescence vise à imager les protéines distribuées au sein d'un échantillon. Leur répartition, par contre, est imposée de manière à ce que certains objets d'intérêt, comme les noyaux, apparaissent. En réalité, elle n'est pas bien maîtrisée. Le signal effectif, quant à lui, provient de la protéine potentiellement mal localisée. Pour cette raison, l'image u^* ne peut pas être définie à partir de

2. l_∞, marque la finitude de l'intensité.

la disposition des objets biologiques à représenter, mais plutôt à partir de la concentration en fluorophore. Cette concentration présente une différence par rapport aux noyaux cellulaires à localiser, et ce pour plusieurs raisons :

— La protéine fluorescente, fabriquée dans le cytoplasme, se déplace vers son lieu d'adressage. Au moment de l'acquisition, reste un marquage résiduel qui ne correspond pas à la zone d'intérêt. Le signal parasite induit est appelé *marquage ectopique*.
— Au sein de la zone d'intérêt, la concentration en protéines n'est pas homogène.
— Certaines cellules, qui inhibent la production de protéines, seront donc invisibles au microscope.

Ci dessous, le listage des détériorations de l'image liées au système d'acquisition :

— L'erreur de comptage de photons liée au tube Photo-Multiplicateur.
— L'erreur d'alignement du laser : Le point de convergence du faisceau lumineux peut ne pas correspondre à la zone d'intérêt, ce qui fait perdre l'excitation.
— Un aléa sur la puissance et sur la durée des impulsions du laser. Ce delta se situe aux alentours de 3% de la puissance nominale. Comme la quantité de lumière émise par la protéine est fonction de l'excitation, cet aléa se répercute sur le signal mesuré par le PMT.
— Le rayonnement infra-rouge, le rayonnement électromagnétique et le bruit thermique perturbent le système d'acquisition, du PMT au convertisseur analogique-numérique.

Nous nous intéresserons, dans cette section, à la modélisation statistique du bruit produit à travers le tube photo-multiplicateur. La littérature le définit comme une distribution de Poisson, ou, dans un cadre plus général, comme une distribution Mixe Poisson Gaussienne (MPG). Nous analyserons plus en détail la validité de ce modèle pour les deux types de PMT, hybride et classique. Nous supposons ici que l'aléa du comptage de photons au cours de l'acquisition est, parmi toutes les autres, la cause majeure de dégradation du signal ; toutes les incertitudes antérieures, effets quantiques de fluorescence, défauts du laser qui excite la GFP, sont admises comme négligeables. Enfin, le rayonnement infrarouge, le bruit thermique et le rayonnement électromagnétique seront modélisés en bruit additif gaussien à la sortie du PMT.

Dans le cas de la microscopie 3D, il est admis que le modèle résultant de tous ces bruits est le modèle Mixe Poisson Gaussien, décrit sous la forme

$$U_{\underline{i}} = \alpha \mathcal{P}\big(u^*_{\underline{i}}\big) + \mathcal{E}_{\underline{i}} \tag{2.1}$$

Ici, $\mathcal{P}$ est une fonction qui prend en paramètre l'image débruitée et renvoie une variable aléatoire N qui suit une loi de Poisson :

$$\mathbb{P}\big(N_{\underline{i}} = n_{\underline{i}}\big) = \mathrm{e}^{-u^*_{\underline{i}}} \frac{(u^*_{\underline{i}})^{n_{\underline{i}}}}{n_{\underline{i}}!} \tag{2.2}$$

$\mathcal{E}$, est appelé bruit de fond. Cette variable aléatoire suit une loi normale $\mathcal{N}(\mu, \sigma^2)$. μ et σ ne sont a priori pas connus. En pratique, dans le cas des images 2-photons, il est d'usage de prendre $\mu = 0$. Le modèle (2.1) est le modèle de la littérature le plus communément admis. Il peut être simplifié par :

$$U'_{\underline{i}} = \frac{U'_{\underline{i}}}{\alpha} = \mathcal{P}\big(u^*_{\underline{i}}\big) + \mathcal{E}'_{\underline{i}} \tag{2.3}$$

avec $\mathcal{E}' = \mathcal{E}/\alpha$, suivant une loi normale $\mathcal{N}(\mu, \sigma'^2)$ avec $\sigma' = \frac{\sigma}{\alpha}$. Pour toute la suite du document, nous supposerons que la donnée bruitée sera normalisée ainsi. Pour alléger les notations nous substituons U à U', $\mathcal{E}$ à $\mathcal{E}'$, et σ à σ'. Le modèle simplifié devient :

$$U_{\underline{i}} = \mathcal{P}\big(u^*_{\underline{i}}\big) + \mathcal{E}_{\underline{i}} \tag{2.4}$$

La suite de cette section analysera la pertinence du modèle MPG pour le PMT Classique et le PMT Hybride. Nous analyserons les aléas lorsque l'on souhaite imager un voxel $u_{\underline{i}}$. Pour cette étude, nous nous focaliserons sur un pixel/voxel donné $\underline{i}$.

2.6.1 Cas du PMT classique

Description des aléas du système

La description des différents aléas qui suivent nous a été donnée dans [31], lui même reprenant [77]. Pour mémoire, l'embryon est imagé par l'excitation des fluorophores à l'aide d'un faisceau lumineux convergent. Si des molécules fluorescentes se situent au point de convergence, des photons seront réémis. Cette réémission est supposée la même dans toutes les directions. En revanche, le nombre d'électrons N_p qui percutent la photocathode est une variable aléatoire dont la loi de probabilité est modélisée comme une distribution de Poisson, à savoir :

$$\mathbb{P}(N_p = n_p) = \mathrm{e}^{-\lambda} \frac{\lambda^{n_p}}{n_p!} \tag{2.5}$$

Ici $\mathbb{P}(N_p = n_p)$ est la probabilité que n_p photons rencontrent la cathode. λ est la valeur moyenne de N_p. Dans ce cas précis : $\lambda = \tau I_p$ avec I_p intensité lumineuse du faisceau et τ durée de son impulsion.

Un photon percutant la cathode a une probabilité χ de générer un électron dans le PMT. Le nombre d'électrons émis par la photo-cathode $N_e^{(0)}$ suit donc une loi de Bernouilli de paramètres χ et n_p :

$$\mathbb{P}(N_e^{(0)} = n_e^{(0)} | N_p = n_p) = \begin{pmatrix} n_p \\ n_e^{(0)} \end{pmatrix} \chi^k (1-\chi)^{n_p - n_e^{(0)}} \tag{2.6}$$

où $\mathbb{P}(N_e^{(0)} = n_e^{(0)} | N_p = n_p)$ désigne la probabilité que $n_e^{(0)}$ électrons soient émis par la photocathode, sachant que cette dernière a capté n_p photons. Il est possible de combiner les deux processus et de s'affranchir de la variable aléatoire N_p en montrant que :

$$N_e^{(0)} \sim \mathcal{P}(\chi\tau I_p) \qquad \equiv \qquad \mathbb{P}(N_e^{(0)} = n_e^{(0)}) = \mathrm{e}^{-\chi\tau I_p} \frac{(\chi\tau I_p)^{n_e^{(0)}}}{n_e^{(0)}!} \tag{2.7}$$

$N_e^{(0)} \sim \mathcal{P}(\chi\tau I_p)$ signifie : "$N_e^{(0)}$ suit une loi de Poisson de moyenne $\chi\tau I_p$". $\mathbb{P}(N_e^{(0)} = n_e^{(0)})$ désigne la probabilité (non conditionnée à N_p) que $N_e^{(0)}$ soit égal à $n_e^{(0)}$.

Les électrons émis par la cathode sont amplifiés par chaque dynode, le paramètre d'amplification étant δ. Là aussi, une introduction d'aléas vient perturber le signal théorique. En moyenne $N_e^{(l)}$, le nombre d'électrons émis par la l-ième dynode, est égal à $\delta N_e^{(l-1)}$, avec $N_e^{(l-1)}$ nombre d'électrons émis par la $(l-1)$-ième dynode ; sa distribution de probabilité est aussi une loi de Poisson.

$$\mathbb{P}(N_e^{(l)} = n_e^{(l)} | N_e^{(l-1)} = n_e^{(l-1)}) = \mathrm{e}^{-n_e^{(l-1)}} \frac{(n_e^{(l-1)})^{n_e^{(l)}}}{n_e^{(l)}!}. \tag{2.8}$$

$\mathbb{P}(N_e^{(l)} = n_e^{(l)} | N_e^{(l-1)} = n_e^{(l-1)})$ se lit comme la probabilité que $n_e^{(l)}$ électrons soient émis par la l-ième dynode, sachant que $n_e^{(l-1)}$ ont été émis par la $(l-1)$-ième. Le schéma (2.4) résume l'introduction d'aléas, au fur et à mesure du passage dans le Photo-Multiplicateur.

Approximation de la loi résultante

Nous pouvons facilement démontrer que le nombre d'électrons moyens collectés par l'anode à la fin du trajet est $\mathbb{E}\left(N_e^{(f)}\right) = \chi\tau I_p \delta^K$ avec K le nombre de dynodes. $\mathbb{E}$ est l'opérateur qui renvoie à l'espérance d'une variable aléatoire. Le signal mesuré par l'ensemble du système d'acquisition est proportionnel au nombre d'électrons reçus par l'anode. Cette quantité est notée $U_{\underline{i}}$. On définit le signal non bruité $u_{\underline{i}}^* = \mathbb{E}(U_{\underline{i}})$. Il est aussi possible de montrer que $u_{\underline{i}}^*$ est proportionnel à $\chi\tau I_p \delta^K$. A ce jour, aucune méthode ne permet de déterminer analytiquement la loi de probabilité de $U_{\underline{i}}$.

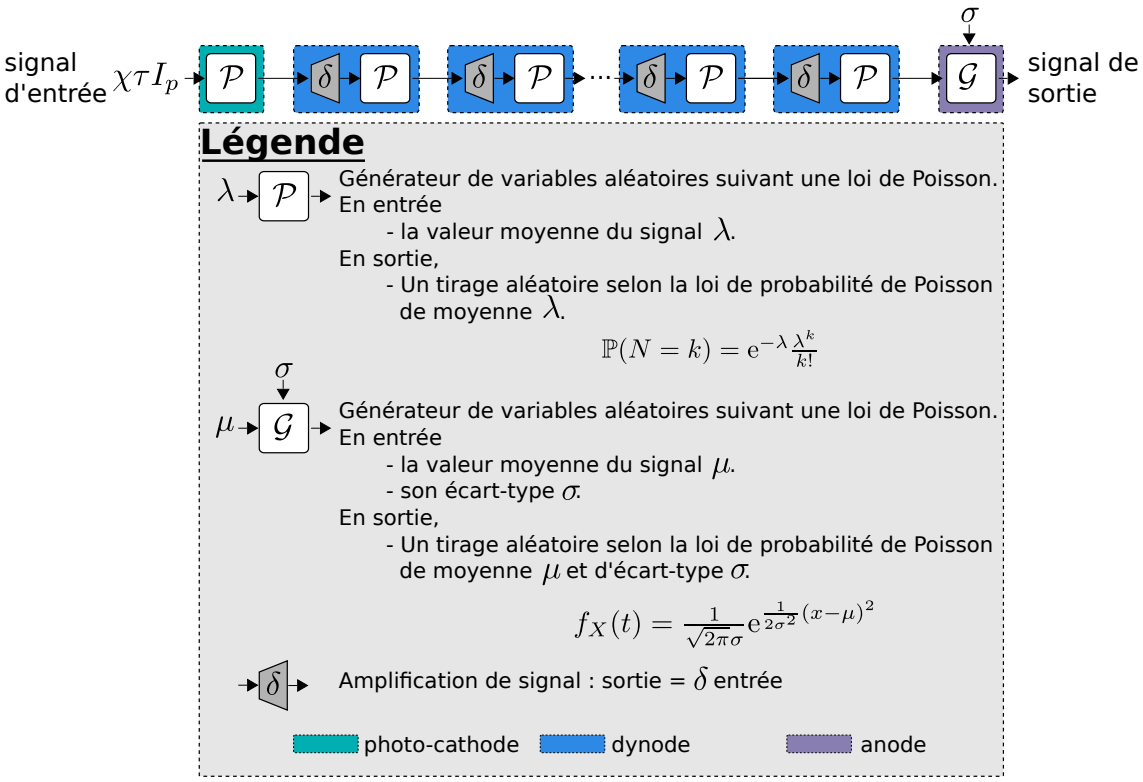


FIGURE 2.4 – modèle statistique d'un Tube PhotoMultiplicateur.

En revanche, elle peut être estimée à l'aide d'une méthode de Monte-Carlo. Pour cela, nous fixons $\chi\tau I_p$, δ et K, générons un grand nombre de tirages issus du processus défini par la figure (2.4) et produisons l'histogramme de cet ensemble. Les résultats sont donnés par la figure (2.5). Nous pouvons alors observer que ce graphe combine une approximation d'une *version continue de la loi de Poisson* avec une loi de Bernouilli, définie de la façon suivante :

$$\mathbb{P}(N_e^{(f)} = k) = \begin{cases} (1-p_0)\dfrac{\lambda^{\alpha k}}{\Gamma(\alpha k+1)S} & \text{si } k \neq 0 \\ p_0 + \frac{1}{S} & \text{si } k = 0 \end{cases} \tag{2.9}$$

Ici p_0. α et λ sont des paramètres de la distribution et Γ est la fonction gamma d'Euler, donnée par :

$$\Gamma(t) = \int_0^{+\infty} x^{t-1}\mathrm{e}^{-x}dx \tag{2.10}$$

Si t, est un entier alors $\Gamma(t+1) = t!$. La valeur de S nous est donnée par :

$$S = \sum_k \frac{\lambda^{\alpha k}}{\Gamma(\alpha k+1)} \tag{2.11}$$

La loi (2.9) peut être interprétée comme la multiplication d'une variable aléatoire

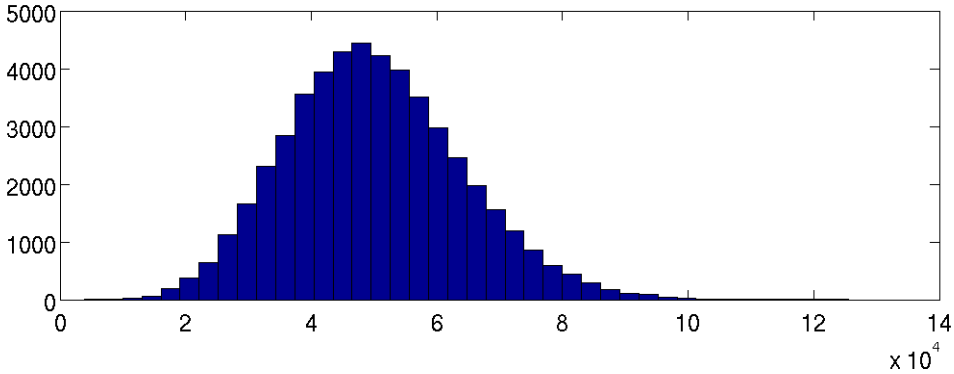


FIGURE 2.5 – Histogramme des valeurs en sortie de simulation de Monte-Carlo du PMT Classique, pour un nombre de dynodes égale à 5, $\delta = 5$, et $\chi\tau I_p = 16$

Bernouilli de paramètre p_0 par une autre variable de loi de Poisson modifiée donnée par loi suivante (nous supposons que X suit une loi de poisson modifiée) :

$$\mathbb{P}(X = k) = \frac{\lambda^{\alpha k}}{S\Gamma(\alpha k + 1)} \tag{2.12}$$

Test de la vadilité de la loi *Bernouilli-Poisson*

Soit E un échantillon d'intensité obtenu par méthode de Monte-Carlo, avec l'intensité d'entrée $\chi\tau I_p$, le nombre de dynode D, et l'amplification par dynode δ, constants. A l'aide d'un maximum de vraisemblance, nous calculons les paramètres α et λ. Le paramètre p_0 se déduit directement des coefficients α et λ ; il est donné par l'équation suivante :

$$p_0 = \frac{\sharp\{e \in E, e \neq 0\}}{\sharp E} - \frac{1}{S} \tag{2.13}$$

avec S défini par (2.11), et $\sharp$ défini par l'opérateur cardinal d'ensemble.

A la suite du calcul de ce modèle de maximum de vraisemblance, nous voulons valider l'hypothèse selon laquelle le bruit s'approche de la loi donnée en (2.9). Afin de tester cette loi, nous supposons la variable de Bernouilli est égale à 1 pour nous intéresser aux sorties non nulles du tirage aléatoire.

Pour ce faire, nous réalisons un test d'hypothèse de type Kolmogorov-Smirnov[61]. Ce test permet de vérifier l'adéquation entre un échantillon et une distribution. En théorie, il est utilisé quand l'échantillon est de taille faible.

Dans notre cas, comme les données sont issues de simulations, il est possible de prendre un échantillon aussi grand que possible. En revanche, nous savons pertinemment que la loi donnée par l'échantillon ne correspond pas exactement à celle donnée en (2.9). Ainsi, pour un échantillon de plus en plus grand, nous nous assurons de la validité de l'hypto-

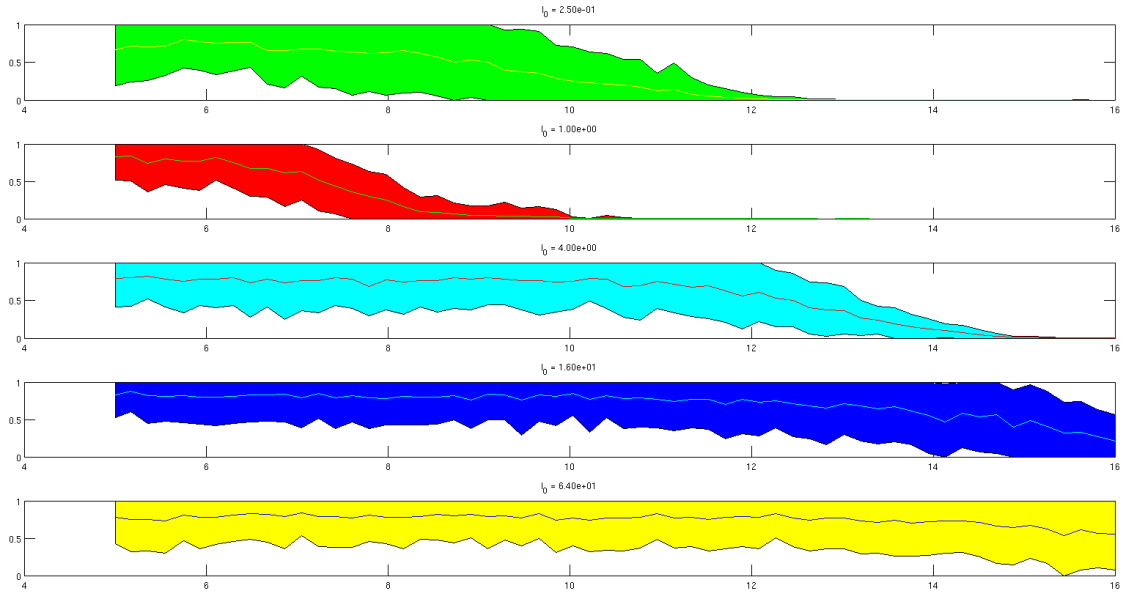


FIGURE 2.6 – Graphes de la décroissance de la p-valeur du test de Kolmogorov-Smirnoff. Un échantillon généré par simulation de Monte-Carlo est comparé à une *loi continue de Poisson*. La p-valeur est attribuée en fonction de la taille de l'échantillon, pour différentes intensités en entrée du Tube Photo-Multiplicateur.

hèse et analysons la décroissance de la p-valeur en fonction de la taille de l'échantillon. Plus la distribution théorique s'éloignera du modèle (2.9), plus cette décroissance sera importante.

Malheureusement, nous n'avons pas pu obtenir auprès du constructeur de PMT les données K, nombre de dynodes, et δ, amplification par dynode ; nous les avons donc fixées arbitrairement à $K = 5$ et $\delta = 5$. Une exploration de paramètres sera envisagée dans le futur. Pour chaque n, nombre d'échantillons, nous avons répété plusieurs fois l'expérience afin d'obtenir une plus grande robustesse de la p-valeur. Un intervalle de confiance $\pm 1.96\sigma$, avec σ écart-type de la p-valeur [3], nous a aussi permis de mesurer sa variabilité. Les résultats nous sont donnés dans la figure (2.6).

Une fois le test d'hypothèse réalisé, nous avons mesuré la valeur du coefficient p_0 en fonction de l'intensité en entrée ; les résultats nous sont donnés dans la figure (2.7).

Sachant que le test de Kolmogorov-Smirnoff est dit fiable pour un ensemble de 30 échantillons, ce qui correspond à environ à 2^5 en abscisse de la figure (2.6), il est observable qu'une faible intensité en entrée n'invalide pas l'hypothèse d'un bruit de Poisson ré-échantillonné (p-valeur > 0.1). En revanche, pour une intensité supérieure à $2^4 = 16$, la

3. Cet intervalle de confiance correspond à celui envisagé dans le cas d'une distribution gaussienne.

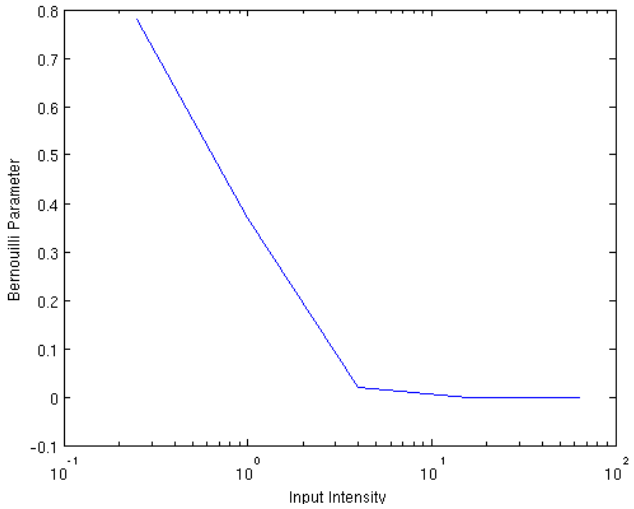


FIGURE 2.7 – Graphe du coefficient de Bernouilli en fonction de l'intensité en entrée.

composante Bernouilli du bruit n'est pas négligeable. La simple hypothèse d'un bruit de Poisson n'est dans ce cas-là plus pertinente.

En conséquence, dorénavant, nous supposerons l'intensité du signal en entrée supérieure à ce seuil. Le réalisme de cette hypothèse est en revanche difficile à évaluer : la correspondance directe entre le nombre d'électrons reçus par la cathode et l'intensité électrique émise par l'anode n'est pas triviale. Ainsi, en mesurant l'intensité d'un pixel, la difficulté de déterminer son adéquation à la contrainte $\chi\tau I_p > 16$ freine la poursuite de cette étude sur le bruit. Dès lors ce travail ouvre le champ à deux nouvelles problématiques :

— Comment valider le cadre dans lequel nous pouvons affirmer la pertinence d'un bruit de Poisson ?

— Quel modèle choisir quand l'intensité sort de ce cadre ?

Ce travail sort du cadre de cette thèse.

Enfin, une dernière approximation, doublement justifiée, premièrement par l'étape de codage du signal électronique sur 8bits, donc sur un ensemble de valeurs prises entre 0 et 255, et deuxièmement par l'ajout des autres aléas du signal non issus du PMT, nous permet de passer de la loi ré-échantillonnée de Poisson (2.9) à la loi classique (2.1).

2.6.2 Cas du PMT hybride

Une autre analyse, à faire dans le cas du PMT hybride, n'a pu être réalisée par manque de temps. En revanche, même s'il n'y a pas eu comparaison sur ce point-là, elle a malgré

tout été appliquée à des images issues de ce système d'acquisition. Des résultats tout à fait convenables ont été observés.

Il peut-être utile de noter l'existence d'analyses sur la distribution du bruit dans le cas d'un PMT hybride [111, 101]. Cependant, chacune repose sur un type différent de photo-diode et la comparaison avec la statistique de Poisson n'est pas souvent effectuée.

Chapitre 3

Analyse de l'évolution des différents courants en débruitage d'image et mise en lien avec l'application à la microscopie 3D

Dans ce chapitre nous allons étudier comment ont évolué les différents modèles et paradigmes dans le débruitage d'images, depuis sa création jusqu'à aujourd'hui. Nous analyserons dans un premier temps les méthodes générales, appliquées à des cas génériques, puis nous nous intéresserons à celles qui ont été importées en imagerie microscopique 3D.

Débruiter une image consiste à estimer, pour chaque pixel/voxel, $\mathbb{E}(U_{\underline{i}})$, U étant une variable aléatoire, et u, l'image bruitée, un tirage de U. La sortie de chaque algorithme de ce chapitre, autrement dit l'approximation de $\mathbb{E}(U)$, sera notée $\tilde{u}$.

Comme le montre la figure (3.1) une image peut se découper en trois régions différentes :

— les zones homogènes : sur ces zones, l'intensité varie peu.
— les textures, rendus visuels d'une matière dont les détails peuvent être de dimensions très fines.
— les contours, appelés aussi *arêtes*, qui sont des discontinuités du signal en intensité.

Même si les valeurs du signal prises par chaque pixel sont issues de tirages aléatoires, elles possèdent des corrélations deux à deux plus ou moins fortes. Comme ces dépendances sont synonymes de redondance d'information, on dit de cette dernière qu'elle est compressible. L'analyse de ces corrélations relève d'heuristiques, cœur même des modèles de débruitage : quand certaines méthodes supposent des dépendances entre pixels voisins,

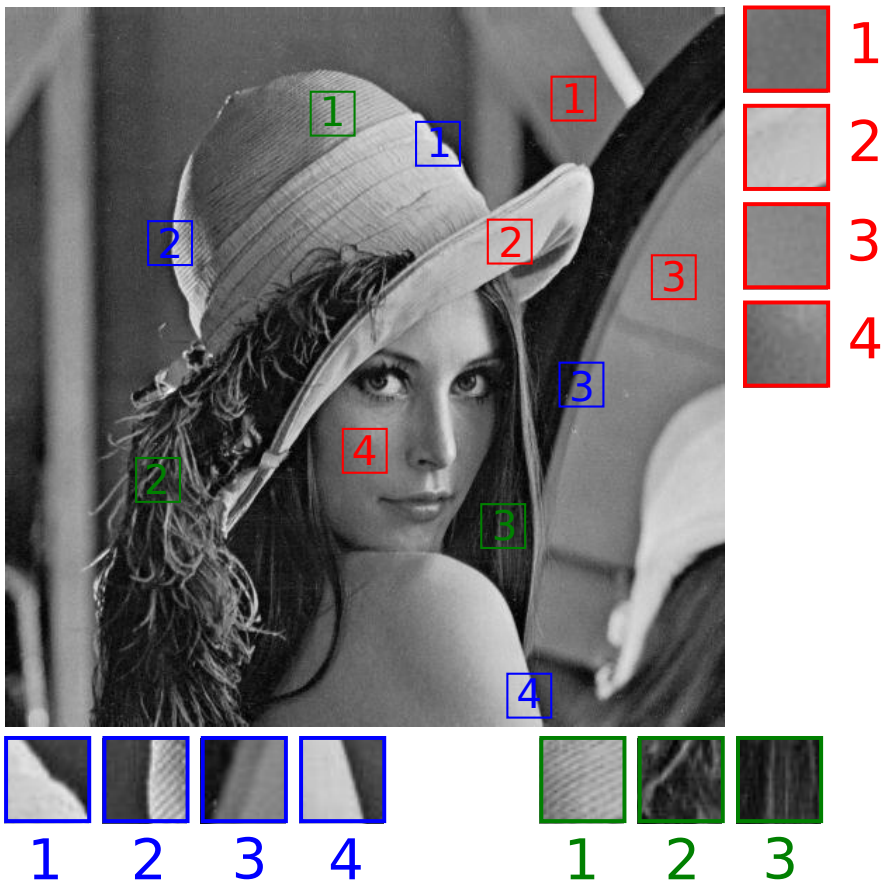


FIGURE 3.1 – Analyse des différentes régions dans une image. Rouge - régions homogènes ; Vert - textures ; Bleu - arêtes

d'autres imposent des contraintes sur les formes recherchées. D'autres encore analysent les répétitions de patterns sur toute l'image.

Jusqu'à la fin des années 90, n'étaient étudiées que les correspondances entre pixels/voxels spatialement proches : deux points voisins ont probablement une intensité similaire. Pour exemple, sur la figure (3.1), ce phénomène se remarque surtout dans les zones vertes. Plus tard, on vit apparaître d'autres méthodes qui s'intéressaient plus à des analyses de similarités sur toute l'image. Cette heuristique permit alors de grandes améliorations sur les images débruitées, en particulier quand la composante texturelle de ces dernières était importante. Dès lors, deux grands axes se dégagent de l'étude de l'ensemble des méthodes de ce domaine : le local et le non local.

L'étude de l'état de l'art dans ce chapitre se déroulera en deux temps. Nous étudierons d'abord les méthodes générales du débruitage appliquées à la 2D en les abordant d'un point de vue historique. Ainsi, les différents paradigmes seront présentés en fonction de leur date d'apparition.

Ensuite nous nous intéresserons aux techniques adaptées aux images 3D possédant les mêmes caractéristiques que les images deux photons. Les méthodes présentées dans cette seconde partie devront être modifiées pour des détérioriations de type Poisson ou Mixe Poisson Gaussien.

3.1 Les débuts du débruitage : des corrélations de voisinage

Les méthodes locales utilisent les corrélations entre pixels voisins. Aux débuts du traitement d'images, ces méthodes consistaient à appliquer des moyennes au sein des voisinages de chaque pixel. Par la suite, trois grands courants se sont simultanément développés :

- Les méthodes variationnelles ; parmi elles, la variation totale est la plus connue.
- Les méthodes par Equation aux Dérivées Partielles (EDP), qui simulent des processus physique dans l'image.
- Les méthodes type ondelettes, d'analyse multi-échelle.

3.1.1 Les premières méthodes de débruitage

Les moyennes locales

Quand on observe un signal temporel, deux valeurs prises à deux instants rapprochés ont une très forte corrélation. Ce phénomène est d'autant plus vrai pour les images dans

lesquelles deux pixels/voxels spatialement voisins ont une probabilité élevée de posséder une intensité proche. Ainsi toutes les méthodes proposées de 1985 au début des années 2000 (1985 étant l'année où les premières techniques de débruitage d'images sont apparues), utilisent cette forte corrélation entre pixels/voxels pour restaurer l'information. L'idée la plus simple, proposée par Nadaraya [69] et Watson [107], a été de supposer, pour chaque pixel, une intensité dans le voisinage spatial $\mathcal{V}$ constante :

$$\mathcal{V}_{NW}^{(h)}(\underline{i}) = \{\underline{i'} \quad , \quad \mathrm{dist}(\underline{i}, \underline{i'}) \leq h\}$$

Où

- h est un paramètre de la méthode
- dist est une distance quelconque. Cette fonction peut-être le plus généralement définie par deux expressions différentes [1]
  - ◇ $\mathrm{dist}(\underline{i}, \underline{i'}) = \frac{1}{2}\left((i_x - i'_x)^2 + (i_y - i'_y)^2 + (i_z - i'_z)^2\right)$
  - ◇ $\mathrm{dist}(\underline{i}, \underline{i'}) = \mathrm{MAX}(|i_x - i'_x|, |i_y - i'_y|, |i_z - i'_z|)$

Nous pouvons ainsi utiliser l'estimateur de vraisemblance et moyenner uniformément toutes les intensités dans son voisinage.

$$\tilde{u}(\underline{i}) = \frac{1}{\sharp(\mathcal{V}_{NW}^{(h)}(\underline{i}))} \sum_{\underline{i'} \in \mathcal{V}_{NW}^{(h)}(\underline{i})} u(\underline{i'}) \tag{3.1}$$

Ce modèle peut être affiné en pondérant cette moyenne par rapport à la distance du pixel de référence. En effet, plus deux pixels sont éloignés, plus leurs intensités respectives ont des chances de différer : le poids α décroît alors en fonction de la distance.

$$\tilde{u}(\underline{i}) = \sum_{\underline{i'} \in \mathcal{U}} \alpha_{\underline{i},\underline{i'}} u(\underline{i'}) \qquad \text{avec} \qquad \sum_{\underline{i'} \in \mathcal{U}} \alpha_{\underline{i},\underline{i'}} = 1 \tag{3.2}$$

Comme ces poids varient en fonction de la distance entre $\underline{i}$ et $\underline{i'}$, nous pouvons les décrire sous la forme d'une fonction $w_{NW}(\underline{i} - \underline{i'})$:

$$\tilde{u}(\underline{i}) = \frac{1}{C_1} \sum_{\underline{i'} \in \mathcal{U}} w_{NW}(\underline{i} - \underline{i'}) u(\underline{i'}), \qquad C_1 = \sum_{\underline{i'} \in \mathcal{U}} w_{NW}(\underline{i} - \underline{i'}) \tag{3.3}$$

Cette opération est aussi connue sous le nom de convolution ; w_{NW} est appelé noyau de convolution. Le plus souvent $w_{NW}(\underline{i} - \underline{i'}) = \exp(-\frac{1}{2a}\|\underline{i} - \underline{i'}\|_2^2)$, avec a paramètre de la méthode [44].

1. Dans le premier cas, ce voisinage correspond à un cercle de rayon h centré sur le pixel considéré. Dans le second, il s'agit d'un carré.

Parmi toutes les méthodes qui suivent le modèle (3.3), il en existe deux qui, à l'origine, reposent sur une heuristique différente [2] :

1. L'approximation polynomiale locale : pour chaque $\underline{i}$, une régression polynomiale est établie sur $\mathcal{V}_{NW}(\underline{i})$. Ensuite, la valeur de $\tilde{u}(\underline{i})$ est calculée suivant ce polynôme.
2. Un cas particulier du filtre de Wiener : l'image est convoluée par le modèle (3.3), puis déconvoluée. L'étape de déconvolution est une approximation de l'opération inverse au processus (3.3). Cette opération est réalisée avec l'ajout d'une contrainte introduite par Tikhonov [103] [3]. Elle est aussi appelée régression ridge. Soit $\mathcal{T}$ l'opérateur qui passe de u à $\tilde{u}$ dans (3.3). L'étape de déconvolution est donnée par le modèle suivant :

$$\tilde{u} = \underset{\tilde{u} \in l_\infty(\mathcal{U})}{\operatorname{argmin}} \frac{1}{2}\|\mathcal{T}\tilde{u} - \mathcal{T}u\|_2^2 + \frac{\lambda}{2}\|\tilde{u}\|_2^2 \tag{3.4}$$

   Ce modèle comporte deux termes : un terme d'adéquation aux données et un terme de régularisation. $\frac{1}{2}\|\mathcal{T}\tilde{u} - \mathcal{T}u\|_2^2$, le terme d'adéquation au données, mesure une distance entre l'image bruitée convoluée et l'image débruitée également convoluée. Le terme de régularisation $\|\tilde{u}\|_2^2$, quant à lui, contraint les intensités de l'image débruitée. Chercher le minimum de la somme des deux revient à trouver l'image débruitée qui réalise le meilleur compromis entre ces deux quantités. Ce compromis est ajusté par λ.

La figure (3.2) donne une vision géométrique des méthodes par moyennage local.

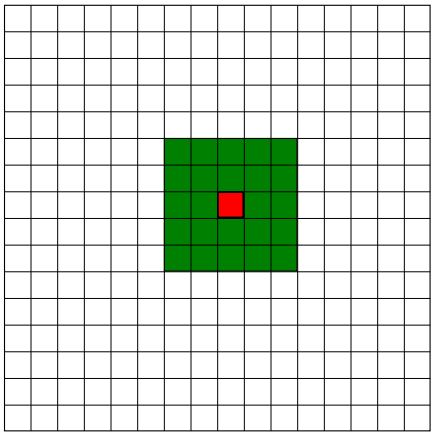
Lorsqu'on traite des images, il existe des régions qui, d'un point de vue intensité, présentent des fortes discontinuités. Deux points spatialement voisins, mais situés de part et d'autre de ces discontinuités auront des intensités totalement différentes. Moyenner localement autour de ces *arêtes* aura pour effet de lisser le signal et, en conséquence, de ne pas le reconstruire correctement (cf. fig (3.4) et fig (3.5)). Pour cette raison, il existe d'autres méthodes de moyennage, qui préservent les arêtes.

Les moyennes non linéaires

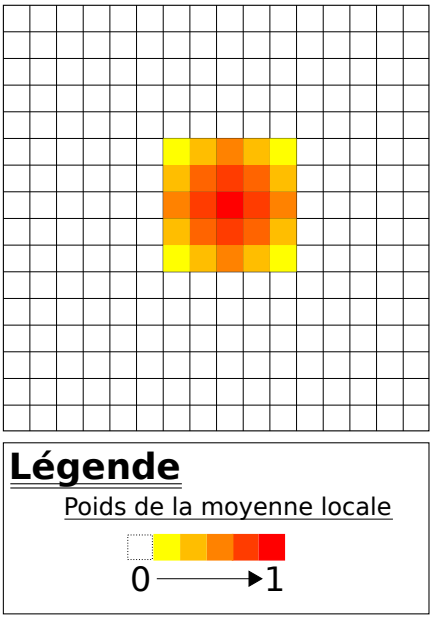
En 1985, Yaroslavsky [110] introduisit le filtre *Neighborhood*. Avec ce filtre, le voisinage n'est plus défini en terme d'espace mais d'intensité.

$$\mathcal{V}_Y^{(h_2)}(\underline{i}) = \{(\underline{i}, \underline{i'}) \quad , \quad |u(\underline{i}) - u(\underline{i'})| \leq h_2\} \tag{3.5}$$

2. Ces méthodes sont à l'origine exprimées différemment, mais, pour chacune d'entre elles, il est possible de trouver un w_{NW} pour qu'elle soit équivalente à 3.3.
3. Cette contrainte n'est pas spécifique au traitement d'images



Dans le modèle de Nadaraya et Watson, pour calculer la valeur du pixel rouge, on moyenne tous les pixels dans la zone verte.



Il est aussi possible de réaliser une moyenne pondérée entre tous les pixels de l'image. Les poids sont définis par les couleurs

FIGURE 3.2 – Schéma explicatif des méthodes de débruitage par moyennage local

Le filtre sigma [50], appelé aussi filtre SUSAN [93] ou filtre bilatéral [104] propose une méthode hybride en terme d'espace et d'intensité. Le voisinage $\mathcal{V}_\sigma$ est défini par

$$\mathcal{V}_\sigma^{(h_1,h_2)}(\underline{i}) = \{\underline{i'} \quad , \quad \mathrm{dist}(\underline{i},\underline{i'}) \leq h_1 \quad , \quad |u(\underline{i}) - u(\underline{i'})| \leq h_2\} \tag{3.6}$$

Dans les deux cas précédents, la moyenne en fonction $\mathcal{V}$ (que ce soit $\mathcal{V}_\mathrm{Y}$ ou $\mathcal{V}_\sigma$) ne change pas.

$$\tilde{u}(\underline{i}) = \frac{1}{\sharp(\mathcal{V}(\underline{i}))} \sum_{\underline{i'} \in \mathcal{V}(\underline{i})} u(\underline{i'}) \tag{3.7}$$

Comme le filtre Nadaraya Watson, le filtre de Yaroslavski peut être généralisé par une fonction de fenêtrage :

$$\tilde{u}(\underline{i}) = \frac{1}{C_2(i)} \sum_{\underline{i'} \in \mathcal{U}} w_1(\underline{i} - \underline{i'}) w_2(|u(\underline{i}) - u(\underline{i'})|) u(\underline{i'}), \quad C_2(i) = \sum_{\underline{i'} \in \mathcal{U}} w_1(\underline{i} - \underline{i'}) w_2(|u(\underline{i}) - u(\underline{i'})|) \tag{3.8}$$

Si ces filtres peuvent être pertinents dans le cas d'un bruit additif, c'est à dire quand la variance de ce dernier est indépendante du signal non détérioré, il n'en va pas de même pour un bruit multiplicatif, ou un bruit de Poisson. En effet, w_2 est avant tout paramétré en fonction de la variance du bruit qui est non constante si ce dernier est corrélé au signal.

Le filtre Median

Comme les modèles (3.1) et (3.3) détériorent les images en lissant les arêtes, Tukey [106] propose une alternative à ce problème : la substitution du calcul de la moyenne par celui de la valeur médiane.

$$\tilde{u}(\underline{i}) = \text{MEDIAN}(u(\mathcal{V}(\underline{i}))) \tag{3.9}$$

Ici $u(\mathcal{V}(\underline{i}))$ désigne l'ensemble des intensités dans le voisinage du pixel/voxel $\underline{i}$. Dans [5], les auteurs ont pu prouver que, lors du passage d'un filtre linéaire (par exemple le filtre de Wiener ou la moyenne locale) à un filtre médian, le gain était réellement significatif dans le cas de la reconstruction du signal autour des arêtes.

3.1.2 Les méthodes par Équation aux Dérivées Partielles (EDP)

En 1987, Perona et Malik [78] introduisent la diffusion anisotrope. La diffusion, très bien connue des physiciens, est un processus qui intervient dans beaucoup de phénomènes physiques. La propagation de la chaleur dans un milieu matériel ou encore la dissémination d'encre dans un liquide au repos sont des exemples typiques de diffusion. Appliqué au traitement d'images, ce procédé est modifié pour préserver les arêtes.

Dans le cas de la diffusion anisotrope, les points de haute intensité diffusent vers les points de basse intensité. Cependant, comme son nom l'indique, ce procédé n'est pas uniforme car Perona et Malik ont ajouté des contraintes supplémentaires de manière à préserver les arêtes. Les zones à fort gradient de l'image freinent et parfois stoppent la diffusion, comme un obstacle solide bloquerait la dissémination de l'encre dans l'eau, ou encore un isolant thermique s'opposerait à la propagation de la chaleur. Ce modèle reste instable dans le cas où la quantité de bruit reste trop importante. Pour pallier ce problème, il est possible d'utiliser une version *lissée* du gradient [23]

En 1992, Alavarez et al. [3] ont modifié cette version de façon à ce que la diffusion se réalise dans des directions perpendiculaires au gradient.

Depuis les travaux de Perona et Malik, un très grand nombre de méthodes par EDP ont été développées ; un état de l'art approfondi sur ces méthodes peut être trouvé dans [108] et [85].

3.1.3 La Variation Totale

Les méthodes variationnelles ont connu leur essort en 1992 sous l'impulsion de Rudin et Osher [84] qui introduisirent la variation totale. La Variation Totale (TV) est une mesure de parcimonie de gradient sur l'image. La parcimonie d'un vecteur est définie

comme le nombre de composantes non nulles.

$$\text{T.V.}(u) = \|\nabla u\|_{1,2} := \sum_{\underline{i} \in \mathcal{U}} |\nabla u|_{\underline{i}} \tag{3.10}$$

Elle s'intègre le plus généralement dans un modèle de minimisation fonctionnelle. Cette classe de méthodes se réalise en deux temps :

— Une fonction, dite *fonction énergie*, est établie. Elle comporte le plus généralement deux termes : un terme d'attache aux données, et un terme de régularisation. Le terme d'attache aux données renvoie une distance entre l'image que l'on souhaite reconstruire et la donnée, i.e. l'image bruitée. Au contraire, le terme de régularisation, ou pénalisation, corrige le bruit. On lui associe généralement un a-priori qui contraint l'image rétablie. La fonction énergie mesure donc un compromis entre adéquation aux données et régularité.

— La recherche du minimum de la fonction énergie. Minimiser la fonction énergie revient à trouver l'image qui réalise le meilleur compromis entre adéquation aux données et régularité. Ce minimum peut-être trouvé de manière analytique [102], ou approché par l'utilisation d'un algorithme d'optimisation.

Dans notre cas, la variation totale est employée comme terme de régularisation dans la fonction à minimiser :

$$\tilde{u}_{\text{TV}} = \underset{\tilde{u} \in l_\infty(\mathcal{U})}{\text{argmin}} \frac{1}{2}\|\tilde{u} - u\|_2^2 + \lambda \text{T.V.}(u) \tag{3.11}$$

Ici $\frac{1}{2}\|\tilde{u} - u\|_2^2$ est une mesure de distance entre l'image reconstruite et l'image bruitée : $\frac{1}{2}\|\tilde{u} - u\|_2^2 = \frac{1}{2}\sum_{\underline{i}} (\tilde{u}_{\underline{i}} - u_{\underline{i}})^2$. λ, quant à lui, est un paramètre de la méthode qui pondère le compromis par rapport à l'adéquation aux données.

Les méthodes qui utilisent la variation totale lissent les régions *sensiblement* homogènes d'une image (cette sensibilité est paramétrée par λ), tout en préservant les contours des objets. La pénalité T.V. donne alors un effet *cartoon* sur les images. Il peut être compensé par une itération de cette méthode, avec un raffinement sur le paramètre de régularisation λ de façon à capturer des structures de plus en plus fines comme proposé par [100] ou [74]. Dans [82], les auteurs établissent un état de l'art sur toutes les méthodes variationnelles qui utilisent l'opérateur de régularisation T.V.. Ils exposent en particulier différents termes d'adéquation aux données en fonction de la statistique du bruit determinée a-priori.

Il est aussi intéressant de noter les travaux réalisés par Bredies et al [13] qui généralisent

la variation totale à des parcimonies de dérivées d'ordre supérieur.

3.1.4 Les opérateurs de type ondelette

Bref historique des ondelettes et de leurs dérivées

L'introduction des ondelettes par Meyer au début des années 90 [64] a permis notamment l'introduction d'a-priori dans le débruitage d'images. Les ondelettes sont des opérateurs linéaires qui permettent d'éclater le signal sur plusieurs échelles. Une échelle définit un ordre de taille sur les objets présents dans l'image.

Ces opérateurs purent être appliqués à l'analyse d'images, notamment grâce à Mallat [56, 58] et Daubechies [33, 32]. Les domaines d'application sont larges : compression d'information, reconnaissance et détection d'objets ainsi que débruitage d'images.

Les ondelettes s'appliquaient à l'origine à une très grande classe de signaux : les a-priori sur les objets représentés [4] étaient faibles. Par la suite, la théorie originale de Meyer puis de Mallat fut étendue à une plus grande classe d'opérateurs, chacun rattaché à des cas plus spécifiques. On observe donc dans les années 90 une course aux opérateurs type ondelettes.

Les curvelets [18, 20], qui s'intéressent aux arêtes lisses, les ridgelets [19], qui s'occupent des arêtes rectilignes, les ondelettes isotropes [95], les SURElets [10], surfacelets [51], les contourlets [36] sont tous nés de ce courant. Aujourd'hui plus de 200 opérateurs de ce type sont dénombrés (Un décompte peut être trouvé dans [1]).

Dans ce rapport nous nommerons l'ensemble de ces transformations sous le terme générique *Xlets*. L'apport des Xlets aux ondelettes repose sur le paradigme suivant : quand les objets traités sont simples, un gain en généralité entraîne une perte en efficacité.

Débruitage et Parcimonie

On note ψ la fonction de transformée en ondelettes. ψu est la représentation en ondelettes de u : c'est un ensemble d'images de même dimension (2D ou 3D) que u. En revanche, la taille peut différer d'une image à une autre. On associe généralement une échelle à une image (la réciproque n'est pas vraie) et on note $(\psi u)(\underline{i}, j)$ la voxel de coordonnées $\underline{i}$ de j-ième image. L'application d'un opérateur type ondelettes à une image est appelée une représentation.

L'efficacité des ondelettes en analyse d'images découle d'une propriété intrinsèque : la spécificité de représenter de manière parcimonieuse les données, c'est à dire de les co-

4. Dans ce paragraphe un objet peut faire génériquement référence à une texture, une forme, une variation d'intensité, ou à un motif présent sur une image.

difier sous forme d'un ensemble de coefficients à grand nombre d'intensités nulles. Cette caractéristique s'applique pour une grande classe d'objets potentiellement représentés. Autrement dit, l'image n'a pas besoin d'être contrainte par des forts a-priori pour que l'information soit compressible. En revanche, chaque autre opérateur de type Xlets s'intéresse à une nouvelle classe d'objets et y optimise le processus de *parcimonisation*.

Dans le cas des curvelets, les arêtes lisses font l'objet d'intérêt. Les ridgelets, quant à elles, s'occupent des arêtes rectilignes,... Dans [56, 98, 81], figurent plusieurs applications de ces représentations au débruitage d'image. Ce document traitera des ondelettes non décimées isotropes, ou *starlets*, qui cherchent à représenter les formes "presques isotropes".

Les transformées parcimonieuses sont en général très efficaces pour le débruitage : quand l'image est en adéquation avec les a-priori imposés par une transformée, le résultat de l'association des deux est parcimonieux. On dit que l'information est compressée. Le bruit est par définition incompressible car il ne présente aucune structure particulière et ne suit pas non plus d'a-priori. La composante bruit du signal ne peut donc pas avoir une transformée parcimonieuse. L'application d'ondelettes ou de Xlets à un signal détérioré entraîne alors un vecteur avec peu d'entrées qui concentrent la donnée non bruitée. Les autres composantes, de basse intensité, relèvent principalement du bruit. De cette manière, la transformée d'une image bruitée peut donc séparer le signal parasite, qui n'est pas réductible, de la véritable information compressée.

Les différentes méthodes de débruitage par ondelettes ou Xlets

Le débruitage d'image par ondelettes, qui a commencé avec Mallat [57], a vraiment connu son essort grâce aux travaux de Donoho et Johnstone [38, 37]. Ces derniers ont proposé de seuiller les coefficients d'une transformée en ondelettes appliquée à une image. Ils sont retournés à l'image reconstruite à l'aide d'une transformée inverse.

Il existe deux méthodes différentes de seuillage ; chacune d'entre elles prend en paramètre τ, un réel positif :

— le seuillage doux :

$$S.T._\tau(d)(\underline{i},j) = \begin{cases} d(\underline{i},j)+\tau & \text{si } d(\underline{i},j) \leq -\tau \\ 0 & \text{si } -\tau < d(\underline{i},j) < \tau \\ d(\underline{i},j)-\tau & \text{si } d(\underline{i},j) \geq \tau \end{cases} \tag{3.12}$$

— le seuillage dur :

$$H.T._\tau(d)(\underline{i},j) = \begin{cases} d(\underline{i},j) & \text{si } |d(\underline{i},j)| \geq \tau \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \tag{3.13}$$

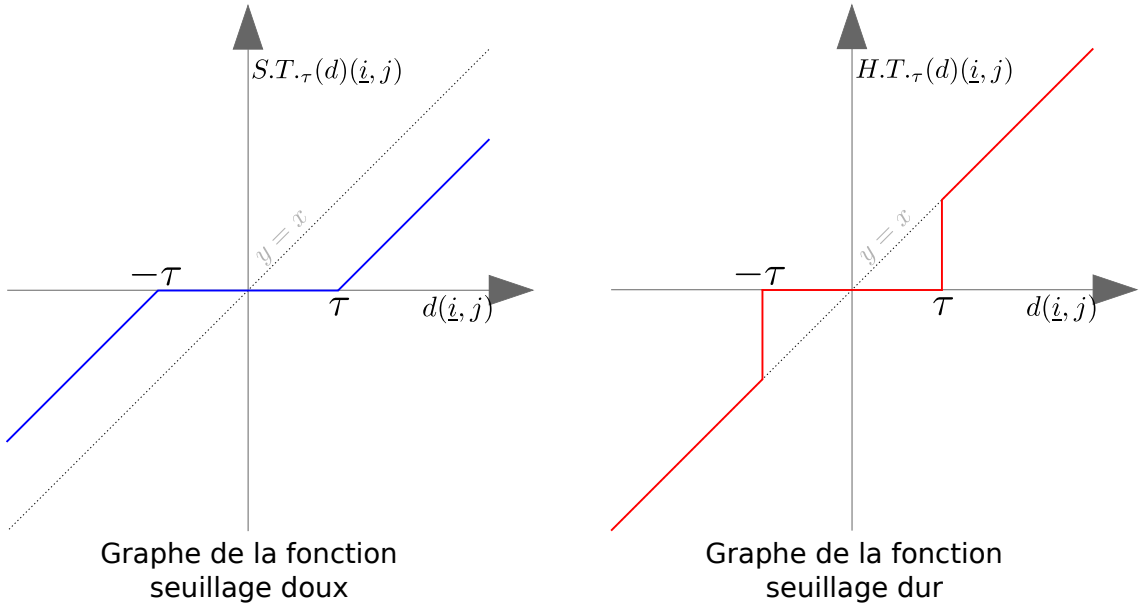


FIGURE 3.3 – Graphe des fonctions seuillages doux et dur

Dans ces deux équations, d est une transformée en ondelettes. Elle correspond à un ensemble d'images de taille variable. Chaque image fait référence à une échelle donnée. $d(\underline{i},j)$ renvoie le voxel $\underline{i}$ de l'échelle j.

Les appellations S.T. et H.T. désignent en réalité les acronymes des termes anglais *Soft-Tresholding* et *Hard-Tresholding* qui signifient respectivement seuillage doux et seuillage dur. La figure (3.3) montre les courbes de ces seuillages appliqués à un voxel, à paramètre τ fixé. Donoho et Johnstone proposent le schéma de débruitage suivant :

$$\tilde{u}_{\mathrm{ThW}} = \psi^{-1}(S.T._\tau(\psi u)) \qquad \text{ou} \qquad \tilde{u}_{\mathrm{ThW}} = \psi^{-1}(H.T._\tau(\psi u)) \tag{3.14}$$

Ici ψ est la transformée en ondelettes et ψ^{-1} la transformée en ondelettes inverse.

Dans leurs articles, Donoho et Johnstone ont aussi déterminé le paramètre optimal pour un seuillage doux afin de minimiser "l'erreur dans le pire des cas" : $\tau^* = \sigma\sqrt{2N\log(N)}$, avec σ écart-type du bruit et N nombre de pixels/voxels du signal. A noter que ce seuil n'est pertinent que dans le cas d'une détérioration de type gaussien.

Tibshirani généralisa en 1996 [102] un modèle de minimisation équivalent au seuillage doux ; il le qualifia de modèle LASSO :

$$\begin{aligned} \tilde{x} &= \underset{x\in\mathrm{dom}(\psi^{-1})}{\mathrm{argmin}} \frac{1}{2}\|\psi^{-1}x - u\|_2^2 + \lambda\|x\|_1 \\ \tilde{u} &= \psi^{-1}\tilde{x} \end{aligned} \tag{3.15}$$

Où

— $\frac{1}{2}\|\psi^{-1}x-u\|_2^2$ définit une distance entre les deux images $\psi^{-1}x$ et u : $\frac{1}{2}\|\psi^{-1}x-u\|_2^2 = \frac{1}{2}\sum_{\underline{i}}((\psi^{-1}x)(\underline{i})-u(\underline{i}))^2$.

— $\|x\|_1$ est une approximation de la parcimonie de x : $\|x\|_1 = \sum_{\underline{i},j}|x(\underline{i},j)|$.

L'équivalence entre seuillage doux et modéle LASSO n'est alors possible que si ψ vérifie la propriété, suivante : pour toute image u_1 et u_2, $\langle\psi u_1,\psi u_2\rangle_{\mathcal{X}} = \langle u_1,u_2\rangle_{\mathcal{U}}$. On dit alors que ψ est orthogonale. Ici $\langle\psi u_1,\psi u_2\rangle_{\mathcal{X}}$ définit le produit scalaire entre deux transformées en ondelettes et $\langle u_1,u_2\rangle_{\mathcal{U}}$ définit le produit scalaire entre deux images.

$$\langle\psi u_1,\psi u_2\rangle_{\mathcal{X}} = \sum_{\underline{i},j}(\psi u_1)(\underline{i},j)(\psi u_2)(\underline{i},j) \qquad \text{et} \qquad \langle u_1,u_2\rangle_{\mathcal{U}} = \sum_{\underline{i}} u_1(\underline{i})u_2(\underline{i}) \tag{3.16}$$

Si la transformée classique en ondelettes [32] proposée par Ingrid Daubechies vérifie cette propriété, ce n'est pas le cas d'un grand nombre de décompositions multi-échelle. Ainsi Tibshirani propose une alternative au seuillage dans des cas plus généraux.

Comme le seuillage doux, le seuillage dur peut-être généralisé par une minimisation au moyen de la norme 0 :

$$\begin{aligned}\tilde{x} &= \underset{x\in\mathrm{dom}(\psi^{-1})}{\mathrm{argmin}}\ \frac{1}{2}\|\psi^{-1}x-u\|_2^2+\lambda\|x\|_0\\ \tilde{u} &= \psi^{-1}\tilde{x}\end{aligned} \tag{3.17}$$

$\|x\|_0 = \sharp\{x(\underline{i},j)\neq 0\}$ est la parcimonie de la transformée multi-échelle. $\sharp$ désigne le cardinal d'un ensemble. D'autres Xlets, comme par exemple [96, 62], ont su s'adapter aux modèles (3.15) et (3.17). Elles ont pu ainsi prolonger les travaux de Tibsihirani, Donoho et Johnstone pour plusieurs types d'opérateurs multi-échelle.

Dans cette thèse nous nous intéresserons à un type d'ondelettes très particulier : les ondelettes non décimées isotropes (IUWT pour *Isotropic Undecimated Wavelet Transform*) [95], appelées aussi starlets car leurs propriétés leur permettent une bonne adaptation à l'imagerie spatiale. Leur utilisation dans le débruitage, différente de celle de Donoho, Johnstone ou Tibsihirani, repose sur une analyse statistique très spécifique des images issues de deux photons.

Les effets produits par ces algorithmes de débruitage

Toutes les méthodes décrites précédemment sont locales. Les figures (3.4) et(3.5) nous donnent des résultats de ces techniques appliquées à l'image de Lena. Si l'algorithme de moyenne locale est très peu utilisé de nos jours, c'est qu'il n'est à même de ne conserver ni les textures ni les arêtes.

Le filtre median donne de meilleurs résultats mais reste inférieur au filtre bilatéral, à la diffusion anisotrope et à la variation totale qui, eux, lissent les régions homogènes tout en conservant les arêtes. Cependant, ces méthodes ne réussissent pas à retrouver parfaitement une texture. L'effet *cartoon* sur les images trouve là son origine. Le débruitage par ondelettes donne de meilleurs résultats à ce niveau mais génère, sur l'image, des artefacts bien observables au niveau des yeux de Lena sur la figure 3.5. Ces artefacts sont décrits comme des oscillations produites par les ondelettes au niveau des contours.

3.2 Des méthodes locales aux méthodes globales

3.2.1 Du modèle ondelettes à l'apprentissage de dictionnaires

L'essor engendré par les ondelettes au cours des années 90 et la course au système de réprésentation le plus optimal ont ouvert le domaine à de nouvelles manières de penser. L'opérateur de transformée en ondelettes ψ des équations (3.15) et (3.17), n'est plus une transformation entre deux espaces, mais un ensemble de patterns $\{\psi e_i\}_i$ où e_i est un vecteur canonique[5] de $\mathrm{dom}(\psi)$. Les équations (3.15) et (3.17) ainsi que leur argument minimal x exhibent des superpositions de ces patterns. Si l'opérateur de régularisation mesure la parcimonie de x, alors ces modèles définissent l'image comme un assemblage d'un nombre restreint de ces patterns.

A l'instar d'un discours, ensemble de mots spécifiques sélectionnés dans un dictionnaire, l'image devient un ensemble de patterns spécifiques sélectionnés au sein de ψ. Si, au travers d'un discours, il est facile de corréler richesse du langage – donc taille du dictionnaire – et concision de l'information – nombre de mots utilisés – il est possible de faire de même pour une image. Plus le nombre de mots présents dans ψ (donné par la dimension de $\mathrm{dom}(\psi)$) est important, plus il sera facile de trouver un vecteur parcimonieux x reconstituant l'image. Grâce à cette analogie, l'opérateur ψ prend le nom de dictionnaire.

Cette comparaison s'enrichit si l'on se place dans un contexte spécialisé. A taille de dictionnaire linguistique égale, il sera beaucoup plus difficile de parler de bricolage si notre bagage linguistique porte sur la cuisine : on aura alors tendance à *tourner autour du pot*, donc à employer plus de mots. De la même manière, pour traiter un thème spécifique, il est préférable d'utiliser un dictionnaire spécialisé plutôt que générique. Il en est de même pour une image : un dictionnaire sera plus performant s'il lui est propre.

L'appellation des transformations multi-échelle par le terme dictionnaire date de 1993 et doit son origine à Mallat [59]. Ce dernier eut l'intuition que des représentations sur-

5. Un vecteur canonique e_i est un vecteur dont toutes les coordonnées sont nulles, mise à part la i-ème qui vaut 1. Dans le cas d'une image, toutes les intensités à l'exception d'une seule seront nulles.

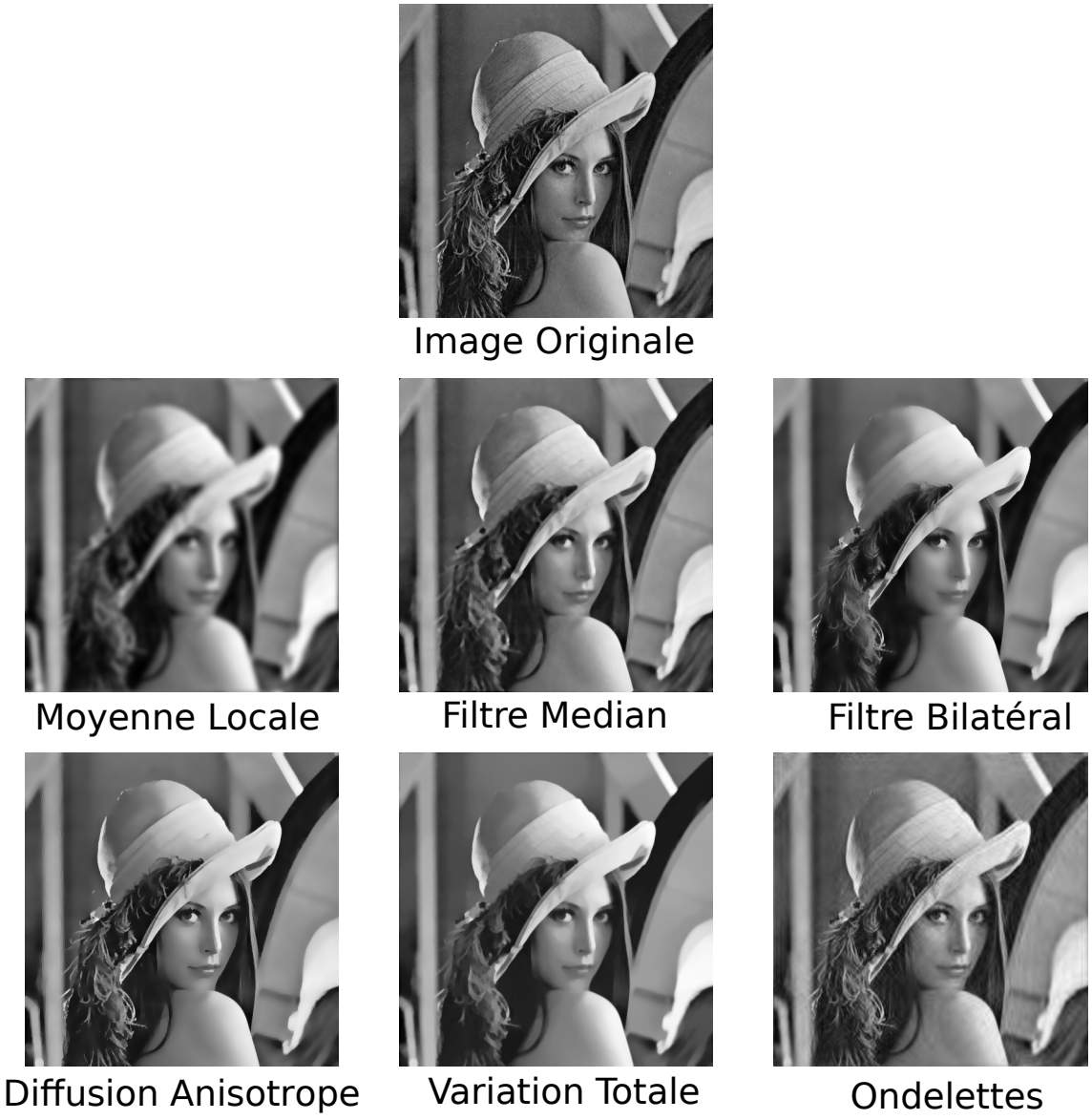


FIGURE 3.4 – Résultat de différentes méthodes de débruitage appliquées à l'image de Lena.

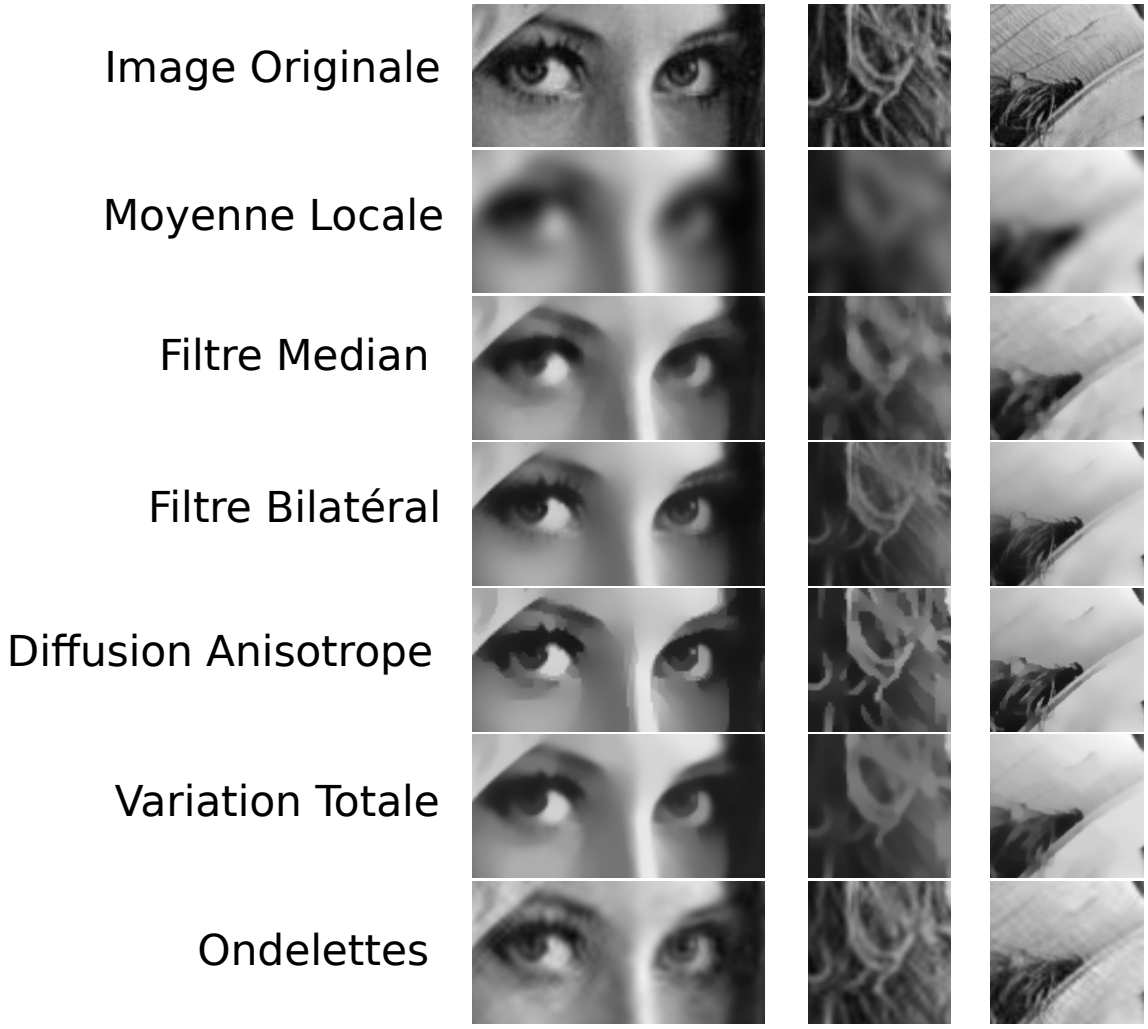


FIGURE 3.5 – Résultat de différentes méthodes de débruitage appliquées à l'image de Lena : Zoom sur des régions ciblées. 1 - Yeux - region à forts contours. 2 - Zone texturelle . 3 - Contour délimitant texture et région homogène

complètes, c'est à dire des représentations dont le nombre de coefficients obtenus était très supérieur au nombre de pixels/voxels de l'image, étaient beaucoup plus efficaces pour représenter un signal de manière parcimonieuse. Cette idée s'est bien sûr renforcée avec les travaux de Chen et al. [27] et de Simoncelli et al. [90] . Les premiers ont eu l'idée de juxtaposer plusieurs représentations parcimonieuses pour en former une plus grande ; les seconds, de leur côté, ont montré que l'introduction de redondance dans des systèmes de représentation pouvait améliorer les résultats grâce à des propriétés d'invariance par translation. Une transformation sur-complète, ou *redondante*, contiendrait plus de motifs et serait donc plus efficace : elle coderait une information plus générique de manière plus parcimonieuse.

L'introduction de spécificité, qui a permis la transition des ondelettes à tout un ensemble de curvelets, ridgelets, bandelets, et autres Xlets [6], s'est accentuée au début des années 2000 : la recherche s'est orientée vers des dictionnaires très spécialisés. De par la complexité des objets à représenter, ces dictionnaires ne peuvent plus être déterminés a-priori, mais appris à partir d'une ou plusieurs images de même classe. Les images que l'on souhaite débruiter peuvent servir de base d'apprentissage. Cette idée a été introduite en 1996 par Olshausen et Field [71] qui ont établi un parallèle entre le paradigme des dictionnaires et la neuroscience en s'intéressant au traitement de l'information par le cortex visuel de notre cerveau.

Ce modèle de reconstruction est très semblable aux modèles (3.15) et (3.17). Toutefois, dans ce cas, ϕ, l'opérateur lié à la transformée est aussi une variable à optimiser :

$$\begin{aligned} \tilde{x} &= \underset{\substack{\phi \in \mathcal{L}(\mathbb{R}^N, \mathcal{U}) \\ x \in \mathrm{dom}(\phi)}}{\mathrm{argmin}} \frac{1}{2}\|\phi x - u\|_2^2 + \lambda \mathcal{R}(x) \\ \tilde{u} &= \phi \tilde{x} \end{aligned} \tag{3.18}$$

Dans les deux modèles, $\mathcal{R}$ est une pénalité qui contraint la parcimonie de son argument. Dans [55], les auteurs ont paramétré $\mathcal{R}$ comme la norme 1 ($\mathcal{R}(x) = \|x\|_1$), tandis que dans [2], c'est la norme 0 qui est choisie ($\mathcal{R}(x) = \|x\|_0$). Dans [71], cet opérateur est égal à

$$\mathcal{R}(x) = \sum_{\underline{i},j} \log(1 + x(\underline{i}, j)^2) \tag{3.19}$$

6. Une Xlet fait invariablement référence à tout type de représentation multi-échelle qui découle de la théorie des ondelettes

$\mathcal{L}(\mathcal{U}, \mathbb{R}^N)$ (resp. $\mathcal{L}(\mathbb{R}^N, \mathcal{U})$) désigne l'ensemble des opérateurs linéaires de $\mathcal{U}$ dans $\mathbb{R}^N$ (resp. $\mathbb{R}^{\mathbb{N}}$ dans $\mathcal{U}$).

Dans le contexte des dictionnaires, et ce, contrairement à toutes les méthodes précédemment présentées, si l'on souhaite retrouver la valeur d'un pixel/voxel sur l'image reconstruite, le voisinage de ce pixel ne sera plus le seul facteur d'analyse : sa valeur sera retrouvée de manière globale. Un dictionnaire est bien adapté à une image si cette dernière se code avec peu de ses mots. Ainsi, pour l'apprendre, les algorithmes de la littérature vont rechercher des redondances de patterns dans les données.

Une dualité débruitage local/débruitage global surgit avec la notion d'apprentissage de dictionnaires :

— Une fois le dictionnaire calculé, les mots qu'il contient sont placés de manière optimale pour mieux coïncider avec l'information. D'un point de vue local, la valeur d'un pixel sera calculée par rapport à son voisinage et par rapport au dictionnaire : un mot ou un très petit ensemble de mots adéquats est choisi pour correspondre à l'information autour de ce pixel.

— D'un point de vue global, le dictionnaire est calculé par rapport à l'ensemble de l'image. Ce calcul repose sur une comparaison de voisinage entre tous les pixels.

L'utilisation de cette répétition de patterns est encore au coeur des méthodes les plus récentes de débruitage.

3.2.2 L'algorithme Non Local Mean

L'algorithme Non Local Mean (NLM, [14]) s'appuie sur cette répétition de patterns tout en utilisant une formule différente. Pour calculer la valeur d'un pixel/voxel donné, une moyenne pondérée entre tous les autres pixels de l'image est réalisée :

$$\tilde{u}(\underline{i}) = \frac{1}{C_{\mathrm{NLM}}(\underline{i})} \sum_{\underline{i}' \in \mathcal{U}} w_{\mathrm{NLM},u}(\underline{i}, \underline{i}') u(\underline{i}') \tag{3.20}$$

où $w_{\mathrm{NLM},u}(\underline{i}, \underline{i}')$, les poids de cette moyenne, vérifient la condition suivante :

— Si les voisinages de $\underline{i}$ et $\underline{i}'$ sont similaires, alors les poids considérés seront élevés. Autrement dit le pixel $\underline{i}'$ joue un rôle important dans la moyenne.

— Au contraire, si les voisinages sont différents, le pixel $\underline{i}'$ est très peu pris en compte dans cette moyenne (faible valeur de $w_{\mathrm{NLM},u}$).

Dans la pratique on a :

$$w_{\mathrm{NLM},u}(\underline{i}, \underline{i}') = \exp\big(-D(\ u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}))\ ,\ u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}'))\ )\ \big) \tag{3.21}$$

Où

— La distance D est une mesure de comparaison locale entre $u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}'))$ et $u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}))$.
— $\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i})$ (resp. $\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}')$) est l'ensemble des coordonnées $\underline{i}''$ se situant dans un carré/cube d'arête $2p+1$ (p est un paramètre défini par la méthode). Cet ensemble est centré en $\underline{i}$ (resp en $\underline{i}'$).
— $u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}))$ (resp. $u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}')))$, est l'ensemble des valeurs prises aux pixels $\underline{i}''$ par l'image. $u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}))$ et $u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}'))$ sont des *sous-images*, des *patchs*, centrées autour des pixels $\underline{i}$ et $\underline{i}'$.
— La constante de normalisation $C_{\mathrm{NLM}}(\underline{i})$ est définie par

$$C_{\mathrm{NLM}}(\underline{i}) = \sum_{\underline{i}' \in \mathcal{U}} w_{\mathrm{NLM},u}(\underline{i}, \underline{i}') \tag{3.22}$$

3.2.3 L'algorithme Block Matching 3D

Le Block Matching 3D (BM3D, [29, 30]) a pour principe de regrouper les blocks similaires d'une image 2D (resp. 3D) puis de les empiler pour former une image 3D (resp. 4D). Pour cela, son voisinage (toujours défini comme carré/cube d'arête $2p+1$) est comparé avec tous les patchs cubiques d'arête $2p+1$ contenus dans l'image. Parmi tous ces patchs, nous sélectionnons seulement les plus similaires :

$$\mathcal{S}^{(p,h_{\mathrm{BM3D}})}(\underline{i}) = \left\{ u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}')) \quad , \quad D(\ u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i})), u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}'))\ ) < h_{\mathrm{BM3D}} \right\}$$

p et h_{BM3D}, sont deux paramètres de la méthode. La figure (3.6) montre un exemple de sélection de patchs à partir d'un patch de référence. Il est alors possible d'observer que tous les patchs sélectionnés sont très ressemblants au patch de référence.

Il y a donc une redondance d'information locale très forte sur l'image 3D (resp. 4D). Les patchs qui la composent sont alors débruités à l'aide d'une méthode de restauration donnée en (3.1.4) et (3.2.1), ou à l'aide de méthodes de réduction de dimension [31] . Le plus souvent le modèle choisi est (3.17) ou (3.15).

La figure (3.7) schématise la méthode. Les trois premières étapes de cette figure sont des opérations réalisées par pixel/voxel.

Pour chaque pixel $\underline{i}$, nous opérons les 3 actions suivantes :

— comparaison du voisinage de $\underline{i}$ avec l'ensemble des patchs de l'image pour sélectionner les plus similaires.
— Empilement de la sélection pour l'obtention d'une image 3D.
— Débruitage de celle-ci.

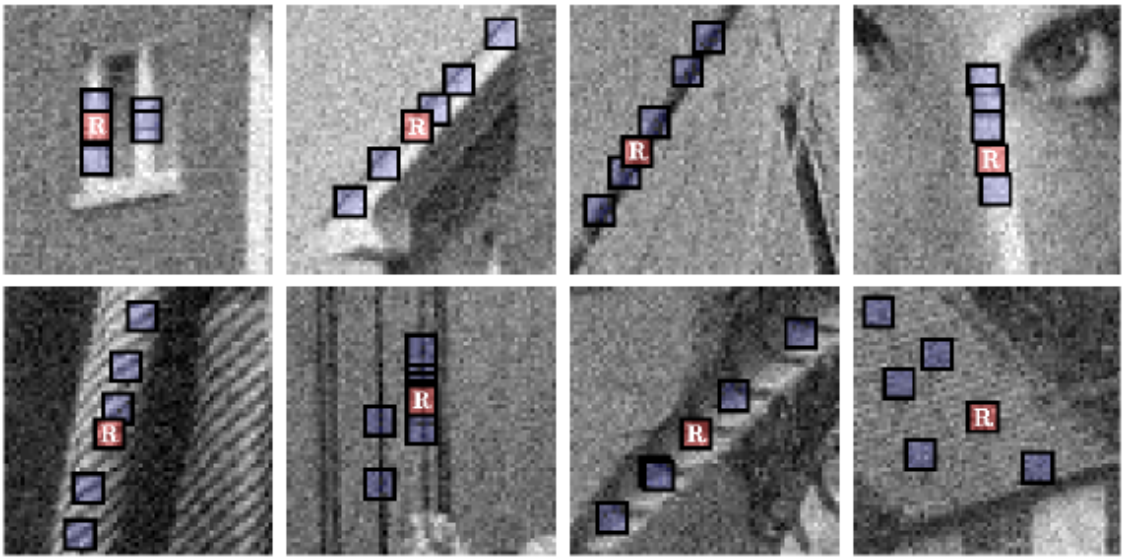


FIGURE 3.6 – Exemple d'une sélection de patchs à partir d'un patch de référence. Figure extraite de [47].

Les deux dernières étapes représentées sur la figure (3.7) sont des étapes d'agrégation : à partir des blocks d'images 2D débruités, on rétablit l'image entière.

3.2.4 L'algorithme UINTA

De toutes les méthodes présentées dans ce chapitre, l'algorithme UINTA [7] reste le plus générique ; il doit fonctionner quel que soit le type de bruit, quelles que soient les caractéristiques de l'image. Comme le NLM ou le BM3D, il établit des comparaisons de voisinage. En revanche, lui, oriente son analyse vers la théorie de l'information : l'utilisation de l'entropie de Shannon lui permet de s'affranchir d'a-priori sur la statistique du bruit.

Son processus est le suivant :

— Définition de l'ensemble de tous les patchs de l'image $\{u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}))\}_{\underline{i}}$. Un patch $u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}))$, peut être interprété en tant qu'intensités de l'image prises aux pixels/voxels appartenant au voisinage de $\underline{i}$.

— Interprétation de chaque patch comme tirage aléatoire d'un vecteur aléatoire Z. La distribution de Z est ainsi estimée à l'aide du modèle de mélange gaussien.

— Grâce à l'estimation précédente, calcul, pour chaque patch, de l'entropie du pixel central sachant son voisinage. Le but de UINTA est de faire décroître cette quantité à l'aide d'un algorithme itératif.

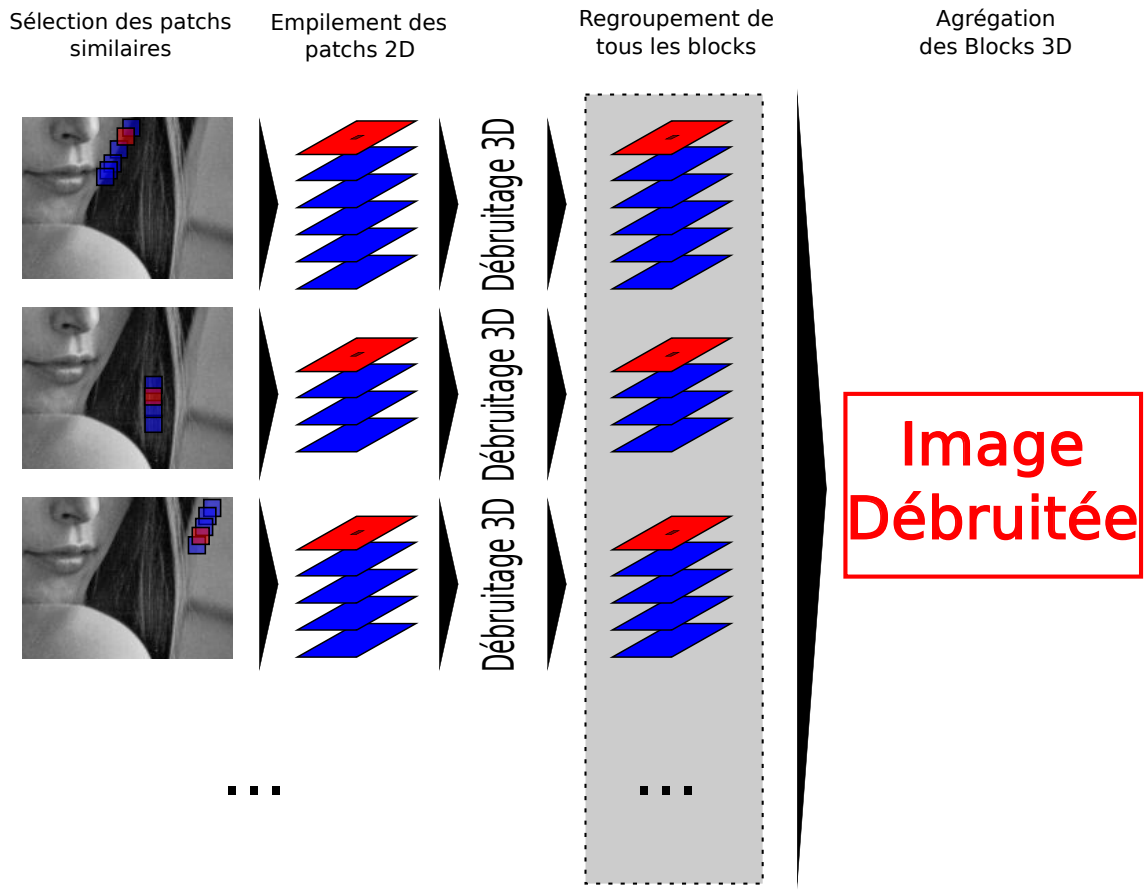


FIGURE 3.7 – Schéma du Block Matching 3D

L'algorithme détaillé nous est donné par l'algorithme (1). Dans cet algorithme, le tuple $(u^{(n)}(\underline{i}), u^{(n)}(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i})))$ correspond à l'association de l'intensité du pixel à la position $\underline{i}$ avec celles de son voisinage.

Input: Image bruitée
Output: Image reconstruite
- $u^{(0)} \leftarrow u$

repeat
- Découper l'image en tuples $\{(u^{(n)}(\underline{i}), u^{(n)}(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i})))\}_{\underline{i}\in\mathcal{U}}$
- Estimer la distribution de probabilité $\mathbb{P}^{(n)}$ des tuples $\{(u^{(n)}(\underline{i}), u^{(n)}(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i})))\}_{\underline{i}\in\mathcal{U}}$ à l'aide d'une mixture de Gaussiennes

`/*  Parcours de l'ensemble des patchs  */`
for $\underline{i} \in \mathcal{U}$ **do**
  optimiser l'entropie conditionnelle de $u^{(n+1)}(\underline{i})$ sachant $u^{(n)}(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i}))$
end
until ***convergence***
return $u^{(\infty)}$

Algorithm 1: Algorithme UINTA

3.2.5 L'algorithme DUDE

L'Algorithme Discrete Universal DEnoiser (DUDE, [72, 73]) n'est opérant que dans un contexte bien particulier :

— les intensités ne peuvent prendre qu'un nombre fini de valeurs (que l'on appellera alphabet).

— La loi de probabilité de $U(\underline{i})$ (i.e. des intensités) est entièrement déterminée en fonction de la valeur du signal non bruité (Nous rappelons que U est un vecteur aléatoire, et u est un tirage de U).

Nous nous intéressons au voisinage $\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i})$ de chaque pixel $\underline{i}$, duquel ce dernier est pixel : un ensemble noté $\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i})\backslash\{\underline{i}\}$ est obtenu, en même temps que les intensités associées, $u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i})\backslash\{\underline{i}\})$. La valeur du signal débruité de ce pixel est égale à :

$$\tilde{u}(\underline{i}) = \max_{\tilde{u}(\underline{i})} \quad \mathbb{P}\left(\quad \tilde{u}(\underline{i}) \quad | \quad U(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i})\backslash\{\underline{i}\}) = u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i})\backslash\{\underline{i}\}) \quad \right) \tag{3.23}$$

Cette équation peut être énoncée de la manière suivante : "Je souhaite trouver la valeur qui maximise la probabilité du pixel débruité, étant donné son voisinage bruité". Cette probabilité $\mathbb{P}$ peut être entièrement déterminée analytiquement grâce à :

— la probabilité de $U(\underline{i})$ sachant $s(\underline{i})$.

— le comptage de voisinages identiques à $u(\mathcal{V}^{(p)}(\underline{i})\backslash\{\underline{i}\})$

3.3 Les méthodes exportées à l'imagerie microscopique 3D

Dans notre étude, les images que nous devons traiter restent très caractéristiques :

— de par la forme des objets qu'elles contiennent : un noyau possède une morphologie très simple qui n'a pas besoin d'être décrite de manière aussi complexe qu'une texture.

— de par les caractéristiques du bruit. Sa loi de probabilité est caractérisée par une loi de Poisson, ou dans des cas plus généraux, par une loi Mixe Poisson Gaussienne (MPG). Ajouté à cela, la faible intensité du signal en profondeur et, dans certains cas, le temps d'acquisition, sont des facteurs de perte d'information. Notre problème de débruitage se place donc dans un cadre *à faible taux de comptage photonique*[7].

— de par la troisième dimension qui est peu abordée dans l'état de l'art.

Si dans cette thèse nous tenons compte d'un a-priori sur les formes, il n'en est pas de même pour le reste de la littérature en microscopie 3D qui contient plusieurs méthodes citées dans la partie précédente. Nous répertorions ici un ensemble de techniques adaptées spécifiquement à des images 3D, et qui supposent un bruit de type Poisson ou Mixe Poisson Gaussien (MPG).

3.3.1 Les méthodes locales

Les méthode par Equation aux Dérivées Partielles (EDP)

A notre connaissance, la littérature traitant des EDPs ne prend pas en compte la statistique du bruit. En revanche, quels que soient les domaines en imagerie 3D — tomographie [42], IRM [46, 53], microscopie 3D [48, 79, 80] — les méthodes par EDP ont été appliquées tant sur des images simulées avec une statistique de Poisson que sur des images réelles : elles ont montré, sur ces supports-là, des résultats tout à fait satisfaisants.

Les méthodes par minimisation

Lorsqu'on utilise les méthodes par minimisation (3.17), (3.15) ou (3.11), une manière simple de considérer un bruit de Poisson est de remplacer l'adéquation aux données

7. Ou *low count photon* en anglais. Ce phénomène traduit le fait que le système d'acquisition n'a pu recevoir que quelques photons par pixel/voxel. Dans ce contexte, le bruit ne peut plus être modélisé comme additif. N'importe quelle méthode doit donc être adaptée à ce problème spécifique

$\frac{1}{2}\|\tilde{u}-u\|_2^2$ ou $\frac{1}{2}\|\psi^{-1}x-u\|_2^2$ par la fonction suivante [9] :

$$D(\tilde{u},u)=\sum_{\underline{i}\in\mathcal{U}}(\tilde{u}_{\underline{i}}+u_{\underline{i}}\log(\tilde{u}_{\underline{i}})) \quad \text{ou} \quad D(\psi^{-1}x,u)=\sum_{\underline{i}\in\mathcal{U}}\left((\psi^{-1}x)_{\underline{i}}+u_{\underline{i}}\log\left((\psi^{-1}x)_{\underline{i}}\right)\right) \tag{3.24}$$

Cette fonction découle en fait de la fonction log-vraisemblance de la loi de Poisson.

Une autre mesure propose de régulariser la distance euclidienne classique en pondérant chaque pixel par l'inverse de la valeur du signal reconstruit [87].

$$D(\tilde{u},u)=\sum_{\underline{i}\in\mathcal{U}}\frac{(\tilde{u}_{\underline{i}}-u_{\underline{i}})^2}{\tilde{u}_{\underline{i}}} \quad \text{ou} \quad D((\psi^{-1}x),u)=\sum_{\underline{i}\in\mathcal{U}}\frac{\left((\psi^{-1}x)_{\underline{i}}-u_{\underline{i}}\right)^2}{(\psi^{-1}x)_{\underline{i}}} \tag{3.25}$$

Cette distance, qui est en réalité une approximation du premier ordre de (3.24), peut être interprétée comme mise à l'échelle du bruit par rapport au signal [8].

Parmi les microscopes 3D, seul le 2-photons ne produit pas d'excitation *hors-focus*. Les données générées sont donc peu détériorées par le flou. Pour cette raison, quand on s'intéresse aux techniques de restauration en imagerie confocale, il est d'usage d'adapter le modèle de débruitage à ce type de dégradation. Nous pourrons par exemple citer [34] pour la variation totale et [26] pour les opérateurs en ondelettes, articles dans lesquels les auteurs proposent un défloutage des images issues de la microscopie confocale.

Les domaines de la tomographie ([8, 86, 15], pour la variation totale) sont eux aussi source de réflexion pour l'imagerie 3D en raison de la similitude de la détérioration des données en microscopie 2-photons et tomographie.

3.3.2 Les méthodes non locales

L'exportation des méthodes non locales à la 3D est un problème délicat : les temps de calculs deviennent exhorbitants. En effet, si N est le nombre de voxels dans l'image et P le nombre de voxels des patchs comparés, alors le temps de calcul est proportionnel à PN^2. Si, en 2D, compte-tenu des ressources matérielles d'un ordinateur de gamme moyenne, ce ratio reste raisonnable, pour la 3D en revanche, ces méthodes ne peuvent plus être considérées comme telles.

Généralement, pour pallier ce problème, les patchs similaires ne sont plus recherchés globalement mais localement. A ce moment-là, la notion de débruitage global est totalement perdue. Même si le terme de semi-local serait plus approprié, celui de non-local

8. En effet, si u^* est l'image non bruitée, $\mathbb{E}((u^*_{\underline{i}}-U_{\underline{i}})^2)$, est la variance du bruit qui, dans le cas d'un bruit de Poisson est égale à son espérance $\mathbb{E}((u^*_{\underline{i}}-U_{\underline{i}})^2)=u^*_{\underline{i}}$. Ainsi $\mathbb{E}\left(\frac{(u^*_{\underline{i}}-U_{\underline{i}})^2}{u^*_{\underline{i}}}\right)=1$. Ici, u est un tirage de U et $\tilde{u}$ une approximation de u^*.

Méthode NLM		Méthode CANDLE
$\tilde{u}(\underline{i}) = \frac{1}{C_{\mathrm{NLM}}(i)} \sum_{\underline{i'} \in \mathcal{U}} w_{\mathrm{NLM},\hat{u}}(\underline{i}, \underline{i'}) \hat{u}(\underline{i'})$		$\tilde{u}(\underline{i}) = \frac{1}{C_{\mathrm{CAN}}(i)} \sum_{\underline{i'} \in \mathcal{V}(\underline{i})} w_{\mathrm{CAN},\hat{u}}, (\underline{i}, \underline{i'}) \hat{u}(\underline{i'})$
$C_{\mathrm{NLM}}(\underline{i}) = \sum_{\underline{i'} \in \mathcal{U}} w_{\mathrm{NLM},\hat{u}}(\underline{i}, \underline{i'})$		$C_{\mathrm{CAN}}(\underline{i}) = \sum_{\underline{i'} \in \mathcal{V}(\underline{i})} w_{\mathrm{CAN},\hat{u}}(\underline{i}, \underline{i'})$
$w_{\mathrm{NLM},\hat{u}}(\underline{i}, \underline{i'}) = \exp\Big(-D(\ \hat{u}(\mathcal{V}(\underline{i}))\ ,\ \hat{u}(\mathcal{V}(\underline{i'}))\ )\Big)$		$w_{\mathrm{CAN},u}(\underline{i}, \underline{i'}) = \exp\Big(-D(\ \overline{u}(\mathcal{V}(\underline{i}))\ ,\ \overline{u}(\mathcal{V}(\underline{i'}))\ )\Big)$ $\overline{u}(\underline{i'}) = \mathrm{MEDIAN}(\hat{u}(\mathcal{V}(\underline{i})))$

TABLE 3.1 – Différences méthodologiques entre l'algorithme NLM et l'algorithme CANDLE

reste d'usage pour qualifier ces nouvelles méthodes. La littérature utilise dans ce cas-là une alternative : le débruitage des images 3D, coupe par coupe, en images 2D.

L'apprentissage de dictionnaires

A notre connaissance, l'apprentissage de dictionnaires en microscopie confocale reste pour l'instant assez limité : les articles traitant du sujet [35, 21] ne prennent en compte ni le bruit de Poisson ni la 3D. On peut tout de même citer les travaux de Shi, Fang et Wang [89], qui se sont intéressés à l'apprentissage de dictionnaires dans la cadre Poissonnien.

Le Non local Mean

L'algorithme CANDLE ([28] acronyme de Collaborative Approach for eNhanced Denoising under Low-light Excitation), est une adaption de la méthode NLM appliquée à une image $\hat{u}$. $\hat{u}$ est une transformation de u, réalisée de manière à ce que le bruit MPG soit converti en bruit Gaussien [99] [9]. CANDLE diffère aussi de NLM par les points donnés dans la table (3.1) :

— la première différence, surlignée en rouge dans la table (3.1), est un moyennage local. Pour calculer la valeur du pixel/voxel $\underline{i}$, seuls les pixels/voxels alentour sont pris en compte.

9. Cette transformation, appelée Generalised Anscombe Transform, sera introduite dans le chapitre suivant.

— La seconde différence, surlignée en vert dans la table (3.1), réside dans l'option prise de calculer les poids sur une image préalablement lissée par un filtre médian (cf eq. (3.9)).

Parmi les méthodes qui s'appuient sur le même principe que le NLM, nous pouvons aussi citer la méthode de Boulanger et al. [12], implémentée dans le logiciel SAFIR-nd, qui a su adapter sa méthode à des videos 3D+temps. Comparé au NLM classique, cette méthode apporte une variation locale de la taille des voisinages comparés afin de mieux s'adapter aux discontinuités.

Le Block Matching 3D

Le block matching 3D a lui aussi été appliqué à la microscopie 3D [31]. Dans leur article, Danielyan et al. stabilisent le bruit de manière similaire à la méthode précédente (pour obtenir $\hat{u}$). Ils réalisent ensuite séparément la méthode block Matching 3D sur les slices 2D. Ici, la version utilisée, tirée de [30], est légèrement différente de la version originale et le block matching est réalisé 2 fois :

— une première fois de manière classique sur l'image brute
— une deuxième fois, à nouveau sur l'image brute, mais, cette fois-ci, en paramétrant la partie débruitage à l'aide du résultat de l'étape précédente.

Dans [11], les auteurs comparent la performance des trois méthodes antérieurement décrites (pour mémoire Block Matching 3D [31], CANDLE [28], et SAFIR-nd [12]) pour sélectionner la plus performante au vu de leurs données (images de 2-photons de muqueuses) et l'améliorer. Leur choix porte sur le BM3D, pour lequel ils mettent en œuvre un réajustement automatique les paramètres originaux.

L'UINTA et Le DUDE

Nous n'avons pas trouvé d'export à la troisième dimension des algorithmes UINTA et DUDE. D'une manière générale, l'algorithme DUDE ne peut fonctionner qu'avec un nombre fini d'intensités différentes ; les temps de calculs explosent avec la taille de l'alphabet qui correspond aux différentes valeurs que peut prendre l'intensité. Cette méthode, intéressante pour un faible comptage de photons, n'est plus du tout pertinente quand le signal est puissant. Dans nos images deux photons, nous rencontrons les deux cas de figure, ce qui rend le DUDE inapproprié pour cette situation.

3.4 Thèse et sa justification : choix de la méthode sur les images de noyaux

Notre problème, très spécifique, peut-être caratérisé par les points suivants :

— Nous souhaitons imager des images deux-photons. Ces images sont acquises selon les contraintes énoncées dans l'introduction, à savoir un compromis entre phototoxicité, résolution spatiale et temporelle et signal sur bruit. Ce dernier n'est que faiblement prioritaire. Si l'on ajoute la perte de signal en profondeur, nous nous retrouvons donc en situation de faible taux de comptage de photons, ce qui invalide les approximations de bruit gaussien.

— Le problème, modélisé sous la forme d'un bruit type MPG, laisse donc supposer que nous connaissons parfaitement la distribution du bruit : l'utilisation de méthodes génériques par rapport à sa statistique n'est pas nécessaire.

— Les noyaux, potentiellement de faible intensité, se retrouvent au milieu d'un signal parasite. Ce dernier, produit par des protéines fluorescentes délocalisées dans le cytoplasme, est aussi appelé marquage ectopique.

— La forme des objets recherchés est extrêmement simple et nos images ne contiennent ni textures ni formes complexes : nous souhaitons retrouver des morphologies "presque" isotropes. Une structure isotrope désigne génériquement une boule ou une sphère.

— Il y a donc intérêt et nécessité à introduire un a-priori sur ce qu'il est souhaitable de restaurer, d'une part pour séparer le marquage ectopique de la véritable information, d'autre part pour récupérer le signal, même s'il est de très faible intensité.

La figure (3.8), montre un exemple de coupe 2D d'une image issue d'un 2-photons. Dans ce contexte, cette thèse propose l'exportation à la 3D d'une méthode déjà implémentée en deux dimensions : la Stabilisation de Variance Multi-Echelle (MSVST, pour Multiscale Variance Stabalizing Transform), appliquée à la Transformée Non Décimée en Ondelettes Isotropes (IUWT, pour Isotropic Undecimated Wavelet Transform) [114].

La MSVST [114] est une technique associée à un opérateur multi-échelle, très précisément une transformée type ondelettes. Elle a pour but de *stabiliser* la variance du bruit, c'est à dire de la décorréler du signal. Plus précisément, cette méthode transforme un bruit de Poisson ou MPG en un bruit Gaussien.

L'IUWT [95] est un opérateur multi-échelle qui permet d'introduire le fameux a-priori sur les formes recherchées : il est très efficace pour représenter de manière parcimonieuse les objets presque isotropes.

Avec l'utilisation de la MSVST-IUWT, nous souhaitons donc montrer la possibilité

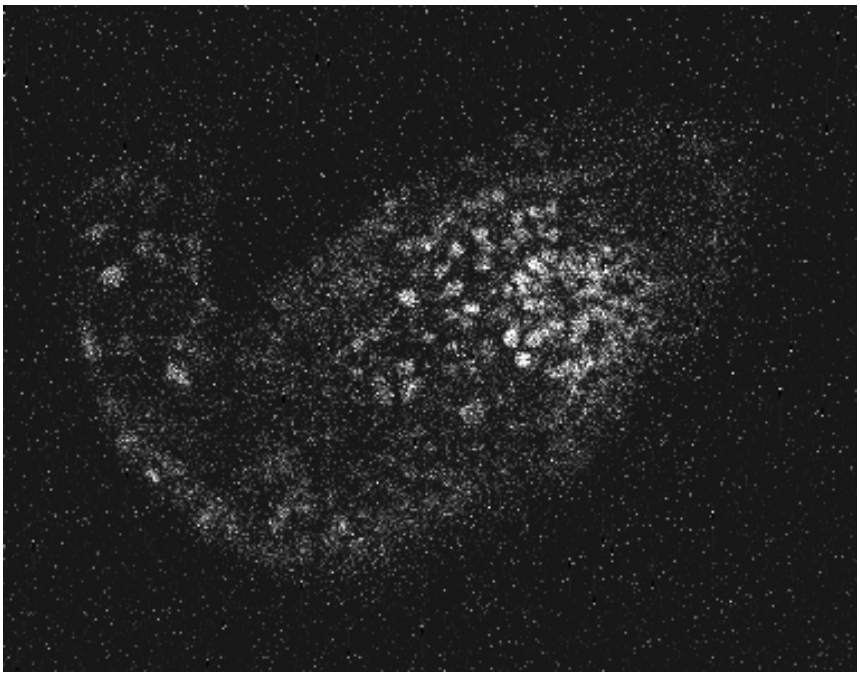


FIGURE 3.8 – Coupe 2D d'une image 3D d'un embryon d'ascidie obtenue à l'aide d'un microscope 2-photons. Auteur : Adeline Rausch, CNRS.

de récupérer des formes apparemment perdues, vu la faiblesse de leur intensité au milieu du bruit. Comme cela a pu être souligné en (3.1.4), les méthodes type ondelettes peuvent générer des artefacts oscillatoires qui nuisent à la précision des résultats sur les algorithmes de détection et de segmentation. L'introduction de la seconde génération IUWT [97] a permis de réduire considérablement ces effets-là.

Enfin, cette méthode a déjà montré d'excellents résultats en imagerie spatiale ; du fait de la similarité des formes stellaires et nucléaires, nous pouvons aussi espérer d'excellents résultats sur nos images cellulaires.

La suite de cette section présentera l'algorithme en deux dimensions, détaillé dans [114, 113, 98, 112, 40]. Comme le montre la figure (3.9), cette méthode se découpe en trois étapes.

1. La transformée IUWT éclate le signal sur plusieurs échelles. Chaque échelle est représentée par une image 2D de mêmes mensurations que l'image originale.
2. A partir de cette transformée, un test d'hypothèse permet de récupérer les pixels réellement significatifs, les autres pixels étant considérés comme issus du bruit et donc ignorés.
3. A partir des pixels significatifs de la transformée multi-échelle, nous reconstruisons l'image débruitée.

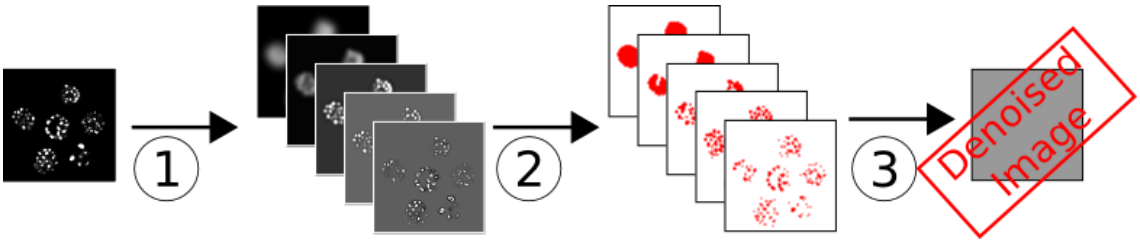


FIGURE 3.9 – Schéma général de la transformée en ondelettes non décimée isotrope. 1 - Transformée Multi-Echelle. 2 - Test d'hypothèse pour retrouver les coefficients qui contiennent de l'information. 3 - Reconstruction de l'image débruitée à partir des coefficients significatifs.

3.4.1 La Transformée Non Décimée en Ondelettes Isotropes

La transformée non décimée en ondelettes isotropes comprend deux générations :

— La première bénéficie d'un schéma de construction très simple. La plus grande partie de la littérature traitant de l'IUWT repose dessus. Les artefacts produits par la transformée inverse associée peuvent nuire à la précision des résultats. Ces problèmes, exposés en 3.1.4, relèvent principalement d'oscillations. En d'autres termes, une image débruitée par l'utilisation de l'IUWT 1-ère génération présentera des oscillations autour des bords.

— La seconde, directement dérivée de son aînée, en atténue les effets parasites.

L'IUWT première génération

L'IUWT première génération est globalement décrite dans la figure (3.10). Son implémentation est donnée par l'algorithme (2). Cet opérateur, qui prend en paramètre une image, renvoie une collection d'images correspondant à $\{d_1, d_2, d_3, d_4, a_4\}$ sur la figure (3.10). Chaque image renvoie à une échelle différente : le signal est ainsi découpé selon la taille des objets présents.

Sur la figure (3.10), l'image originale est successivement filtrée [10] de manière à diminuer, à chaque étape, la précision de $u = a_0$. Une suite d'images $\{a_j\}$ est ainsi générée pour arriver à a_J, version grossière de l'image de laquelle tout détail a disparu. J est un paramètre de la transformée et a une valeur de 4 sur la figure (3.10).

$$\begin{aligned} a_0 &= u \\ a_{j+1} &= a_j * h^{(j)} \end{aligned} \tag{3.26}$$

10. Le concept filtre et l'implémentation de ceux que nous utilisons dans ce document seront définis plus loin.

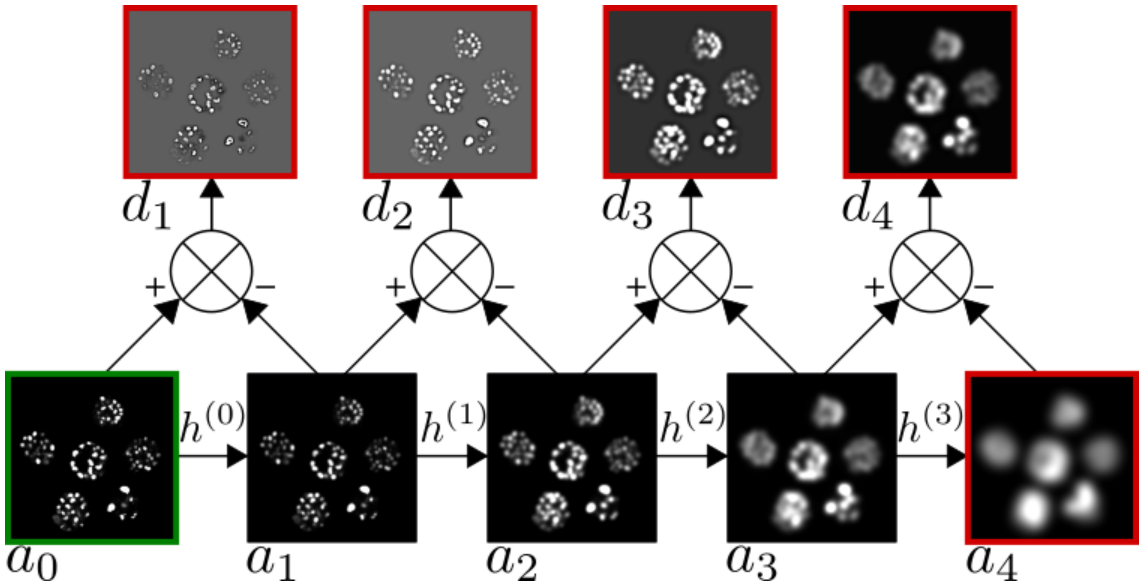


FIGURE 3.10 – *Isotropic Undecimated Wavelet Transform*, première génération. En vert l'entrée de la transformée, en rouge, la sortie.

Ici $a_j * h^{(j)}$ signifie que a_j est filtrée par $h^{(j)}$. L'opérateur de convolution $*$ sera défini en 3.4.2. Cette suite ne correspond pas cependant à la sortie de cette transformée : pour récupérer les détails situés à une échelle donnée, il faut soustraire deux images a_j et a_{j+1} consécutives, pour obtenir d_{j+1}. Cette soustraction, notée $\ominus$, est une différence réalisée pixel par pixel.

$$d_{j+1} = a_j \ominus a_{j+1} \qquad \Leftrightarrow \qquad d_{j+1}(\underline{i}) = a_j(\underline{i}) - a_{j+1}(\underline{i}) \tag{3.27}$$

La sortie de cette transformée devient alors l'ensemble des *images détails* $\{d_j\}$, ainsi que l'image d'échelle la plus grossière a_J.

Input: Image bruitée u, nombre d'échelles J
Output: $\{d_1, d_2, ..., d_J, a_J\}$ Transformée non décimée en ondelettes isotropes de u

$a_0 \leftarrow u$
for $j = 0$ ... $(J-1)$ **do**
  $a_{j+1} \leftarrow a_j * h^{(j)}$
  $d_{j+1} \leftarrow a_j \ominus a_{j+1}$
end
return $\{d_1, d_2, ..., d_J, a_J\}$

Algorithm 2: Undecimated Wavelet Transform - première génération.

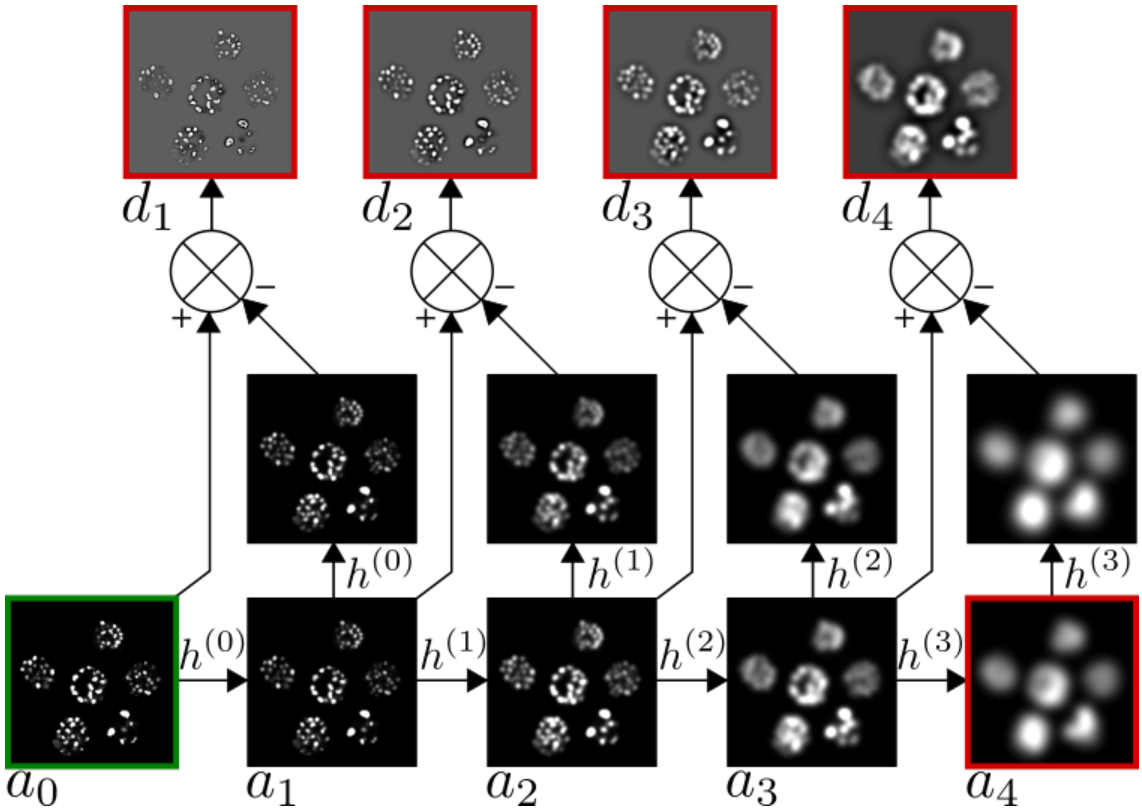


FIGURE 3.11 – *Isotropic Undecimated Wavelet Transform*, seconde génération. En vert l'entrée de la transformée, en rouge, la sortie.

L'IUWT seconde génération

Les méthodes de débruitage qui utilisent la première génération de l'IUWT [95] présentent des artefacts oscillatoires. Pour y remédier, dans [97], les auteurs ont construit une seconde génération dont ils ont démontré expérimentalement l'efficacité liée à l'importante diminution des effets parasites. Les raisons de cette robustesse seront détaillées en (3.4.5).

Le schéma de cette génération IUWT apparaît dans la figure (3.11). L'algorithme (3) décrit son implémentation. La construction de cette transformée est similaire à celle de la première génération. La suite $\{a_j\}$ est établie de la même manière, selon (3.26). Une étape supplémentaire est ajoutée : avant de soustraire deux images a_j et a_{j+1} pour obtenir d_{j+1}, l'image a_{j+1} est filtrée une seconde fois par le filtre $h^{(j)}$ qui a auparavant réalisé la transformation de a_j en a_{j+1}. Une soustraction des pixels terme à terme est ensuite réalisée.

$$d_{j+1} = a_j \ominus (h^{(j)} * a_{j+1}) \tag{3.28}$$

Input: Image bruitée u, nombre d'échelles J
Output: $\{d_1, d_2, ..., d_J, a_J\}$ Transformée non décimée en ondelettes isotropes de u

$a_0 \leftarrow u$
for $j = 0$ ... $(J-1)$ **do**
  $a_{j+1} \leftarrow a_j * h^{(j)}$
  $d_{j+1} \leftarrow a_j - (a_{j+1} * h^{(j)})$
end
return $\{d_1, d_2, ..., d_J, a_J\}$

Algorithm 3: Undecimated Wavelet Transform - seconde génération.

3.4.2 Construction des filtres $h^{(j)}$

Dans cette partie, nous nous intéresserons à l'étape de filtrage utilisée précédemment.

Opérations de filtrage sur les images

Un filtre 2D h peut être défini comme une fonction de $\mathbb{Z}^2$ dans $\mathbb{R}$: à 2 entiers, k_x et k_y, est associé un réel $h(k_x, k_y)$. Ce filtre s'applique à une image comme dans l'équation (3.1). Cette opération est appelée produit de convolution :

$$(u * h)(i_x, i_y) = \sum_{k_x, k_y} u(i_x - k_x, i_y - k_y) h(k_x, k_y) \tag{3.29}$$

L'équation ci-dessus n'a de sens que si l'image u est définie sur une grille infinie de $\mathbb{Z}^2$. Or u n'est échantillonnée que sur $[0..N_x - 1] \times [0..N_y - 1]$. Pour que cette définition soit consistante, il convient donc d'étendre u en dehors de ses frontières. Plusieurs choix classiques nous sont proposés dans la littérature :

— u peut être nulle en dehors de ses frontières :

$$u(i_x, i_y) = 0 \qquad \text{si } (i_x, i_y) \notin [0..N_x - 1] \times [0..N_y - 1] \tag{3.30}$$

— u peut être étendue par périodicité : l'image est alors pavée à l'identitique sur toute la grille.

$$u(i_x, i_y) = u(i_x \% N_x, i_y \% N_y) \tag{3.31}$$

Ici l'opération % correspond à l'opération modulo sur les entiers.

— u peut être étendue par symétrie : l'image est alors répliquée en miroir au niveau des frontières.

— u peut-être étendue en imposant une constance de l'intensité au niveau des bords.

$$u(i_x, i_y) = u(T_x(i_x), T_y(i_y)) \tag{3.32}$$

Avec

$$T_x(i_x) = \begin{cases} N_x - 1 & \text{si } i_x \geq N_x \\ 0 & \text{si } i_x < 0 \\ i_x & \text{sinon} \end{cases}, \qquad T_y(i_y) = \begin{cases} N_y - 1 & \text{si } i_y \geq N_y \\ 0 & \text{si } i_y < 0 \\ i_y & \text{sinon} \end{cases} \tag{3.33}$$

Toutes ces contraintes de l'image en dehors de ses frontières portent le nom de conditions de bord.

L'opérateur de convolution $*$ permet aussi de combiner deux filtres h_1 et h_2 pour en obtenir un troisième :

$$(h_1 * h_2)(k_x, k_y) = \sum_{k'_x, k'_y} h_1(k_x - k'_x, k_y - k'_y) h_2(k_x, k_y) \tag{3.34}$$

L'application $h_1 * h_2$ à une image u équivaut en réalité à l'application successive de h_1 et de h_2 à u.
Par ailleurs, si ce filtre vérifie la condition suivante, il est dit moyenneur.

$$\forall (k_x, k_y) \in \mathbb{Z}^2, \quad h(k_x, k_y) \geq 0 \qquad \text{et} \qquad \sum_{k_x, k_y} h(k_x, k_y) = 1 \tag{3.35}$$

Dans ce cas, l'opération de filtrage est équivalente à une opération de moyenne locale, comme le présente la figure (3.2).

Les filtres utilisés dans cette thèse sont séparables : ils peuvent être décomposés selon les lignes et les colonnes. Cette propriété est traduite par l'équation suivante :

$$h(k_x, k_y) = h_x(k_x) h_y(k_y) \tag{3.36}$$

Dans ce cas particulier, le calcul global de convolution 2D est remplacé par 2 convolutions 1D :

$$(u * h)(i_x, i_y, i_z) = \overbrace{\sum_{k_y} \Bigg(\underbrace{\sum_{k_x} \Big(u(i_x - k_x, i_y - k_y) h_x(k_x) \Big)}_{\text{convolution sur les lignes}} h_y(k_y) \Bigg)}^{\text{convolution sur les colonnes}} \tag{3.37}$$

Les filtres séparables sont donc des moyennes locales qui portent successivement sur les lignes et les colonnes. Cette décomposition est décrite par la figure (3.12).

La convolution de deux filtres moyenneurs donne un filtre moyenneur. La convolution de deux filtres séparables donne aussi un filtre séparable exprimé par la formule suivante

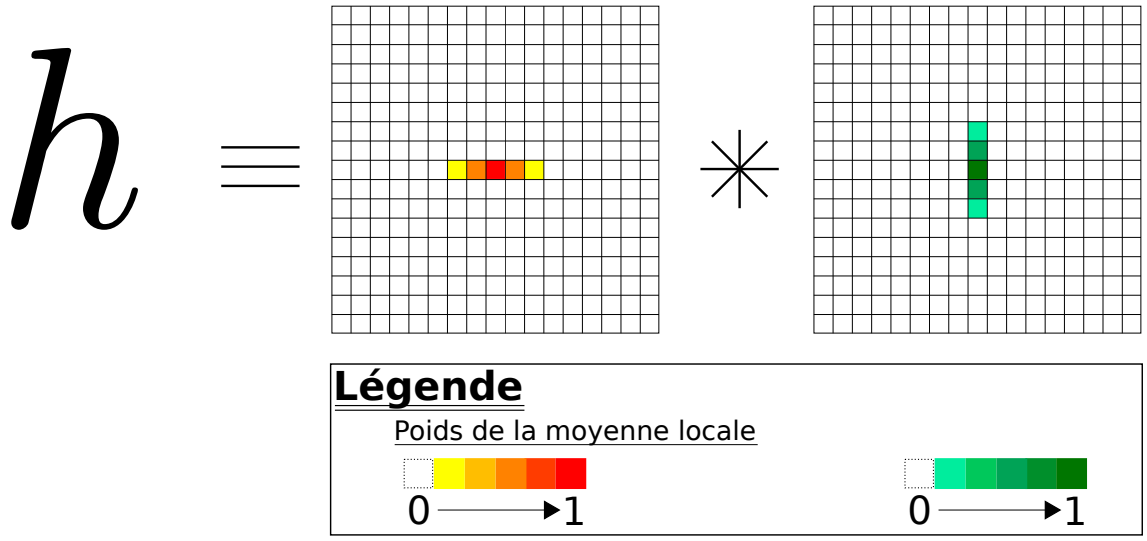


FIGURE 3.12 – Application d'un filtre séparable à une image. Le calcul du pixel central sur l'image bruitée équivaut à une moyenne locale effectuée successivement sur les lignes et sur les colonnes. Les poids des filtres associés peuvent être différents suivant la direction.

(h_1 et h_2 sont deux filtres séparables) :

$$(h_1 * h_2)(k_x, k_y) = \Big((h_{1,x} * h_{2,x})(k_x)\Big) \ \Big((h_{1,y} * h_{2,y})(k_y)\Big) \tag{3.38}$$

$$= \left(\sum_{k'_x} h_{1,x}(k_x - k'_x) h_{2,x}((k_x)\right) \left(\sum_{k'_y} h_{1,y}(k_y - k'_y) h_{2,y}(k_y)\right) \tag{3.39}$$

Autrement dit, pour réaliser la convolution de deux filtres séparables, réaliser la convolution 2D décrite en (3.34) n'est pas nécessaire ; l'utilisation de 2 convolutions unidimensionnelles, selon les lignes et les colonnes, peu gourmande en temps de calcul, est suffisante.

Construction des filtres $h^{(j)}$ à partir d'un filtre h original

Tous les filtres $h^{(j)}$ sont séparables et sont construits à partir d'un filtre h défini ci-après.

$$h_x^{(j)}(i_x) = \begin{cases} h_x(\frac{i_x}{2^j}) & \text{si } \frac{i_x}{2^j} \text{ est entier.} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \qquad h_y^{(j)}(i_y) = \begin{cases} h_y(\frac{i_y}{2^j}) & \text{si } \frac{i_y}{2^j} \text{ est entier.} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \tag{3.40}$$

La figure (3.13) donne une vision géométrique de la construction des $h^{(j)}$ à partir de h. Ces filtres proviennent en réalité du filtre h, *fractionné* puis *éparpillé* tous les 2^j pixels.

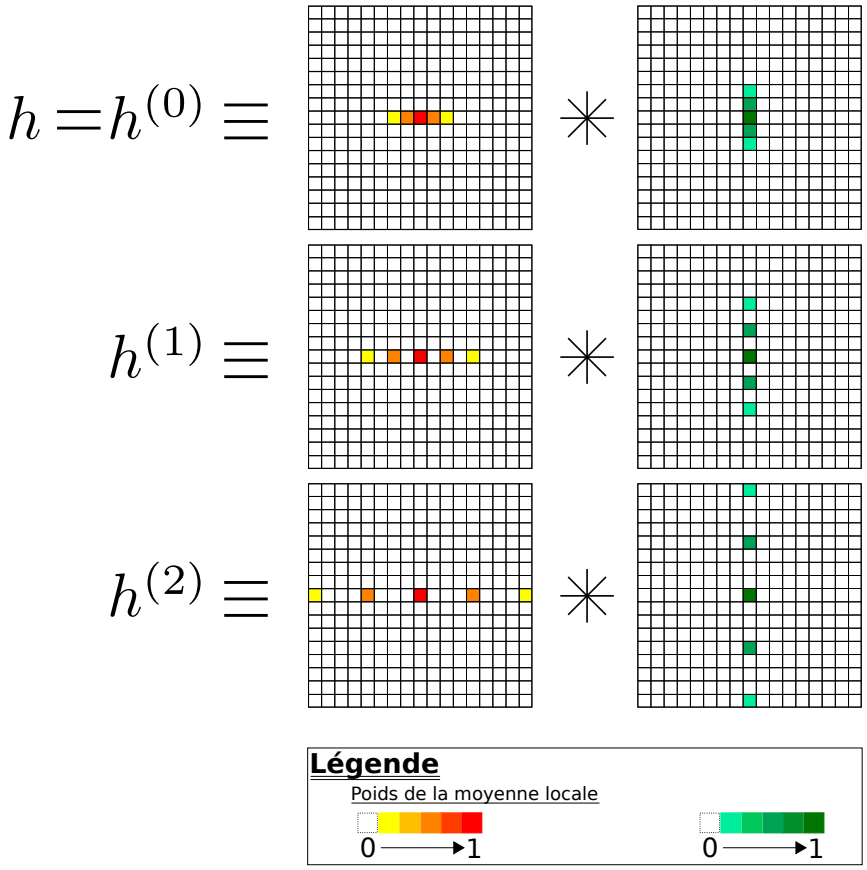


FIGURE 3.13 – Construction des filtres $h^{(j)} : (i_x, i_y) \mapsto h_x^{(j)}(i_x) h_y^{(j)}(i_y)$ à partir de h : $(i_x, i_y) \mapsto h_x(i_x) h_y(i_y)$

Le filtre h sur une grille isotrope

Dans [95, 97], les auteurs définissent la décomposition de h comme identique dans les directions x et y :

$$h_x = h_y = \left[\frac{1}{16}, \frac{1}{4}, \frac{3}{8}, \frac{1}{4}, \frac{1}{16}\right]_{-2\ ..\ 2} \tag{3.41}$$

La notation ci-dessus fait référence aux coefficients des filtres h_x et h_y (i.e. $\left[\frac{1}{16}, \frac{1}{4}, \frac{3}{8}, \frac{1}{4}, \frac{1}{16}\right]$) associés à leur indices respectifs (ici -2 .. 2). Cette notation est un moyen simple de définir $h_x(-2) = \frac{1}{16},\ h_x(-1) = \frac{1}{4},\ h_x(0) = \frac{3}{8},\ h_x(1) = \frac{1}{4}$ et $h_x(2) = \frac{1}{16}$. Pour toute autre valeur i en dehors de [-2..2], $h_x(i) = 0$.

3.4.3 Un test d'hypothèse pour retrouver les coefficients significatifs à partir de l'IUWT

La section précédente nous a permis de déterminer le mode de construction d'une transformée multi-échelle qui représente de manière parcimonieuse les objets *presque isotropes*. Le bruit, quant à lui, n'est pas compressible. Il en résulte que l'IUWT appliquée à un signal bruité ne donnera pas de résultat parcimonieux, même si ses objets se rapprochent des formes sphériques. Ce delta entre transformée théorique et transformée bruitée nécessite une analyse statistique plus approfondie des coefficients.

La littérature sur les représentations parcimonieuses modélise la plupart du temps le bruit sous forme de bruit gaussien qui présente l'avantage d'être additif, propriété à la fois pratique et très forte. Autrement dit, l'intensité et la distribution du bruit ne dépendent pas du signal.

Cette hypothèse trouve là sa fonctionnalité : en effet, un bruit additif s'écrit $u(\underline{i}) = u^*(\underline{i}) + b(\underline{i})$. Ici u^* est le signal non bruité ; b, intensité aléatoire découplée de u^*, vient s'ajouter. Ni b ni u^* ne sont connus. L'IUWT (notée $\mathcal{W}$) linéaire, nous avons $\mathcal{W}u = \mathcal{W}u^* + \mathcal{W}b$. Comme énoncé précédemment, $\mathcal{W}u^*$ est parcimonieux : l'information du signal de départ est concentrée sur quelques coefficients de la transformée. $\mathcal{W}b$, quant à lui, incompressible, verra son intensité s'étaler sur toute la transformée. La somme des deux donne une représentation à forts coefficients issus de la véritable information et des petites oscillations dominées par le bruit.

Une technique de seuillage permet donc de séparer en partie l'image non bruitée de sa détérioration. Mais sa pertinence se limite au bruit additif ; elle n'est donc pas malheureusement efficiente pour les images 2-photons dont les modèles MPG et de Poisson prédominent dans la littérature.

Dans le cas d'un bruit de type Poisson ou MPG, l'intensité du bruit et celle du signal sont corrélées de manière positive. Si, à très haute valeur, la variation du bruit en fonction du signal est négligeable, ce n'est plus vrai en faible comptage photonique. La microscopie 2-photons s'inscrit dans ce cadre. En revanche, il existe des techniques de stabilisation de variance (VST pour Variance Stabilizing Transform) qui modifient le signal, pixel par pixel, pour changer la statistique du bruit et le rendre additif.

L'idée développée dans ce chapitre, proposée par Zhang et al. [113, 112, 40], est d'associer ce procédé à l'IUWT afin de la rendre plus robuste. Un test d'hypothèse est ensuite appliqué.

En supposant que u est une image détériorée par un bruit de type Poisson ou MPG, Zhang et al. proposent une méthode dont le principe général se décompose en trois temps :

— A partir de l'IUWT, nous construisons une seconde transformée appelée MSVST-IUWT comme montré sur la figure (3.14). Comparée au schéma (3.11), cette transformée, fait apparaître, avant la soustraction de 2 échelles consécutives, un étage supplémentaire.

— L'utilisation de la MSVST-IUWT repose sur le test d'hypothèse suivant :

$$H_0(\underline{i}, j) \equiv \text{“}(\mathcal{W}u^*)(\underline{i}, j) \text{ est nul.”}$$

Ici $\mathcal{W}u^*$ est l'IUWT de u^*, l'image non bruitée. H_0 implique alors la propriété suivante :

$$(\text{MSVST-}\mathcal{W}u)(\underline{i}, j) \sim \mathcal{N}(0, \sigma_j) \tag{3.42}$$

Où (MSVST-$\mathcal{W}u$) est la MSVST-IUWT de l'image détériorée u, $\mathcal{N}(0, \sigma_j)$ est une loi normale centrée de variance σ_j^2 connue.

— Tester $H_0(\underline{i}, j)$ revient donc à tester (3.42). Cette opération est réalisée pour tous les pixels de la transformée. De cette manière, l'ensemble des coefficients significatifs de l'IUWT est collecté.

La Stabilisation de Variance Multi-Echelle appliquée à l'IUWT première génération

La section de texte qui suit expliquera en détail les origines de cette transformée et en montrera les propriétés. Le modèle de bruit MPG s'exprime comme énoncé dans le chapitre (2), à savoir :

$$U(\underline{i}) = \mathcal{P}(u^*(\underline{i})) + \mathcal{E}(\underline{i})$$

Ici $\mathcal{P}$ est un bruit de Poisson. Il prend en paramètre la valeur du signal non bruitée $u^*(\underline{i})$ et retourne une variable aléatoire X à valeur dans $\mathbb{N}$ dont la loi est définie par :

$$\mathbb{P}(X = k) = \mathrm{e}^{-u(\underline{i})} \frac{u(\underline{i})^k}{k!}$$

$\mathcal{E}$ est lui aussi issu d'une variable aléatoire, cette fois-ci décorrélée du signal. Sa loi est une loi normale centrée en 0, de variance σ^2 :

$$f_{\mathcal{E}(\underline{i})}(\epsilon(\underline{i})) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \mathrm{e}^{\frac{1}{2\sigma^2}\epsilon(\underline{i})^2}$$

Enfin l'image bruitée u est un tirage de U.

Comme $\mathcal{E}$ est indépendant de u^*, il va de soit que

$$\begin{aligned}\mathrm{VAR}(U(\underline{i})) &= \mathrm{VAR}(\mathcal{P}(u^*(\underline{i})) + \mathrm{VAR}(\mathcal{E}(\underline{i})) \\ &= u^*(\underline{i}) + \sigma^2 \end{aligned} \tag{3.43}$$

Autrement dit, la variance du bruit dépend du signal. La stabilisation de variance est une transformation qui, quand $u^*(\underline{i})$ tend vers $+\infty$, supprime la dépendance entre variance du bruit et signal.

$$\mathrm{VAR}(T(U(i))) \underset{u^*(\underline{i})\to+\infty}{\longrightarrow} \sigma' \tag{3.44}$$

où σ' ne dépend pas de $u^*(\underline{i})$ et T est la transformation de l'intensité. L'efficacité, ou robustesse, d'une stabilisation de variance se définit en tant que vitesse de convergence vers la constante σ'.

Le premier statisticien à aborder la stabilisation de variance pour un bruit de Poisson fut Anscombe [4]. Il montra que la fonction $u(\underline{i}) \mapsto \sqrt{u(\underline{i}) + c}$, était une stabilisation de variance quelle que soit la constante c. Il trouva, par ailleurs, le c qui assurait la meilleure vitesse de convergence : $c = \frac{3}{8}$. Cette transformée prit le nom de son auteur : Transformée de Anscombe.

Plus tard [99], elle fut adaptée à un bruit type MPG et devint la transformée de Anscombe généralisée (GAT, pour Generalized Anscombe Transform).

$$T_{\mathrm{GAT}}(u) = \sqrt{u(\underline{i}) + \frac{3}{8} + \sigma^2} \tag{3.45}$$

Enfin, en 2007 [113], cette stabilisation de variance fut combinée avec plusieurs transformées multi-échelle, dont l'IUWT première génération. Les auteurs avaient l'intuition qu'appliquer une telle transformation à des données filtrées augmenterait sa robustesse. Pour mettre en pratique cette méthode, ils démontrèrent la propriété suivante : sous les conditions :

— $u^*(i_x - k_x, i_y - k_y, i_z - k_z) = \lambda$, avec λ constant pour k_x, k_y et k_z définis dans le support [11] de $h^{[j]}$, lui même défini par :

$$\begin{aligned} h^{[0]} &= \quad \delta \quad := [1]_{0..0} \\ h^{[j+1]} &= h^{[j]} * h^{(j)} \end{aligned} \tag{3.46}$$

— u est déteriorée par un bruit MPG.

11. le support d'un filtre h est l'ensemble des coefficients k_x, k_y et k_z tels que $h(k_x, k_y, k_z) \neq 0$

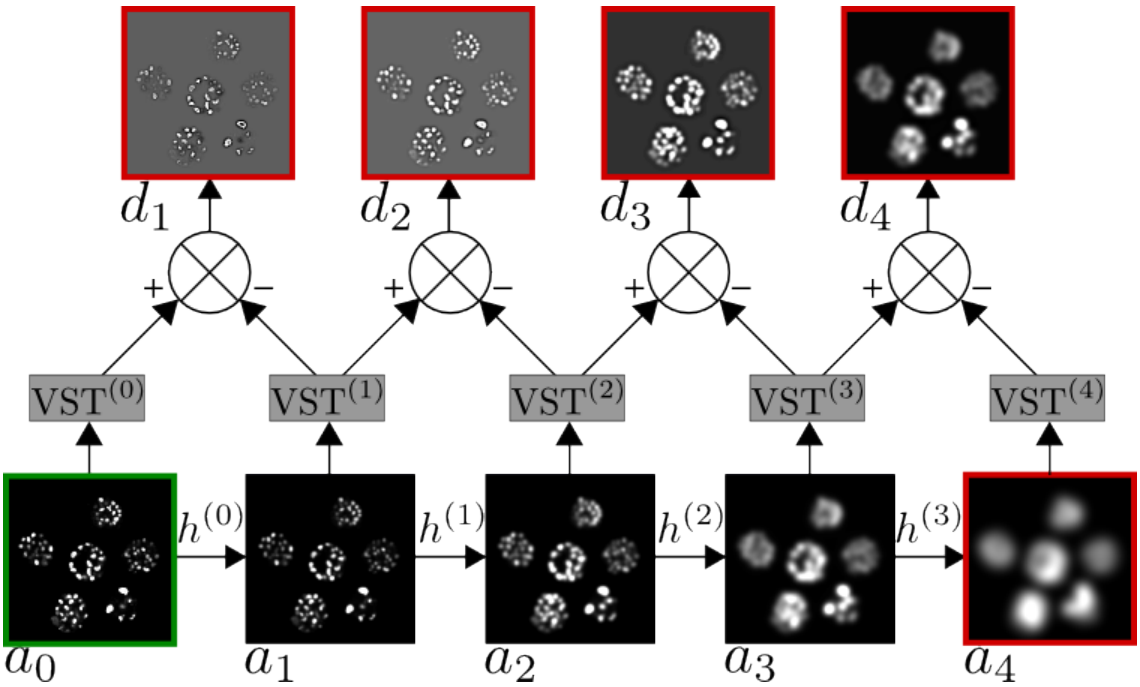


FIGURE 3.14 – MSVST-IUWT première génération. En vert, l'entrée de la transformée - en rouge, la sortie. Les opérations VST sont des opérations pixel par pixel définies par : $\mathrm{VST}^{(j)}(a_j)(\underline{i}) = \sqrt{a_j(\underline{i}) + c_j}$. Les c_j sont donnés par l'équation (3.48).

nous avons la propriété suivante :

$$\sqrt{a_j(\underline{i}) + c_j} - \sqrt{a_{j+1}(\underline{i}) + c_{j+1}} \xrightarrow[\lambda \to +\infty]{\mathcal{L}} \mathcal{N}(0, \sigma_{j+1}) \tag{3.47}$$

En réalité la condition de constance de u^* dans le support de h est une condition suffisante à $(W^{(1)}u^*)(\underline{i}) = 0$ ($\mathcal{W}^{(1)}$ désigne l'opérateur IUWT première génération). Les auteurs n'ont cependant pas démontré que les conditions $(W^{(1)}u^*)(\underline{i}) = 0$ + bruit MPG entraînaient la propriété (3.47). En revanche, même si cette preuve n'est pas faite, les auteurs l'affirment triviale. Ici le symbole $\xrightarrow[\lambda \to +\infty]{\mathcal{L}}$, désigne le symbole de convergence en loi. Il signifie que, pour λ suffisamment grand, la distribution du membre de gauche se rapprochera de la loi donnée par le membre de droite. Cette propriété est vraie quelle que soit la suite $\{c_j\}$. Mais les constantes c_j et c_{j+1} déterminées par les auteurs assurent la convergence la plus rapide. Cette dernière peut être *atteinte* pour des intensités relativement faibles sur le signal bruité (de l'ordre de 0.1 pour une intensité pouvant aller jusqu'à 255). L'ensemble des $\{c_j\}$, dont la valeur ne dépend que des filtres $h^{(j)}$, est construit comme suit :

$$c_j = \frac{7}{8}\frac{\tau_2\left(h^{[j]}\right)}{\tau_1\left(h^{[j]}\right)} - \frac{1}{2}\frac{\tau_3\left(h^{[j]}\right)}{\tau_2\left(h^{[j]}\right)} \tag{3.48}$$

où

$$\tau_p(h^{[j]}) = \sum_{k_x,k_y} \left(h^{[j]}(k_x,k_y)\right)^p \tag{3.49}$$

La suite de filtres $h^{[j]}$ est définie par l'équation (3.46). Enfin la valeur de σ_j est donnée par :

$$\sigma_j = \frac{1}{4}\frac{\tau_2\left(h^{[j]}\right)}{\tau_1\left(h^{[j]}\right)^2} + \frac{1}{4}\frac{\tau_2\left(h^{[j+1]}\right)}{\tau_1\left(h^{[j+1]}\right)^2} + \frac{1}{2}\frac{\langle h^{[j]}, h^{[j+1]}\rangle}{\tau_1\left(h^{[j]}\right)\tau_1\left(h^{[j+1]}\right)} \tag{3.50}$$

où $\langle h^{[j]}, h^{[j+1]}\rangle = \sum_{k_x,k_y} h^{[j]}(k_x,k_y)h^{[j+1]}(k_x,k_y)$.
La méthode générale de cette MSVST, schématisée par la figure (3.14), est donnée par :

IUWT Classique	MSVST+IUWT - 1ere génération
$\begin{cases} a_0 &= u \\ a_{j+1} &= h^{(j)} * u \\ d_{j+1}(\underline{i}) &= a_j(\underline{i}) - a_{j+1}(\underline{i}) \end{cases}$	$\begin{cases} a_0 &= u \\ a_{j+1} &= h^{(j)} * u \\ \overline{d}_{j+1}(\underline{i}) &= \sqrt{a_j(\underline{i}) + c_j} - \sqrt{a_{j+1}(\underline{i}) + c_{j+1}} \end{cases}$

Le texte qui suit explique le mode d'utilisation de cette nouvelle transformée pour sélectionner les coefficients significatifs de l'IUWT.

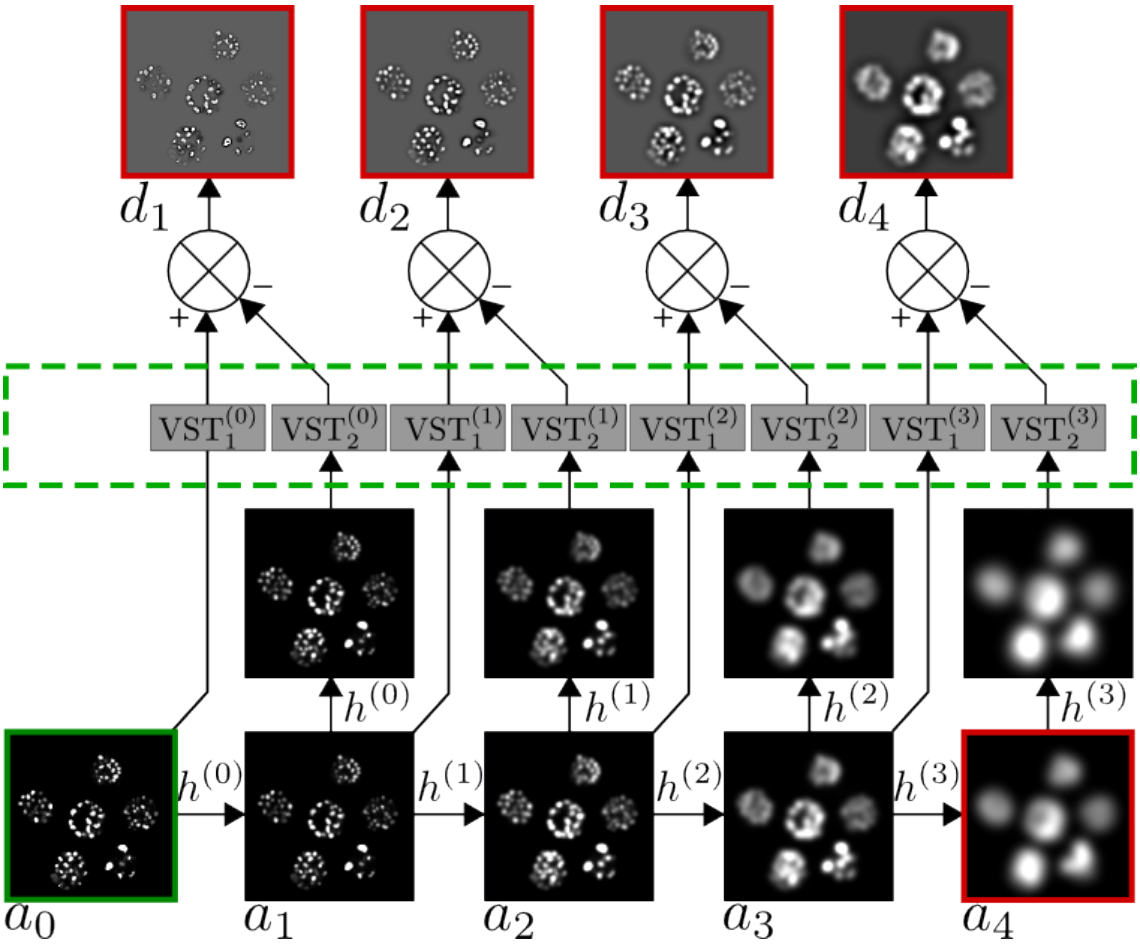


FIGURE 3.15 – MSVST-IUWT seconde génération. En vert, l'entrée de la transformée - en rouge, la sortie. Les opérations VST sont des opérations pixel par pixel définies par : $\mathrm{VST}_1^{(j)}(a_j)(\underline{i}) = \sqrt{a_j(\underline{i}) + c_j}$ et $\mathrm{VST}_2^{(j)}(a_{j+1} * h^{(j)})(\underline{i}) = \sqrt{a_{j+1} * h^{(j)}(\underline{i}) + c'_{j+1}}$. les c_j et les c'_{j+1} sont donnés par l'équation (3.52).

La Stabilisation de Variance Multi-Echelle appliquée à l'IUWT seconde génération

Il est possible de généraliser les travaux de cette MSVST à l'IUWT seconde génération [98]. Le schéma de cette transformée est donné par la figure (3.15). Soit $\mathcal{W}^{(2)}$, l'opérateur mathématique qui lui est associé. Nous supposons toujours un bruit de Poisson ou MPG. Comme pour les calculs effectués sur la première génération, nous pouvons montrer que si $\mathcal{W}^{(2)}u^* = 0$ alors

$$\overline{d}_{j+1} = \sqrt{a_j(\underline{i}) + c_j} - \sqrt{\left(a_{j+1} * h^{(j)}\right)(\underline{i}) + c'_{j+1}} \xrightarrow[\lambda \to +\infty]{\mathcal{L}} \mathcal{N}(0, \sigma_{j+1}) \tag{3.51}$$

Les suites c_j et c'_{j+1} sont définies par :

$$c_j = \frac{7}{8}\frac{\tau_2\left(h^{[j]}\right)}{\tau_1\left(h^{[j]}\right)} - \frac{1}{2}\frac{\tau_3\left(h^{[j]}\right)}{\tau_2\left(h^{[j]}\right)} \qquad \text{et} \qquad c'_{j+1} = \frac{7}{8}\frac{\tau_2\left(h'^{[j+1]}\right)}{\tau_1\left(h'^{[j+1]}\right)} - \frac{1}{2}\frac{\tau_3\left(h'^{[j+1]}\right)}{\tau_2\left(h'^{[j+1]}\right)} \tag{3.52}$$

où $h^{[j]}$ est donné par l'équation (3.46) et $h'^{[j+1]} = h^{[j]} * h^{(j)}$. Enfin, σ_j est construit différemment par rapport à l'IUWT première génération :

$$\sigma_j = \frac{1}{4}\frac{\tau_2\left(h^{[j]}\right)}{\tau_1\left(h^{[j]}\right)^2} + \frac{1}{4}\frac{\tau_2\left(h'^{[j+1]}\right)}{\tau_1\left(h'^{[j+1]}\right)^2} + \frac{1}{2}\frac{\langle h^{[j]}, h'^{[j+1]}\rangle}{\tau_1\left(h^{[j]}\right)\tau_1\left(h'^{[j+1]}\right)} \tag{3.53}$$

Grâce à l'équation (3.51), une nouvelle transformée non linéaire de l'image bruitée peut être établie :

IUWT Classique	MSVST+IUWT - 2nd génération
$\begin{cases} a_0 &= u \\ a_{j+1} &= h^{(j)} * u \\ d_{j+1}(\underline{i}) &= a_j(\underline{i}) - a_{j+1}(\underline{i}) * h^{(j)} \end{cases}$	$\begin{cases} a_0 &= u \\ a_{j+1} &= h^{(j)} * u \\ \overline{d}_{j+1}(\underline{i}) &= \sqrt{a_j(\underline{i}) + c_j} - \sqrt{a_{j+1}(\underline{i}) * h^{(j)} + c_{j+1}} \end{cases}$

Sélection des coefficients significatifs à partir de la MSVST-IUWT première ou seconde génération

Une fois la MSVST-IUWT de l'image bruitée construite, le test d'hypothèse $H_0(\underline{i}, j)$ est réalisé pour chaque pixel $\underline{i}$ et chaque échelle j. Sous $H_0(\underline{i}, j)$, vu que, $\overline{d}(\underline{i}, j) \sim \mathcal{N}(0, \sigma_j)$, cette propriété est utilisée pour le test de H_0.

Si $\overline{d}(\underline{i}, j) \sim \mathcal{N}(0, \sigma_j)$, alors la probabilité d'avoir un tirage de valeur *élevée* est faible. La notion de valeur élevée est relative à :

— l'appréciation de l'utilisateur.

— la variance σ_j du nouveau bruit gaussien, différente pour chaque échelle j.

Pour normaliser cette valeur par rapport à la variance, nous raisonnons en terme de probabilité et définissons celle qu'un second tirage issu de la même loi soit plus petit. $\overline{d}(\underline{i}, j)$ est considéré comme très important si cette probabilité est proche de 1.

$$H_0(\underline{i}, j) \Rightarrow \mathbb{P}\Big(|X| > \left|\overline{d}(\underline{i}, j)\right|\Big) > 1 - \alpha \qquad \text{avec} \qquad X \sim \mathcal{N}(0, \sigma_j) \tag{3.54}$$

Le coefficient de filtrage α, de petite valeur, paramètre la proportion des coefficients de la transformée présumés nuls. Par contre-pied, cette valeur jauge aussi le nombre de grandeurs à conserver dans la représentation multi-échelle de l'image, les intensités

significatives étant en conséquence directement définies à partir de (3.54) :

$$\overline{d}(\underline{i},j) \text{ significatif} \quad \Leftrightarrow \quad \mathbb{P}\Big(|X| > \big|\overline{d}(\underline{i},j)\big|\Big) \leq 1-\alpha \qquad \text{avec} \qquad X \sim \mathcal{N}(0,\sigma_j) \tag{3.55}$$

Une valeur de α proche de zéro entraîne une sélection plutôt rigide. A l'inverse une valeur proche de 1 régularise peu ces coefficients.

Enfin on définit $\mathcal{M}_\alpha$, l'ensemble des coefficients significatifs selon le seuil α :

$$\begin{aligned}
\mathcal{M}_\alpha &= \big\{(\underline{i},j)\,, \quad \overline{d}(\underline{i},j) \text{ significatif}\big\} \\
&= \Big\{(\underline{i},j)\,, \quad \mathbb{P}\Big(|X| > \big|\overline{d}(\underline{i},j)\big|\Big) \leq 1-\alpha \qquad \text{avec} \qquad X \sim \mathcal{N}(0,\sigma_j)\Big\} \\
&= \left\{(\underline{i},j)\,, \quad 1-\operatorname{erf}\left(\frac{\big|\overline{d}(\underline{i},j)\big|}{2\sigma_j}\right) \leq 1-\alpha\right\} \\
&= \left\{(\underline{i},j)\,, \quad \operatorname{erf}\left(\frac{\big|\overline{d}(\underline{i},j)\big|}{2\sigma_j}\right) \geq \alpha\right\}
\end{aligned} \tag{3.56}$$

Ici erf est la fonction d'erreur de la loi normale centrée et réduite [12].

Une propriété intéressante sur les échelles

Nous avons vu comment établir un test statistique pour déterminer les coefficients significatifs sur l'IUWT appliquée à une image bruitée. Il est cependant possible de rajouter un a-priori sur la taille des objets pour assurer une meilleure analyse et un meilleur débruitage de l'image. Cette idée a été proposée par Zhang et al [113].

Supposons que tous les noyaux exposés sur une donnée 2-photons ont tous la même proportion. Cette proportion ne correspond pas rigoureusement à une échelle j de la transformée. En revanche les j peuvent borner la taille des formes représentées. Filtrer l'IUWT en fonction de ces quantités nous permet donc d'affiner le test d'hypothèse réalisé précédemment. La procédure consiste à enlever de $\mathcal{M}_\alpha$ les coefficients pour lesquels l'échelle j ne correspond plus à la taille des cellules. Les indices j gardés seront alors bornés entre deux constantes J_m et J_M ; le nouvel ensemble de coefficients significatifs devient :

$$\mathcal{M}_\alpha^{(J_m,J_M)} = \left\{(\underline{i},j)\,, \quad \operatorname{erf}\left(\frac{\big|\overline{d}(\underline{i},j)\big|}{2\sigma_j}\right) \geq \alpha \quad \text{et} \quad J_m \leq j \leq J_M\right\} \tag{3.57}$$

Filtrer les coefficients en fonction de l'échelle nous offre deux avantages :

12. i.e. distribution gaussienne de moyenne nulle et de variance 1.

— Améliorer la qualité du débruitage : il est rare que les noyaux soient d'échelle 0 ou 1. Ainsi, nous savons que tout signal détecté à ces niveaux-là relèvera du bruit.
— Enlever le signal de fond causé par le marquage ectopique qui, comme nous l'avons spécifié, présente des structures cohérentes et fortement corrélées à l'information effective. Pour cette raison, ce dernier ne peut, à proprement parler, être considéré comme bruit : les techniques de débruitage classiques ne sont pas à-même de l'enlever. Pour ce qui nous concerne, ce signal apparaît à de grandes échelles. Les filtrer libérera l'image de cette information parasite.

Dans la pratique, une fois que les J_m et J_M sont choisis, J, paramètre très grand de l'IUWT, devient inutile : toutes les échelles de $J_M + 1$ à J sont ignorées et mises à zéro. Pour cette raison, il est d'usage de fixer $J = J_M + 1$.

3.4.4 Reconstruction de l'image débruitée à partir des coefficients significatifs

Dans la section précédente, nous avons vu comment établir un test d'hypothèse sur l'IUWT bruitée, ceci dans le but de sélectionner uniquement les pixels significatifs à partir desquels nous souhaitons maintenant reconstituer l'image débruitée. La solution la plus naturelle à ce problème est de fixer les autres coefficients à 0 et de reconstruire l'image à partir de la nouvelle transformée obtenue. L'opérateur de reconstruction est défini en 3.4.4. Cette méthode n'est cependant pas consistante dans la mesure où elle peut produire des pixels d'intensité négative, phénomène contradictoire avec l'hypothèse de départ qui stipule un bruit de type MPG. Dans [95], les auteurs ont mis en oeuvre un modèle d'optimisation sous contrainte pour reconstruire l'image.

L'opérateur de Reconstruction

Soit $\{\tilde{d}_1, \tilde{d}_2, \cdots, \tilde{d}_J, \tilde{a}_J\}$, une IUWT appliquée à une image inconnue. Nous souhaitons reconstruire l'image $\tilde{u}$ à partir de cette représentation. L'opérateur de reconstruction $\mathcal{R}$ est directement déduit de (3.27) pour l'IUWT première génération et de (3.28) pour l'IUWT seconde génération. :

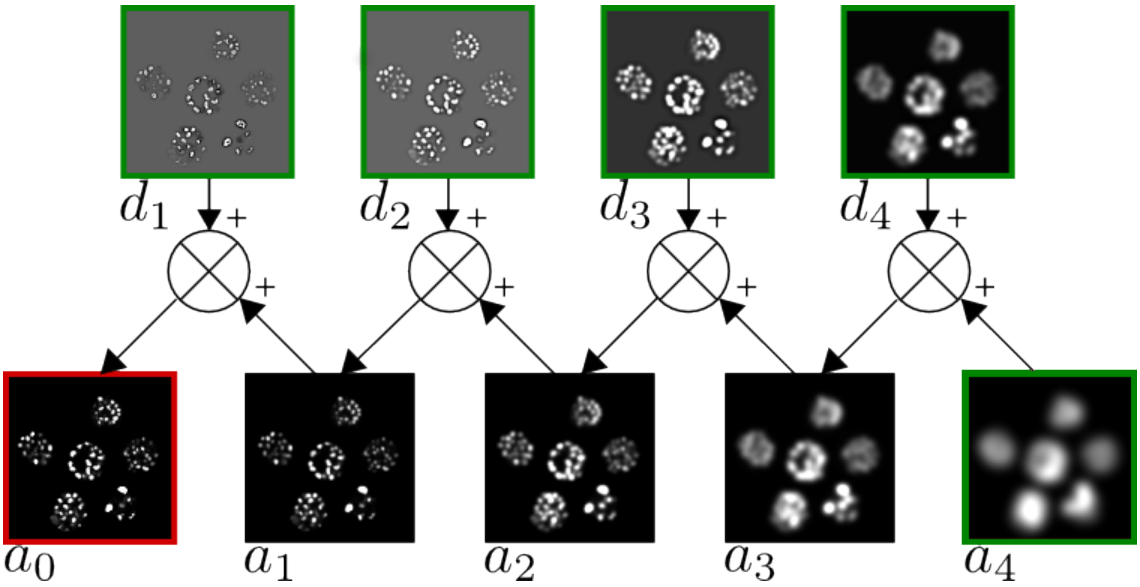


FIGURE 3.16 – IUWT Inverse pour la première génération. En vert l'entrée de la transformée, en rouge, la sortie.

IUWT première génération	**IUWT seconde génération**
$\tilde{a}_j = d_j \oplus \tilde{a}_{j+1}$ $\tilde{u} = \tilde{a}_0$ (3.58)	$\tilde{a}_j = d_j \oplus (h^{(j)} * \tilde{a}_{j+1})$ $\tilde{u} = \tilde{a}_0$ (3.59)

Ici $\oplus$ désigne l'addition de deux images pixel par pixel. Les figures (3.16) et (3.17) nous donnent respectivement une vision géométrique de ces schémas de reconstruction pour les transformées de première et de seconde génération.

Pour ces dernères, $\mathcal{R}$ n'est pas le seul opérateur qui permet de reconstruire l'image u à partir de la transformée $\mathcal{W}u$. En revanche, dans le cas de la seconde génération, il présente l'avantage d'être analytique et significatif : l'image peut ainsi être interprétée comme une superposition de formes sphériques de différentes tailles. Les d_j indiquent la position de ces formes (cf. partie 3.4.5).

Algorithme Itératif pour la reconstruction de l'image

Une fois tous les coefficients d'intensité significative collectés, la simple mise à zéro des autres pixels n'est pas encore cohérente avec l'hypothèse imposée sur la statistique du bruit. En effet $\tilde{u}$, l'image débruitée et reconstruite à partir de cette nouvelle transformée

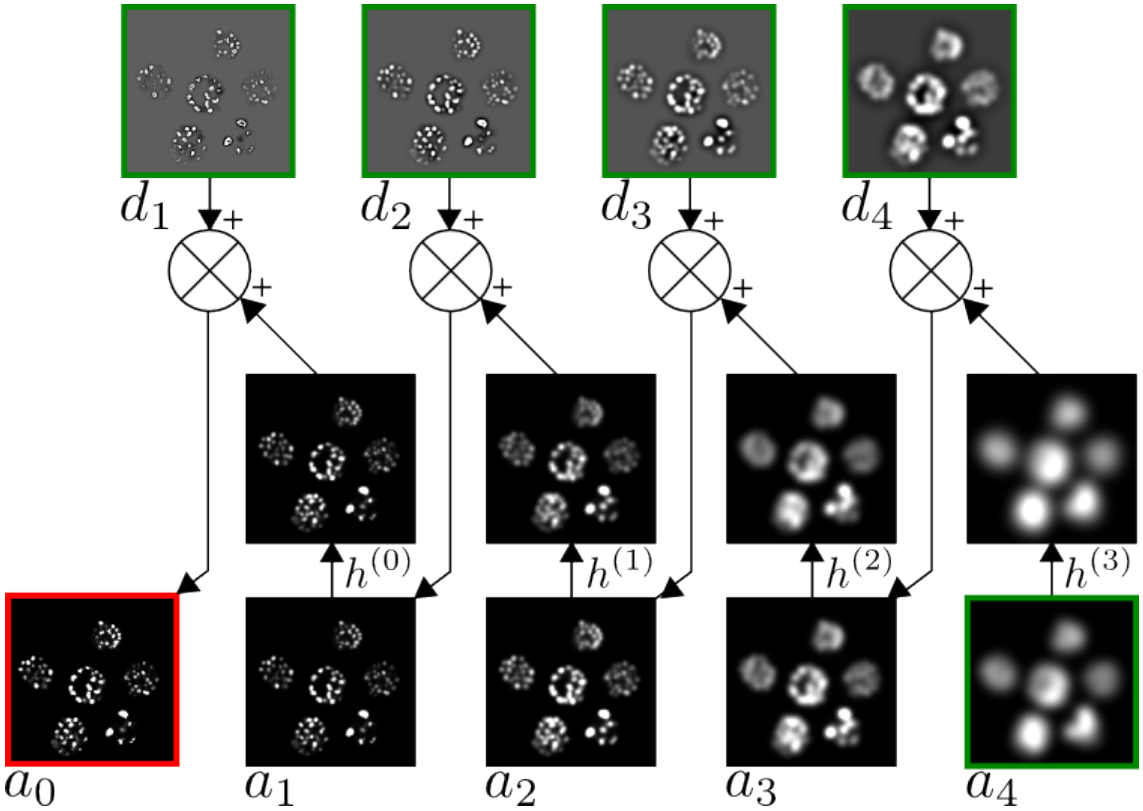


FIGURE 3.17 – IUWT Inverse pour la seconde génération. En vert l'entrée de la transformée, en rouge, la sortie.

$\{\tilde{d}_1, \tilde{d}_2, \cdots, \tilde{d}_J, \tilde{a}_J\}$, doit être une approximation de u^* qui ne peut avoir de coefficient négatif. Cette contrainte est induite par l'hypothèse initiale d'un bruit de Poisson ou de type MPG. En effet, u^* paramètre l'opérateur $\mathcal{P}$ qui, à son tour, génère une variable aléatoire dont la distribution est de type Poisson. Vu la définition de $\mathcal{P}$, les intensités de u^* doivent être positives. $\tilde{u}$, pour être proche du modèle théorique, doit aussi vérifier cette propriété.

La mise à zéro des coefficients négatifs sur l'image obtenue n'est pas non plus pertinente : à ce jour, en effet, rien ne prouve l'existence de transformée $\{\tilde{d}_1, \tilde{d}_2, \cdots, \tilde{d}_J, \tilde{a}_J\}$ qui à la fois complète l'ensemble des coefficients obtenus dans la section précédente et à la fois reconstruit une telle image par $\mathcal{R}$.

Il est donc essentiel, pour retrouver l'image, de bâtir un modèle de reconstruction plus subtil. La méthode proposée par Zhang et al. [95] présente un modèle d'optimisation qui peut-être énoncé de la manière suivante : *à partir des coefficients significatifs obtenus par le test d'hypothèse, je souhaite en ajouter un nombre le plus restreint possible de manière à rendre positive l'image reconstruite par la transformée.*

Construction du modèle d'optimisation Cet ensemble de trois contraintes peut-être quantifié par des opérateurs mathématiques. Soit $s = \{\tilde{d}_1, \tilde{d}_2, \cdots, \tilde{d}_J, \tilde{a}_J\}$, l'IUWT de l'image débruitée :

— les coefficients de s doivent correspondre à ceux de la transformée bruitée aux endroits où ils sont significatifs :

$$s(\underline{i}, j) = d(\underline{i}, j) \qquad \forall (\underline{i}, j) \in M_\alpha^{(J_m, J_M)} \tag{3.60}$$

— les intensités de la reconstruction $\tilde{u}$ à partir de s doivent toutes être positives :

$$(\mathcal{R}s)(\underline{i}) \geq 0 \qquad \forall \underline{i} \in \mathcal{U} \tag{3.61}$$

— La parcimonie de s est mesurée par sa norme 1. La minimiser revient à contraindre le nombre de coefficients ajoutés.

$$\|s\|_1 = \sum_{\underline{i}, j} |s(\underline{i}, j)| \tag{3.62}$$

Enfin, le modèle d'optimisation général est donné par :

$$\arg\min_{s \in \mathrm{dom}(\mathcal{R})} \|s\|_1 \qquad \text{s.t.} \quad \begin{cases} s(\underline{i}, j) = (\mathcal{W}u)(\underline{i}, j) & \forall (\underline{i}, j) \in \mathcal{M}_\alpha^{(J_m, J_M)} \\ (\mathcal{R}s)(\underline{i}) \geq 0 & \forall \underline{i} \in \mathcal{U} \end{cases} \tag{3.63}$$

Ici dom($\mathcal{R}$), désigne le domaine de définition de $\mathcal{R}$, à savoir l'ensemble d'ensembles de $J+1$ images.

Schéma de Résolution par la méthode hybride de plus forte descente Pour trouver le s minimiseur de l'équation (3.63), Zhang et al. proposent une implémentation de la méthode hybride de plus forte descente (HSD [109], pour Hybrid Steepest Descent), analogue à une descente de sous-gradient. Son adaptation au problème (3.63), décrite par l'algorithme (4), prend en paramètre J_m et J_M, définis par (3.57), α, défini par (3.56), une suite de pas de descente $\{\beta_k\}_k$ et enfin l'image bruitée. La sortie de cet algorithme donne une image débruitée. La suite de pas de descente vérifie la propriété suivante :

$$\sum_k \beta_k = +\infty \qquad \text{et} \qquad \sum_k |\beta_{k+1} - \beta_k| < +\infty \tag{3.64}$$

Dans la pratique, $\beta_k = \beta_0 \dfrac{1}{(k+1)^\gamma}$ avec β_0 et $0 < \gamma \leq 1$, paramètres de l'algorithme. Dans l'algorithme (4), l'opérateur $\mathcal{P}_\mathcal{M}$ contraint son argument s à être égal à d pour tous les tuples $(\underline{i}, j)$ in $\mathcal{M}_\alpha^{(J_m,J_M)}$:

$$(\mathcal{P}_\mathcal{M}(s))\,(\underline{i}, j) = \begin{cases} (\mathcal{W}u)(\underline{i}, j) & \text{si } (\underline{i}, j) \in M_\alpha^{(J_m,J_M)} \\ s_j(\underline{i}) & \text{sinon.} \end{cases}$$

L'opérateur $\mathcal{P}_{\mathcal{O}^-}$ projette une image sur l'ensemble des images à coefficients positifs :

$$(\mathcal{P}_{\mathcal{O}^+}(u))\,(\underline{i}) = \begin{cases} u(\underline{i}, j) & \text{si } u(\underline{i}) \geq 0 \\ 0 & \text{sinon.} \end{cases}$$

Les opérateurs $\mathcal{W}$ et $\mathcal{R}$ sont respectivement l'opérateur de transformée en ondelettes isotropes et l'opérateur de reconstruction associé (resp. alg. (2) et eq. (3.58) pour la première génération, puis alg. (3) et eq. (3.59) pour la seconde). Enfin, ST_{β_k} est l'opérateur de seuillage doux défini par (3.12) :

$$(\mathrm{ST}_{\beta_k}(s))\,(\underline{i}, j) = \max(|s(\underline{i}, j)| - \beta_k, 0)\mathrm{sgn}(s(\underline{i}, j)) \tag{3.65}$$

3.4.5 Robustesse de la seconde génération IUWT par rapport à la première

Comme expliqué dans la partie 3.4.1, la seconde génération IUWT diminue les artefacts oscillatoires dont souffre la première génération. Ces artefacts, décrits en 3.1.4,

Data: Image bruitée u. Paramètre de convergence r_s. Echelle minimale et maximale, J_m et J_M. Tau de faux positifs α
Result: Image débruitée $\tilde{u}$.
Construire $\mathcal{M}_\alpha^{(J_m,J_M)}$ comme défini dans (3.56) ;
$J \leftarrow J_M + 1$;
$(s_0)_j(\underline{i}) \leftarrow 0$ pour tout $\underline{i}$ et j ;
$\overline{s}_0 \leftarrow s_0$;
repeat
  $\overline{s}_{k+1} \leftarrow \mathcal{WP}_{\mathcal{O}^+}(\mathcal{R}(\mathcal{P}_\mathcal{M} s_k))$;
  $s_{k+1} \leftarrow \mathrm{ST}_{\beta_k}(\overline{s}_{k+1})$;
  $k \leftarrow k+1$
until *convergence*;
$\tilde{u} \leftarrow \mathcal{R} s_\infty$;

Algorithm 4: Algorithme de Reconstruction de l'image débruitée, à partir des coefficients significatifs, par la méthode du sous-gradient

peuvent être atténués si l'opérateur de reconstruction est à coefficients positifs. Un opérateur $\mathcal{R}$ est à coefficients positifs si, pour tout élément x dans $\mathrm{dom}(\mathcal{R})$ à valeurs $x_{\underline{i},j}$ positives, les intensités de l'image reconstruite $\mathcal{R}x$ sont elles aussi toutes positives.

Intuitivement, cette propriété peut trouver son explication dans l'interprétation de l'opérateur sous forme de dictionnaire (cf. 3.2.1). Si l'opérateur est à coefficients positifs, l'image est reconstruite en superposition de patterns $\{\mathcal{R}e_{\underline{i},j}\}_{\underline{i},j}$ [13] avec $e_{\underline{i},j}$ vecteur canonique de $\mathrm{dom}(\mathcal{R})$ [14], tous positifs et surtout non oscillants.

Les deux générations IUWT vérifient cette positivité. Cependant, dans le cas de la première, $\mathcal{R}e_{\underline{i},j} = e_{\underline{i}}$ avec $e_{\underline{i}}$, image dans laquelle le pixel d'indice $\underline{i}$ vaut 1 et tous les autres 0. Le facteur échelle disparaît et l'opérateur $\mathcal{R}$ n'a plus de sens géométrique.

Fixons par exemple $\underline{i}$ et prenons $j = 3$. $e_{\underline{i},3}$ est la transformée $\{d_1, d_2, d_3, \cdots, d_J, a_J\}$, avec $d_3(\underline{i}) = 1$; tous les autres coefficients de la transformée sont nuls. Dans le cas de la première génération, pour calculer $\mathcal{R}e_{\underline{i},3}$, il suffit de réaliser le calcul suivant :

$$
\begin{aligned}
a_4 &= 0 \\
a_3 &= a_4 + d_4 = 0 + 0 = 0 \\
a_2 &= a_3 + d_3 = 0 + e_{\underline{i}} = e_{\underline{i}} \\
a_1 &= a_2 + d_2 = e_{\underline{i}} + 0 = e_{\underline{i}} \\
a_0 &= a_1 + d_1 = e_{\underline{i}} + 0 = e_{\underline{i}}
\end{aligned}
$$

Autrement dit, *l'image au pixel allumé* d_3 se propage au fur et à mesure des itérations mais reste inchangée. En choisissant un autre j, nous aurions eu exactement les mêmes

13. Pour plus de précisions, se référer à la partie 3.2.1
14. i.e. $e_{\underline{i},j}(\underline{i},j) = 1$ et $e_{\underline{i},j}(\underline{i}',j') = 0$ pour tout voxel pointé par $\underline{i}'$ et j', avec $(\underline{i}',j') \neq (\underline{i},j)$

résultats.

Inversement, l'opérateur de reconstruction lié à la seconde génération IUWT apporte beaucoup plus de sens à la transformée : un vecteur canonique $e_{\underline{i},j}$ produit, avec la transformée, une forme isotrope de taille variable suivant le facteur échelle j.

Par exemple, dans le cas où j vaut 3, $\mathcal{R}e_{\underline{i},j}$, pic d'intensité au voxel centré en $\underline{i}$, sera successivement filtré par $h^{(2)}$, puis $h^{(1)}$, puis $h^{(0)}$. Le résultat apparaît sous une forme isotrope élargie par ces opérations de filtrage. Pour cette raison, plus j prendra une valeur élevée, plus la morphologie du résultat $\mathcal{R}e_{\underline{i},j}$, du fait d'un nombre de filtrages plus important, sera de grande échelle.

Donc dans le cas de la deuxième génération, si nous reprenons l'exemple dans lequel $\underline{i}$ est fixé et $j = 3$, $e_{\underline{i},3}$ reste la transformée $\{d_1, d_2, d_3, \cdots, d_J, a_J\}$ dont tous les coefficients sont nuls, hormis $d_3(\underline{i})$ qui vaut 1. Le calcul de $\mathcal{R}e_{\underline{i},3}$ devient alors :

$$
\begin{aligned}
&a_4 = 0 \\
&a_3 = h^{(3)} * a_4 + d_4 = h^{(3)} * 0 + 0 = 0 \\
&a_2 = h^{(2)} * a_3 + d_3 = h^{(2)} * 0 + e_{\underline{i}} = e_{\underline{i}} \\
&a_1 = h^{(1)} * a_2 + d_2 = h^{(1)} * e_{\underline{i}} + 0 = h^{(1)} * e_{\underline{i}} \\
&a_0 = h^{(0)} * a_1 + d_1 = h^{(0)} * h^{(1)} * e_{\underline{i}} + 0 = h^{(0)} * h^{(1)} * e_{\underline{i}}
\end{aligned}
$$

Ainsi, plus généralement, le résultat de $\mathcal{R}e_{\underline{i},j}$ aura une morphologie dont la taille croîtra avec l'échelle j :

$$\mathcal{R}e_{\underline{i},j} = h^{(0)} * h^{(1)} * \ldots * h^{(j)} * e_{\underline{i}}$$

Pratiquement, la robustesse de la seconde transformée, comparée à la première, trouve aussi son explication dans l'opérateur de reconstruction : au cours de l'itération sur l'indice j, la donnée d'échelle la plus large est lissée avant l'addition, ce qui apporte de la robustesse en regard des artefacts oscillatoires.

3.5 Adaptation de la MSVST-IUWT au débruitage des noyaux celullaire

Nous avons présenté dans la section précédente une méthode de débruitage 2D, efficace pour retrouver des formes isotropes. L'extension de cette technique à la 3D serait particulièrement intéressante pour retrouver les noyaux cellulaires.

A priori, de par les propriétés de la grille d'échantillonnage, l'export direct à la troisième dimension n'est pas trivial, la dimension en z des voxels étant différente de celle en

x et y. A cause de cette caractéristique, cette grille est dite anisotrope. En conséquence, un objet sphérique imagé par un deux-photons perd son isotropie.

Quand on s'intéresse au traitement d'images en 3 dimensions, le temps de calcul, potentiellement exhorbitant, présente une autre difficulté. Pour ce qui nous concerne, et ce dans l'optique d'atteindre plus rapidement la convergence, un changement de la méthode de résolution du modèle (3.63) a été décidé.

Le chapitre suivant présentera ces deux apports.

Chapitre 4

La Transformée Multi-Echelle de Stabilisation de Variance et la Transformée Non Décimée en Ondelettes Isotropes pour le débruitage d'images 2-photons

Dans le chapitre précédent, nous avons étudié une méthode 2D, efficace pour représenter les formes isotropes. Cette méthode a recours à la première et seconde génération d'une transformée en ondelettes. Nous en proposons une généralisation 3D dans le cas d'une grille non-homogène : la taille du voxel en z est plus grande que celle en x et y. Cette caractéristique physique des images implique qu'un objet isotrope, dans la réalité, se trouve comme *aplati* quand il est échantillonné par le microscope (cf figure (4.1)).

Dans un premier temps nous présenterons l'extension directe de la MSVST-IUWT, sans prendre en compte les dimensions de la grille. Nous montrerons ensuite comment inclure cette caractéristique dans la méthode. Puis nous présenterons une nouvelle méthode de reconstruction qui assure une meilleure convergence que l'algorithme (4).

4.1 Extension 3D de la MSVST-IUWT

Montrons d'abord comment la MSVST-IUWT s'étend à la 3D sans considérer l'anisotropie de la grille. Nous reprendrons dans cette section chacune des trois étapes définies par la figure (3.9) en pointant les éléments qui diffèrent de la 2D.

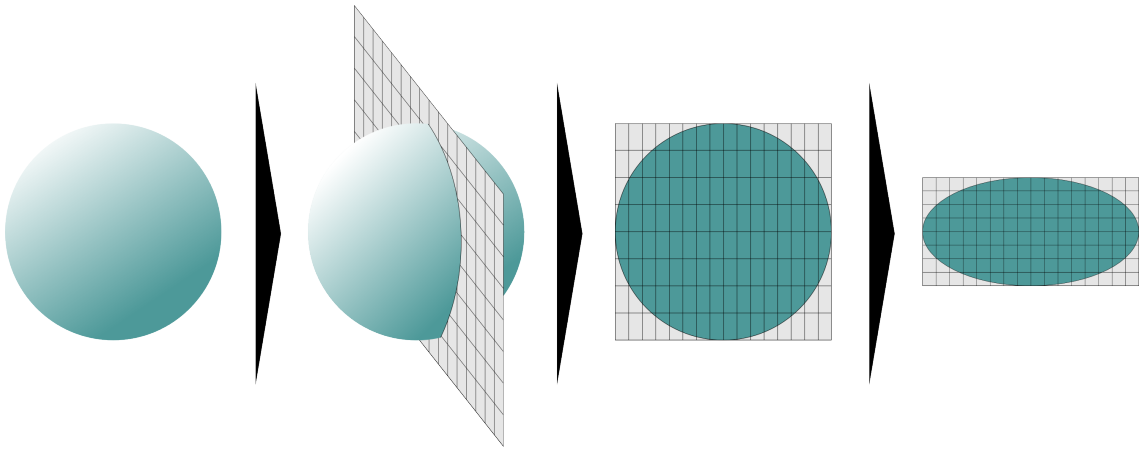


FIGURE 4.1 – Phénomène produit quand un objet sphérique est échantillonné sur une grille non homogène.

4.1.1 L'IUWT

Quelle que soit la génération utilisée, la généralisation de la transformée en ondelettes isotropes en trois dimensions est semblable à la deuxième ; le schéma donné par les algorithmes (2) et (3), ou encore les figures (3.10) et (3.11), reste valides. La différence réside dans le fait que, maintenant, les filtres sont des opérateurs 3D. Un filtre 3D h peut donc être défini comme une fonction de $\mathbb{Z}^3$ dans $\mathbb{R}$: à 3 entiers k_x, k_y et k_z, est associé un réel $h(k_x, k_y, k_z)$. Le produit de convolution (3.29) étendu à la troisième dimension nous donne :

$$(u * h)(i_x, i_y, i_z) = \sum_{k_x,k_y,k_z} u(i_x - k_x, i_y - k_y, i_z - k_z)h(k_x, k_y, k_z) \tag{4.1}$$

Comme pour l'équation (3.29), il est nécessaire d'établir des conditions de bord :

— u peut être nulle en dehors de ses frontières :

$$(u * h)(i_x, i_y, i_z) = \sum_{k_x,k_y,k_z} u(i_x - k_x, i_y - k_y, i_z - k_z)h(k_x, k_y, k_z) \tag{4.2}$$

— u peut être étendue par périodicité :

$$u(i_x, i_y, i_z) = u(i_x\%N_x, i_y\%N_y, i_z\%N_z) \tag{4.3}$$

— u peut être étendue par symétrie.

— u peut-être étendue en imposant une constance de l'intensité au niveau des bords.

$$u(i_x, i_y, i_z) = u(T_x(i_x), T_y(i_y), T_z(i_z)) \tag{4.4}$$

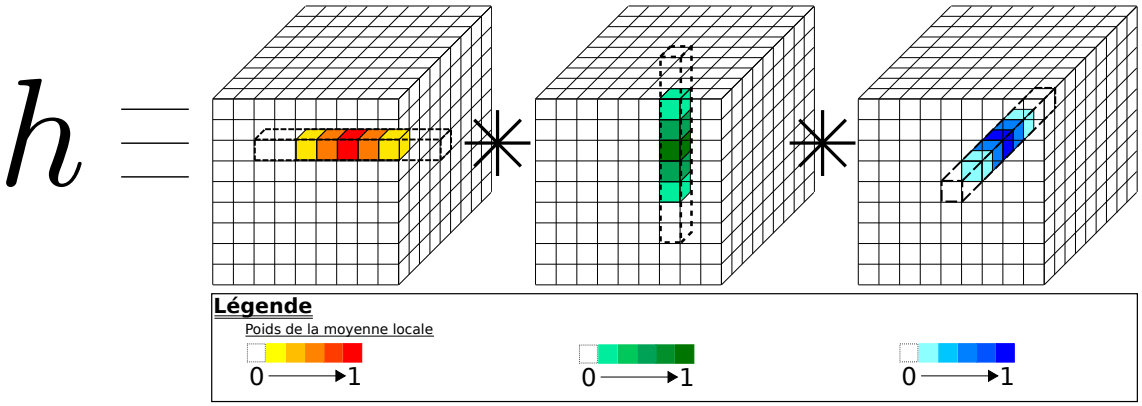


FIGURE 4.2 – Application d'un filtre séparable à une image. Le calcul du pixel central sur l'image bruitée équivaut à une moyenne locale effectuée successivement sur les lignes, sur les colonnes et la profondeur de l'image. Les poids des filtres associés peuvent être différents suivant la direction.

Avec T_x et T_y définis comme dans (3.33), T_z donné par :

$$T_z(i_z) = \begin{cases} N_z - 1 & \text{si } i_z \geq N_z \\ 0 & \text{si } i_z < 0 \\ i_z & \text{sinon} \end{cases} \tag{4.5}$$

L'opérateur de convolution $*$ entre deux filtres 3D h_1 et h_2 est donné par :

$$(h_1 * h_2)(k_x, k_y, k_z) = \sum_{k'_x, k'_y, k'_z} h_1(k_x - k'_x, k_y - k'_y, k_z - k'_z) h_2(k_x, k_y, k_z) \tag{4.6}$$

Un filtre moyenneur 3D se définit aussi par

$$\forall (k_x, k_y, k_z) \in \mathbb{Z}^3, \quad h(k_x, k_y, k_z) \geq 0 \qquad \text{et} \qquad \sum_{k_x, k_y, k_z} h(k_x, k_y, k_z) = 1 \tag{4.7}$$

L'équation suivante détermine un filtre séparable 3D :

$$h(k_x, k_y, k_z) = h_x(k_x) h_y(k_y) h_z(k_z) \tag{4.8}$$

Une vision géométrique en est donnée dans la figure (4.2. Enfin, toutes les propriétés sur les filtres données en 3.4.2 sont aussi valables dans le cas de la troisième dimension. Pareillement à la 2D, les filtres $h^{(j)}$ sont séparables et moyenneurs. Etablie à partir d'un

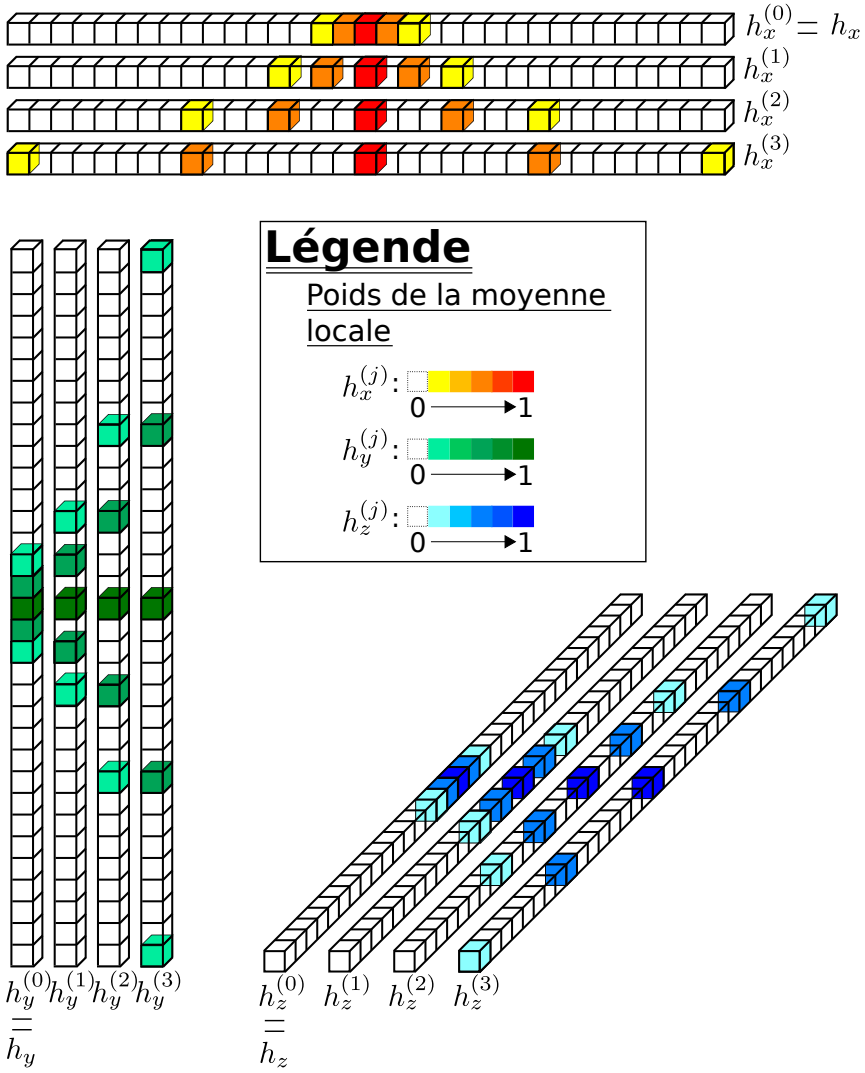


FIGURE 4.3 – Construction des filtres $h^{(j)} : (i_x, i_y, i_z) \mapsto h_x^{(j)}(i_x)h_y^{(j)}(i_y)h_z^{(j)}(i_z)$ à partir de $h : (i_x, i_y, i_z) \mapsto h_x(i_x)h_y(i_y)h_z(i_z)$

filtre h, la construction de $h_x^{(j)}$ et $h_y^{(j)}$ est donnée par (3.40). Celle de h_z est identique :

$$h_z^{(j)}(i_z) = \begin{cases} h_z(\frac{i_z}{2^j}) & \text{si } \frac{i_z}{2^j} \text{ est entier.} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \tag{4.9}$$

	Première génération	Seconde génération
$\tau_p(h^{[j]})$	$\sum_{k_x,k_y,k_z} \left(h^{[j]}(k_x,k_y,k_z)\right)^p$	
$\tau_p(h'^{[j+1]})$	$\times\times\times\times\times$	$\sum_{k_x,k_y,k_z} \left(h'^{[j+1]}(k_x,k_y,k_z)\right)^p$
$\langle h^{[j]}, h^{[j+1]}\rangle$	$\sum_{k_x,k_y,k_z} h^{[j]}(k_x,k_y,k_z)h^{[j+1]}(k_x,k_y,k_z)$	$\times\times\times\times\times$
$\langle h^{[j]}, h'^{[j+1]}\rangle$	$\times\times\times\times\times$	$\sum_{k_x,k_y,k_z} h^{[j]}(k_x,k_y,k_z)h'^{[j+1]}(k_x,k_y,k_z)$

TABLE 4.1 – Expression des quantités calculées pour la MSVST 3D, dans le cas où elles diffèrent de la 2D.

4.1.2 La MSVST, le test d'hypothèse et l'algorithme de reconstruction

La MSVST 3D est aussi similaire à celle de la deuxième dimension. Sa seule différence réside dans le calcul des coefficients à partir des filtres 3D ; la table (4.1) explicite les expressions changées. Dans le cas de l'algorithme de reconstruction et du test d'hypothèse, les équations restent les mêmes.

4.2 Extension de la méthode pour une grille anisotrope

Pour étendre la méthode à une grille anisotrope, nous modifions l'IUWT pour qu'elle représente de manière parcimonieuse les objets véritablement sphériques (i.e. sphériques avant d'avoir été échantillonnés sur la grille). Pour cela, nous nous intéressons à la définition du filtre h.

En 2D, h est séparable avec $h_x = h_y$. Etendre cette méthode à la 3D, sans considération de la grille, revient à définir h_z comme identique à h_x et h_y : $h_z = \left[\frac{1}{16}, \frac{1}{4}, \frac{3}{8}, \frac{1}{4}, \frac{1}{16}\right]_{-2\ ..\ 2}$. Faire usage d'un tel filtre séparable et homogène selon chaque direction x, y et z n'est consistant que dans le cas d'une grille isotrope. Si la taille du pixel dans la direction z est différente de celle des autres directions, ce modèle n'est plus pertinent ; en effet, utiliser le même filtre dans toutes les directions revient à supposer de manière implicite une uniformité dans la taille des pixels.

Pour introduire l'anisotropie de la grille dans nos modèles, deux solutions s'offrent à nous :

— Ré-échantillonner l'image de manière à rendre la grille isotrope ; traiter ensuite l'image avec les filtres utilisés précédemment.

— Adapter directement le filtre aux dimensions du voxel.

La première méthode, qui nécessite une étape d'interpolation entre les voxels, génère deux problèmes :

1. La statistique du bruit, obtenue sur le résultat après interpolation, est inconnue.

2. Une approximation est rajoutée aux données originales.

Pour ces raisons, nous avons choisi d'abandonner cette piste et de nous intéresser à l'adaptation du filtre à des grilles anisotropes.

Malgré tout, cette adaptation n'est pas triviale car le filtre binomial h n'est pas explicitement défini en fonction de la taille du voxel : les coefficients sont fixés quelles que soient les mensurations de la grille. Libérer une contrainte pour obtenir toute une classe de filtres paramétrée par les dimensions de la grille s'impose donc. La solution la plus directe réside dans l'interpolation des coefficients du filtre. Toutefois, le choix de la fonction interpolante introduit un biais arbitraire dans les résultats. Par ailleurs, rien n'assure que la somme des coefficients du filtre obtenu après interpolation vale 1 ; ce nouveau filtre ne correspondrait plus à une moyenne locale et nous perdrions la propriété (3.35).

Nous avons donc opté pour une autre direction qui explore le domaine de la physique et utilise l'interprétation du filtre binomial comme une approximation discrète de diffusion [16]. A l'inverse du mécanisme décrit dans la partie des méthodes de débruitage par EDP 3.1.2, ce processus est isotrope : la diffusion reste la même, quelles que soient les directions de l'espace. C'est cette caractéristique d'isotropie qui est en réalité transmise à l'IUWT. Cette propriété peut être aussi retrouvée lorsqu'une connexité entre le filtre binomial et la fonction gaussienne est mise en évidence [6], cette dernière possédant les particularités suivantes :

— Elle est la solution analytique du modèle classique de diffusion isotrope.
— Elle est la seule fonction susceptible d'être décomposée par des fonctions1D dans les 3 directions x, y et z tout en restant isotrope.

Cependant, comme la gaussienne n'a pas de support fini, l'utiliser comme filtre multiplierait les temps de calculs. Utiliser une approximation telle que le filtre binomial paraît donc plus judicieux.

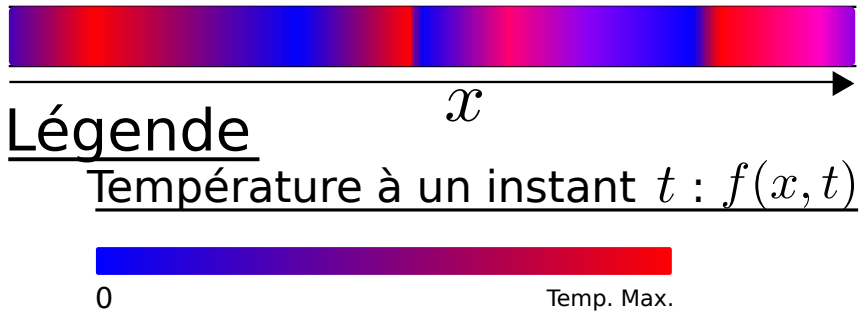


FIGURE 4.4 – Exemple de la diffusion d'un matériau unidimensionnel à un instant donné t, en fonction de sa coordonnée x

La généralisation du filtre binomial à un processus de diffusion nous a conduits à tout un ensemble paramétré de filtres :

$$\begin{aligned}
&C < \frac{1}{2}\mathrm{MIN}\left(s_x^2, s_y^2, s_z^2\right), \\
&h_x^{(0)}(C) = \left[\frac{1}{r_x^2}, \frac{2r_x - 4}{r_x^2}, \frac{r_x^2 - 4r_x + 6}{r_x^2}, \frac{2r_x - 4}{r_x^2}, \frac{1}{r_x^2}\right]_{-2\ ..\ 2} \qquad r_x = \frac{s_x^2}{C} \\
&h_y^{(0)}(C) = \left[\frac{1}{r_y^2}, \frac{2r_y - 4}{r_y^2}, \frac{r_y^2 - 4r_y + 6}{r_y^2}, \frac{2r_y - 4}{r_y^2}, \frac{1}{r_y^2}\right]_{-2\ ..\ 2} \qquad r_y = \frac{s_y^2}{C} \\
&h_z^{(0)}(C) = \left[\frac{1}{r_z^2}, \frac{2r_z - 4}{r_z^2}, \frac{r_z^2 - 4r_z + 6}{r_z^2}, \frac{2r_z - 4}{r_z^2}, \frac{1}{r_z^2}\right]_{-2\ ..\ 2} \qquad r_z = \frac{s_z^2}{C}
\end{aligned} \tag{4.10}$$

Ici, C est la constante de paramétrisation ; s_x, s_y et s_z correspondent respectivement aux tailles des voxels dans les directions x, y et z. Nous avons ici un ensemble de trois filtres réglés par une seule grandeur : C. En choisissant une valeur particulière de C, il est possible de garder les coefficients binomiaux dans les directions x et y. Le filtre en z sera alors lui aussi fixé. Dans ce qui suit, nous expliquons la procédure de construction des filtres donnés par (4.10) à partir de (3.41).

La diffusion est un phénomène physique décrit par l'équation de la chaleur. En dimension 1, et dans un milieu homogène, cette dernière est définie par :

$$\frac{\partial f}{\partial t} = \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} \tag{4.11}$$

Cette équation modélise la variation infinitésimale de la température dans un milieu unidimensionnel rectiligne. $f(x,t)$ est une fonction qui retrace cette température dans le matériau en fonction du point de mesure x au cours du temps t (cf figure (4.4)). L'équation aux dérivées partielles (4.11) (EDP) peut-être résolue de différentes manières. Si la

solution exacte et analytique existe dans ce cas très particulier, d'autres méthodes plus générales nous en donnent une approximation. Parmi elles, nous retrouvons les différences finies [92]. Cette approche discrétise le temps et l'espace, pour remplacer les dérivées par des différences. Dans notre cas, le temps t est substitué par des instants $\{t_n\}$ et l'espace x par un ensemble de points $\{x_i\}$. Les $\{t_n\}$ et les $\{x_i\}$ sont équi-répartis avec, pour longueur d'intervalle, $\triangle t$ et $\triangle x$. $\triangle x$ correspond donc à l'espace entre deux points, et, dans notre cas, à la taille d'un voxel dans une direction donnée. $\triangle t$ est un paramètre de la méthode. Le remplacement du calcul des dérivées s'effectue de la manière suivante :

$$\frac{\partial f}{\partial t}(x_i, t_n) \simeq \frac{f(x_i, t_{n+1}) - f(x_i, t_n)}{\triangle t} \tag{4.12}$$

$$\frac{\partial^2 f}{\partial x^2}(x_i, t_n) \simeq \frac{f(x_{i+1}, t_n) - 2f(x_i, t_n) + f(x_{i-1}, t_n)}{\triangle x^2} \tag{4.13}$$

Sous la condition $\frac{\triangle t}{\triangle x^2} < 2$, on peut montrer qu'en remplaçant ces expressions dans (4.11) on obtient un schéma consistant [1] de diffusion donné par

$$\frac{f(x_i, t_{n+1}) - f(x_i, t_n)}{\triangle t} = \frac{f(x_{i+1}, t_n) - 2f(x_i, t_n) + f(x_{i-1}, t_n)}{\triangle x^2}$$

$$\iff \qquad f(x_i, t_{n+1}) = f(x_i, t_n) + \frac{\triangle t}{\triangle x^2}(f(x_{i+1}, t_n) - 2f(x_i, t_n) + f(x_{i-1}, t_n)) \tag{4.14}$$

On note ensuite f_n, signal discret unidimensionnel tel que $f_n(i) = f(x_i, t_n)$. L'équation (4.14) se réécrit de la manière suivante :

$$f_{n+1}(i) = f_n(i) + \frac{\triangle t}{\triangle x^2}(f_n(i+1) - 2f_n(i) + f_n(i-1))$$

$$f_{n+1}(i) = \frac{\triangle t}{\triangle x^2}\left(f_n(i+1) + \left(\frac{\triangle x^2}{\triangle t} - 2\right) f_n(i) + f_n(i-1)\right)$$

$$f_{n+1} = f_n * \left[\frac{\triangle t}{\triangle x^2}, \frac{\triangle t}{\triangle x^2}\left(\frac{\triangle x^2}{\triangle t} - 2\right), \frac{\triangle t}{\triangle x^2}\right] \tag{4.15}$$

On pose ensuite $\triangle t = C$, paramètre de la méthode, et $r = \frac{\triangle x}{C}$ (la condition $\frac{\triangle t}{\triangle x^2} < 2$ devient une condition $r > 2$). On obtient :

$$f_{n+1} = f_n * \left[\frac{1}{r}, \frac{r-2}{r}, \frac{1}{r}\right]_{-1..1} \tag{4.16}$$

1. dont l'erreur par rapport à la solution théorique reste maîtrisée

Enfin, au pas de temps $t_n + 2$, nous obtenons :

$$\begin{aligned} f_{n+2} &= f_{n+1} * \left[\frac{1}{r}, \frac{r-2}{r}, \frac{1}{r}\right]_{-1..1} \\ &= f_n * \left[\frac{1}{r}, \frac{r-2}{r}, \frac{1}{r}\right]_{-1..1} * \left[\frac{1}{r}, \frac{r-2}{r}, \frac{1}{r}\right]_{-1..1} \\ &= f_n * \left[\frac{1}{r^2}, \frac{2r-4}{r^2}, \frac{r^2-4r+6}{r^2}, \frac{2r-4}{r^2}, \frac{1}{r^2}\right]_{-2..2} \end{aligned} \tag{4.17}$$

Une équivalence entre un processus de diffusion et un filtrage unidimensionnel dans toutes les directions a ainsi été mis en évidence. Nous constatons aussi que la spécification de r à 4 conduit à la définition du filtre binomial.

Le paramètre r de chaque filtre en x, y et z est évidemment différent si la taille du voxel diffère aussi. Ces paramètres, respectivement notés r_x, r_y et r_z, sont définis par :

— Les mensurations de la grille dans chacune des directions données, qui diffèrent entre elles.

— Une constante C, paramètre de la méthode commun à toutes les directions, qui doit vérifier la condition suivante :

$$\begin{aligned} \begin{cases} r_x > 2 \\ r_y > 2 \\ r_z > 2 \end{cases} &\Leftrightarrow \mathrm{MIN}(r_x, r_y, r_z) > 2 \\ &\Leftrightarrow \mathrm{MIN}\left(\frac{s_x^2}{C}, \frac{s_y^2}{C}, \frac{s_z^2}{C}\right) > 2 \\ &\Leftrightarrow C < \frac{1}{2}\mathrm{MIN}\left(s_x^2, s_y^2, s_z^2\right) \end{aligned}$$

Afin d'assurer une généralisation à la troisième dimension de la transformée proposée par [95, 97], le parti a été pris de fixer C de manière à ce que les filtres en x, y soient binomiaux [2]. Nous avons donc :

$$\left[\frac{1}{r_x^2}, \frac{2r_x-4}{r_x^2}, \frac{r_x^2-4r_x+6}{r_x^2}, \frac{2r_x-4}{r_x^2}, \frac{1}{r_x^2}\right]_{-2..2} = \left[\frac{1}{16}, \frac{1}{4}, \frac{3}{8}, \frac{1}{4}, \frac{1}{16}\right]_{-2\ ..\ 2} \Leftrightarrow r_x = 4$$

Ce qui nous amène à $C = \frac{1}{4}s_x^2$. La condition $C < \frac{1}{2}\mathrm{MIN}\left(s_x^2, s_y^2, s_z^2\right)$ est vérifiée car, comme énoncé auparavant, $s_z > s_x = s_y$. Les paramètres r de diffusion sont alors :

$$r_x = 4, \qquad r_y = 4, \qquad r_z = \frac{4s_z^2}{s_x^2} \tag{4.18}$$

2. ce qui est possible car $s_x = s_y$.

La généralisation du filtre binomial à une grille anisotrope nous amène donc à l'utilisation de 2 filtres unidimensionnels, un premier défini dans les directions x et y, un second appliqué à la direction z.

$$h_{xy}^{(0)} = \left[\frac{1}{16}, \frac{1}{4}, \frac{3}{8}, \frac{1}{4}, \frac{1}{16}\right]_{-2\,..\,2}, \quad h_z^{(0)} = \left[\frac{1}{r_z^2}, \frac{2r_z - 4}{r_z^2}, \frac{r_z^2 - 4r_z + 6}{r_z^2}, \frac{2r_z - 4}{r_z^2}, \frac{1}{r_z^2}\right]_{-2..2}.$$
$$r_z = \frac{4s_z^2}{s_x^2} \tag{4.19}$$

La suite de filtres $h^{(j)}$, comme défini précédemment, devient :

$$h_{xy}^{(j)}(i) = \begin{cases} h_{xy}^{(0)}(\frac{i}{2^j}) & \text{si } \frac{i}{2^j} \text{ est entier.} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \qquad h_z^{(j)}(i_z) = \begin{cases} h_z^{(0)}(\frac{i_z}{2^j}) & \text{si } \frac{i_z}{2^j} \text{ est entier.} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases}$$

$$h^{(j)}(i_x, i_y, i_z) = h_{xy}^{(j)}(i_x) h_{xy}^{(j)}(i_y) h_z^{(j)}(i_z) \tag{4.20}$$

4.3 Changement de l'algorithme d'optimisation

Une fois l'anisotropie de la grille introduite dans nos calculs, proposition est ici faite d'un schéma de résolution de (3.63), différent de celui proposé par [114]. Ce schéma, implémentation de la méthode d'optimisation introduite par Chambolle et Pock en [24] en 2010, présente deux avantages majeurs :

1. A aucun moment les opérateurs linéaires $\mathcal{R}$ et $\mathcal{W}$ ne doivent être inversés, ce qui aurait pu être coûteux en terme de temps de calcul.
2. Dans la pratique, la convergence de ce schéma reste bien meilleure que le HSD.

L'adaptation de l'algorithme à notre problème est donnée par (5) ; le détail des calculs effectué est donné en annexe. Cette méthode de résolution peut-être interprétée comme l'association d'une descente de gradient dans l'espace primal (qui correspond dans notre cas à dom($\mathcal{R}$), l'ensemble des représentations par IUWT) et d'une montée de gradient dans l'espace dual (l'espace des images dans notre cas).

En plus de l'image bruitée, des paramètres nécessaires au test d'hypothèse, et de ceux demandés par la transformée en ondelettes, cette procédure demande une valeur supplémentaire, r_s. Cette grandeur correspond au ratio entre le pas de la descente de gradient et le pas de la montée. Enfin, la donnée retournée est l'image débruitée.

Dans cette algorithme l'opérateur $\ominus$ peut soustraire deux transformées, voxel par voxel. La multiplication d'une image ou d'une transformée par un scalaire revient à multiplier l'ensemble de ses coefficients par cette même valeur. Le seuillage doux est défini

par :

$$(\mathrm{ST}_\tau(s))\,(\underline{i},j) = \max(|s(\underline{i},j)| - \tau, 0)\mathrm{sgn}(s(\underline{i},j)) \tag{4.21}$$

L'opérateur $\mathcal{P}_\mathcal{M}$ contraint son argument s à être égal à d pour tous les tuples $(\underline{i},j)$ in $\mathcal{M}_\alpha^{(J_m,J_M)}$:

$$(\mathcal{P}_\mathcal{M}(s))\,(\underline{i},j) = \begin{cases} (\mathcal{W}u)(\underline{i},j) & \text{si } (\underline{i},j) \in M_\alpha^{(J_m,J_M)} \\ s_j(\underline{i}) & \text{sinon.} \end{cases}$$

L'opérateur $\mathcal{P}_{\mathcal{O}^-}$ projette une image sur l'ensemble des images à coefficients négatifs :

$$(\mathcal{P}_{\mathcal{O}^-}(u))\,(\underline{i}) = \begin{cases} u(\underline{i},j) & \text{si } u(\underline{i}) \leq 0 \\ 0 & \text{sinon.} \end{cases}$$

Enfin, l'opérateur $\mathcal{R}^*$ est donné par la formule suivante :

$$(R^*u)_0 = u$$
$$(R^*u)_{j+1} = (R^*u)_j * h^{(j)}$$

Data: Image bruitée u. Paramètre de convergence r_s. Echelle minimale et maximale, J_m et J_M. Taux de faux positifs α
Result: Image débruitée $\tilde{u}$.
Construire $\mathcal{M}_\alpha^{(J_m,J_M)}$ comme défini dans (3.56) ;
$J \leftarrow J_M + 1$;
$\tau \leftarrow \sqrt{\frac{1}{r_s(J+1)^2}}$;
$\sigma \leftarrow \sqrt{\frac{r_s}{(J+1)^2}}$;
$u_0 \leftarrow u$;
$(s_0)_j\,(\underline{i}) \leftarrow 0$ pour tout $\underline{i}$ et j ;
$\overline{s}_0 \leftarrow s_0$;
repeat
  $u_{k+1} \leftarrow \mathcal{P}_{\mathcal{O}^-}(u_k \oplus \sigma\mathcal{R}\overline{s}_k)$;
  $s_{k+1} \leftarrow \mathcal{P}_\mathcal{M}\left(\mathrm{ST}_\tau(s_k \ominus \tau\mathcal{R}^*u_{k+1})\right)$;
  $\overline{s}_{k+1} \leftarrow 2s_{k+1} \ominus s_k$;
  $k \leftarrow k+1$;
until *convergence*;
$\tilde{u} \leftarrow \mathcal{R}s_\infty$;

Algorithm 5: Algorithme de Reconstruction de l'image débruitée

Chapitre 5

Protocole expérimental de validation

Une fois les différentes méthodes abordées dans l'Etat de l'Art analysées, l'exportation de la MSVST-IUWT à la troisième dimension a été proposée. Cette méthode, qui a déjà fait ses preuves en imagerie astronomique, devrait amener, nous l'espérons, des résultats similaires sur des images issues des microscopes deux-photons. Pour valider cette hypothèse, nous avons ainsi comparé cette méthode à trois autres, fondées sur la MSVST-IUWT, ainsi qu'à trois propositions de l'état de l'art en imagerie biologique : La variation totale, l'algorithme CANDLE, et l'approche PURE-let.

Il a été procédé ensuite à une quantification de la qualité des résultats par la mise en oeuvre de deux protocoles différents. Le premier proposait de travailler sur des images artificielles. Connaissant la vérité terrain, appelée aussi *gold standard* ou *ground truth*, il a été facile de mesurer la qualité du signal qui ressort de chaque algorithme. [1] Le second protocole planifiait une détection de centres directement après le débruitage. Cette procédure a été réalisée à partir de données artificielles et de données réelles validées par l'expert biologiste.

Les paramètres de chaque méthode comparée, dont la nôtre, ont été explorés ; les différentes sorties ont été filtrées, analysées, puis mises en forme de manière à pouvoir être interprétées.

5.1 Algorithmes comparés

Trois techniques, choisies parmi les plus récentes de l'état de l'art, ou encore référentes de nos jours, ont été utilisées pour une confrontation avec notre méthode. Les paramètres de deux des quatre méthodes testées ont été explorés dans un double but :

1. Une vérité terrain est une valeur théorique, supposée vraie, d'un signal ou d'une autre donnée que des algorithmes d'analyse d'image visent à reconstruire. Elle est utilisée pour en mesurer la performance. Dans notre cas il s'agit d'images sans bruit et de positions réelles de noyaux.

— comparer leur robustesse quant aux paramètres.
— comparer les meilleurs résultats possibles.

Les méthodes confrontées à la nôtre sont les suivantes :

— L'algorithme CANDLE [28], décrit en 3.3.2 : il est une variante de l'algorithme NLM, lui même décrit en 3.2.2. Cette méthode 3D prend en compte trois paramètres : un coefficient de diffusion β, un rayon de recherche s_r et une taille de patchs à comparer p_r. Les temps de calcul croissent de manière cubique avec les coefficients s_r et p_r.
— L'algorithme PURE [52] : il adapte la méthode SURE [10] au cas d'un bruit type MPG. Les deux paramètres pris en compte augmentent à la fois les temps de calcul et la qualité des résultats. Dans nos expériences, nous les avons réglés au maximum ; leur exploration n'est donc pas nécessaire.
— La variation totale : elle est décrite en 3.1.3 ; nous avons aussi utilisé la métrique de Poisson définie par (3.24). Le modèle (5.1) de cette méthode, programmée par nos soins, a été résolu à l'aide d'un algorithme Primal-Dual [24] :

$$\tilde{u}_{\mathrm{TV}} = \underset{\tilde{u}\in l_\infty(\mathcal{U})}{\operatorname{argmin}} \sum_{\underline{i}\in\mathcal{U}} (\tilde{u}_{\underline{i}} + u_{\underline{i}}\log(\tilde{u}_{\underline{i}})) + \lambda \mathrm{T.V.}(\tilde{u}) \tag{5.1}$$

avec l'opérateur T.V. défini par (3.10). La méthode globale de débruitage implique le réglage de deux paramètres :
  ◇ Le paramètre de régularisation λ
  ◇ Le ratio entre le pas de descente et le pas de montée de gradient du schéma de résolution.

Notre méthode a aussi été comparée à trois autres méthodes MSVST-IUWT que nous avons programmées pour valider l'intérêt de l'objet de cette thèse :

— la Méthode 2D qui utilise la seconde génération IUWT. Pour faciliter l'exploration des paramètres, cette méthode a pu être exécutée sur la grille européenne de calcul à l'aide d'une interface générique appelée OpenMole [83].
— L'algorithme MSVST-IUWT qui ne considère pas la propriété de la grille d'échantillonnage.
— Le débruitage 3D qui utilise la première génération IUWT. La prise en compte des dimensions voxeliques y a été incluse. Une solution analytique au problème (3.63) a été trouvée et ce, dans le but d'accélerer considérablement les temps de calcul. La démonstration de ce résultat est donnée en annexe.

5.2 Données traitées

5.2.1 Construction d'images étalon

Les images étalon, ou images artificielles, sont construites pour pouvoir mesurer une distance des images débruitées à l'image non bruitée, dès lors connue. Notre volonté a été ici de créer des images de noyaux cellulaires modélisés sous la forme d'ellipses, avec une orientation aléatoire. La taille de leurs trois axes principaux, bien que bornée, a, elle aussi, été aléatoire. Par souci de réalisme, nous avons ajouté un signal de fond, vecteur du marquage ectopique formé par les protéines mal localisées. La procédure de construction est la suivante :

— Conception d'un ensemble aléatoire de centres dans le cube défini par l'image. Ces centres, contraints par une distance minimale r_d deux à deux et par une distance maximale R_d autour du centre de l'image, se présentent sous la forme d'un ensemble de trois coordonnées x, y, et z.

— Pour chaque centre, création d'une ellipse dont l'orientation et les trois rayons sont aléatoires. Cependant, une contrainte ajoutée borne les ratios entre ces trois axes deux à deux, ce qui évite la création de formes trop aplaties ou trop allongées. Les bornes sont r_a et R_a.

— Pour plus de réalisme, création d'un bruit sur les contours des formes qui, en devenant moins lisses, perdent leur morphologie parfaitement elliptique.

— A chaque noyau d'indice n, association d'une intensité I, aléatoire, modèle de l'émission de lumière des protéines fluorescentes situées à l'intérieur. Si I est faible, le noyau sera presque invisible ; a contrario, une valeur forte augmentera la qualité du signal. Cette intensité est bornée par deux constantes I_M, et I_m, données par l'utilisateur.

— Une fois tous les noyaux cellulaires modélisés sur l'image, réalisation de deux convolutions par des gaussiennes de variances σ_1 et σ_2 [2] :

  ◇ Celle de σ_1, très faible, permet le lissage des contours de l'image, toujours dans un souci de réalisme. On obtient ainsi une image v_1

  ◇ Celle de σ_2, très forte, permet la création de la donnée qui sera utilisée comme signal de fond. On obtient ainsi une image v_2

  Une combinaison linéaire $u' = \alpha_1 v_1 \oplus \alpha_2 v_2$ de ces deux images nous donne l'image sans bruit. α_1 et α_2, sont aussi des paramètres.

2. génération de flou

— Production de l'image bruitée par

$$u = \mathcal{P}\left(\frac{u'}{S}\right) + \frac{b}{S} \tag{5.2}$$

Avec $b \sim \mathcal{N}(0, \sigma_b)$, et, comme derniers paramètres, S et σ_b. La variable S nous permet en réalité de simuler la qualité du système d'acquisition. Plus S est grand plus le rapport signal sur bruit est dégradé et plus il est difficile de retrouver le signal original.

Avec cette méthode, une image est générée en fixant manuellement les paramètres r_d, R_d, r_a, R_a, I_m, I_M, σ_1, σ_2, α_1, α_2 et σ_b, de façon à obtenir un résultat *visuellement réaliste*. Malheureusement, par manque de temps, le volet critère automatique de réalisme n'a pu être abordé, ce qui aurait évité le côté *arbitraire*, de la sélection des paramètres. Le paramètre S, quant à lui, a varié de 3 valeurs pour fournir trois images de qualité différente. Le résultat est donné dans la figure (5.1).

5.2.2 Jeux de données réelles

Nous avons pu aussi travailler sur des données réelles, pour lesquelles la position des noyaux a été validée manuellement. Ces jeux de données, acquis à l'aide d'un PMT classique, représentent différents animaux. Chaque image est référencée selon sa date de création, sous la forme AAMMJJ. Une lettre est collée à cette date pour donner un identifiant unique à l'image. Ainsi 080611b fait référence à un jeu de données acquis le 11 Juin 2008.

Trois embryons d'oursin

Trois jeux de données 3D+temps, qui retracent le développement d'embryons d'oursin au cours du temps, sont à notre disposition. Leur structure est relativement simple : des noyaux cellulaires, disposés de manière sphérique, forment une cavité. Pour chaque animal, il y a eu sélection d'un seul pas de temps, c'est-à-dire d'une seule image 3D de la vidéo, différente selon le jeu de données.

Ces jeux de données recèlent plusieurs difficultés :

— Le marquage ectopique est très présent.

— La distance faible, parfois nulle, entre les noyaux, eux-mêmes de structure potentiellement très fine, fait qu'un débruitage trop important de ce type d'image peut fausser la détection en provoquant une fusion des deux signaux nucléaires.

— Dans la plupart de ces jeux de données, une perte de signal est visible en profondeur, c'est à dire pour des i_z assez élevés. En général, l'information générée

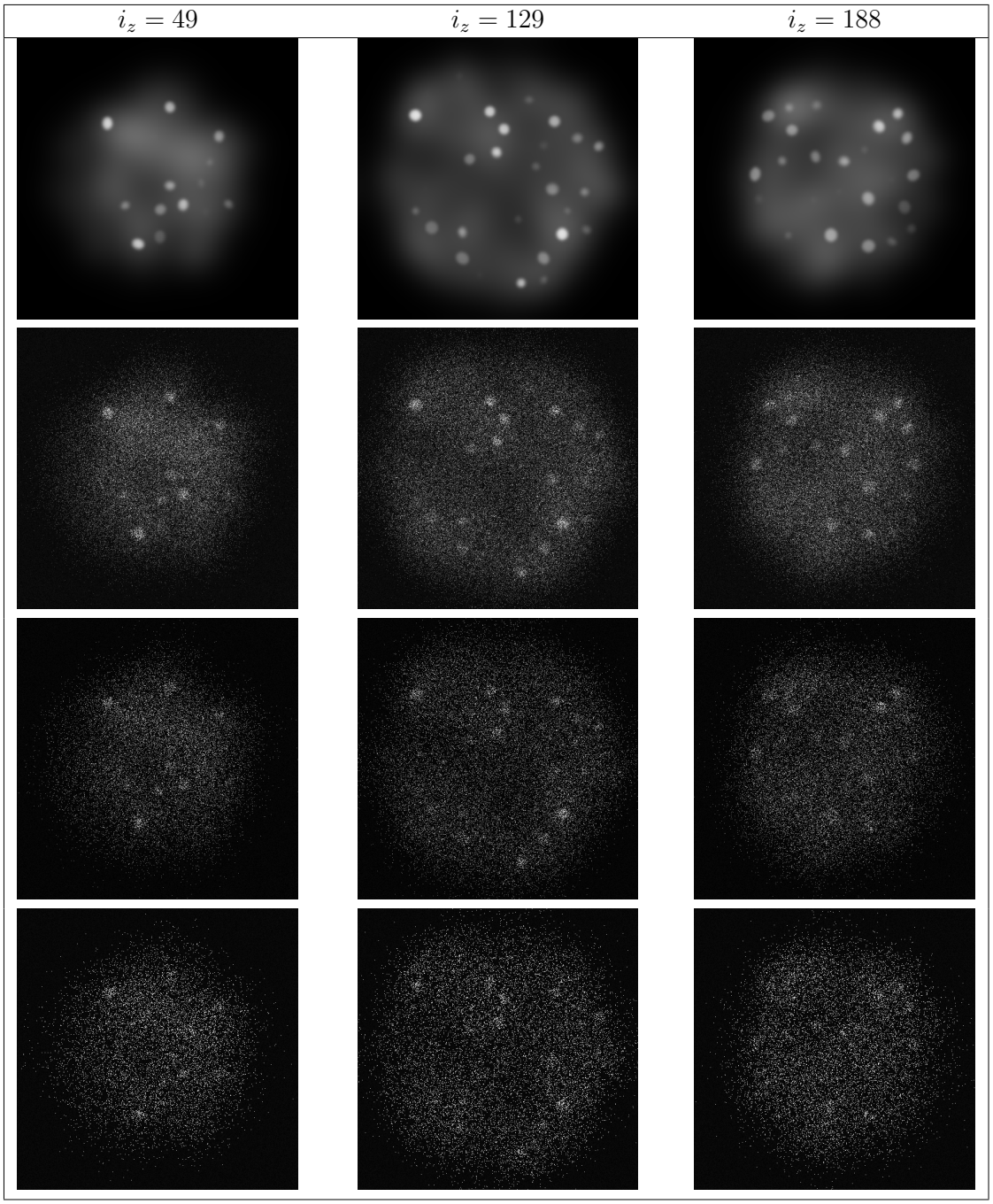
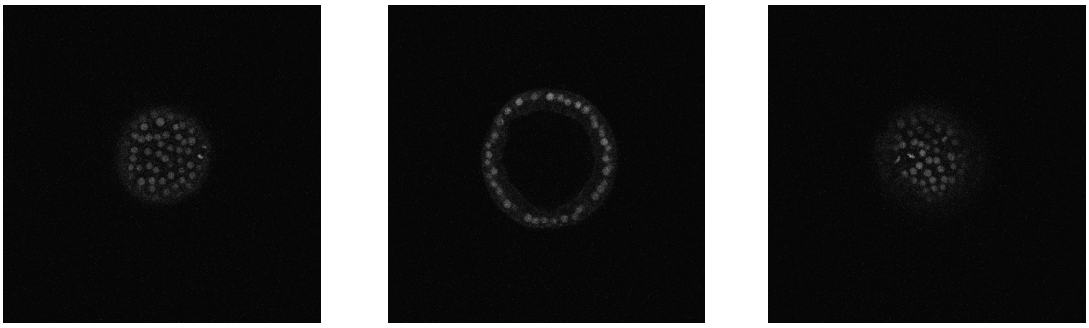
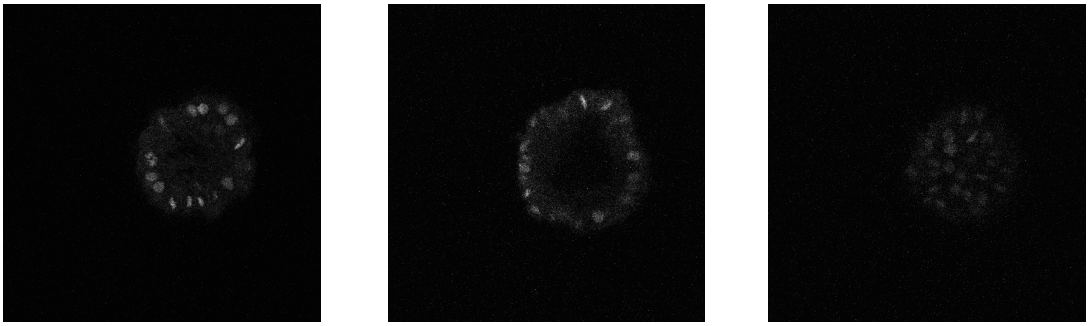


FIGURE 5.1 – Coupes 2-D du jeu de données artificielles à 4 niveaux de dégradation différents : image sans bruit, image de SNR = $3.49dB$, image de SNR = $2.68dB$, image de SNR = $2.45dB$.



$i_z = 18$ $i_z = 48$ $i_z = 71$

FIGURE 5.2 – Coupes 2-D du jeu de données 080611b imagées à 8h après fertilisation



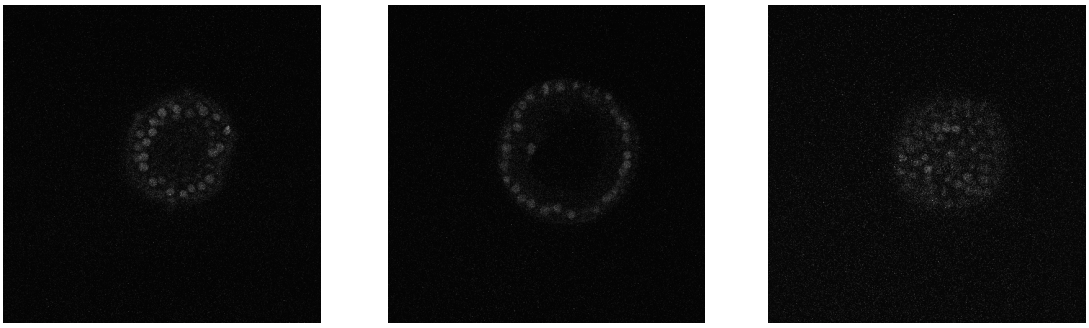
$i_z = 25$ $i_z = 59$ $i_z = 75$

FIGURE 5.3 – Coupes 2-D du jeu de données 070529a imagées à 5h29 après fertilisation

par ces noyaux prend une forme peu localisable par les algorithmes de détection disponibles dans l'état de l'art.

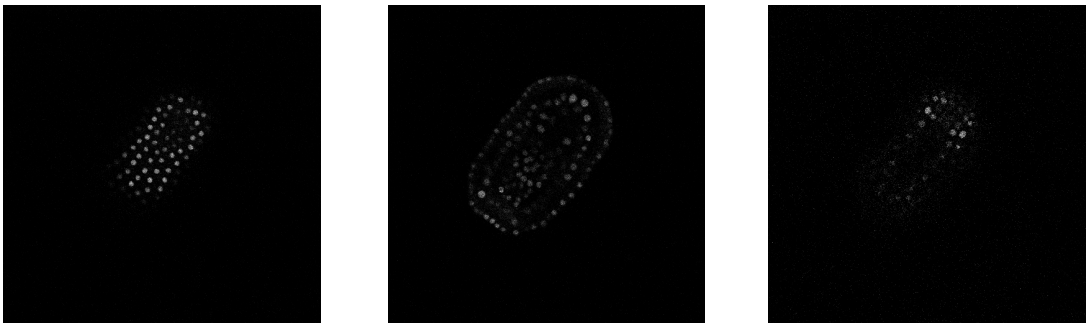
80611b (Auteur : Louise Duloquin, CNRS) L'image retirée du 080611b représente l'embryon à 8h de développement après la fertilisation de l'oeuf. Ce jeu de données présente une composante Gaussienne non négligeable, visible au travers du bruit de fond en l'absence de signal. A l'intérieur des tissus, certains noyaux ne sont pas exactement discernables et leur signal a tendance à se diffuser à l'intérieur de l'embryon. La taille de la grille est de 0.55μm x 0.55μm x 1.09μm. Des coupes 2D de cette image sont données par la figure (5.2).

070529a (Auteur : Louise Duloquin, CNRS) Les éléments relevés sur 070529a se distinguent de ceux du 080611b par des formes généralement plus grandes et potentiellement plus allongées. Malgré une moindre diffusion dans les tissus, le bruit de fond reste présent. La taille de la grille est de 0.48μm x 0.48μm x 0.96μm. Des coupes 2D de cette image, extraites d'une video 3D à 5h29 post fertilisation, apparaissent dans la figure (5.3).



$i_z = 22$ $i_z = 61$ $i_z = 80$

FIGURE 5.4 – Coupes 2-D du jeu de données 070604a imagées à 19h24 après fertilisation



$i_z = 16$ $i_z = 35$ $i_z = 84$

FIGURE 5.5 – Coupes 2-D du jeu de données 080528aF imagées à 7h18 après fertilisation

070604a (Auteur : Louise Duloquin, CNRS) La taille des noyaux du 070604a, imagés à 19h24 post fertilisation, se rapproche plus de celle des noyaux du 080611b. Le bruit de fond est supérieur à celui des deux images précédentes. La diffusion est importante en profondeur. La taille de la grille est de 0.48μm x 0.48μm x 0.96μm.

Un embryon d'ascidie : 080528aF (Auteur : Ingrid Colin, CNRS)

La vidéo 3D+temps 080528aF retrace le développement d'un embryon d'ascidie. Nous avons sélectionné un pas de temps à 7h18 post fertilisation.

Contrairement à ceux de l'oursin, ce jeu de données possède peu de bruit de fond ; le marquage ectopique, bien que présent, est aussi inférieur. La qualité du signal dans les coupes supérieures (autour du $i_z = 0$) est très bonne et les noyaux sont très visibles. En revanche, plus on descend en profondeur moins le signal devient perceptible, pour arriver à une totale invisibilité des objets. La taille de la grille est de 0.75μm x 0.75μm x 1.51μm.

Des coupes 2D de cette image sont données dans la figure (5.5).

5.3 Protocole de comparaison

5.3.1 Distance de l'image débruitée par rapport à l'image non bruitée

Mesure de Distance : log–SNR

Avant d'évaluer la qualité d'un signal débruité par rapport au signal originel, il est nécessaire d'établir une mesure de comparaison. Cette mesure, communément admise dans la littérature, se définit comme une distance entre l'image débruitée et l'image de référence. Elle est appelée *rapport signal-sur-bruit* (SNR, pour *Signal-to-Noise-Ratio*). Nous prendrons plutôt dans ce cas le log-Rapport-Signal/Bruit (log-SNR), quantité qui se définit de la façon suivante :

$$\log - \mathrm{SNR}_{dB}(\tilde{u}) = -10 \log_{10} \left(\frac{\|\tilde{u} \ominus u^*\|_2}{\|u^*\|_2} \right) \tag{5.3}$$

avec

$$\|\tilde{u} \ominus u^*\|_2 = \sqrt{\sum_{\underline{i}} \left(\tilde{u}(\underline{i}) - u^*(\underline{i})\right)^2} \tag{5.4}$$

$$\|u^*(\underline{i})\|_2 = \sqrt{\sum_{\underline{i}} \left(u^*(\underline{i})\right)^2} \tag{5.5}$$

En réalité, pour des raisons de remise à l'échelle des images lors de leur enregistrement, la véritable quantité calculée est :

$$\log - \mathrm{SNR}_{dB}(\tilde{u}) = -10 \log_{10} \left(\min_{\alpha_1, \alpha 2} \left(\frac{\|(\alpha_1 \tilde{u} + \alpha_2) \ominus u^*\|_2}{\|u^*\|_2} \right) \right). \tag{5.6}$$

Dans ce cas, la multiplication d'une image par un scalaire correspond à la multiplication de chacune de ses intensités par cette même valeur. Parallèlement, l'addition d'une image et d'un scalaire correspond à l'addition de toutes ses intensités à cette valeur. Le calcul du min correspond à un recalage affine des intensités de l'image débruitée par rapport à celles de l'image originale. Le $\hat{\alpha}_1$ et $\hat{\alpha}_2$ qui assurent le minimum sont donnés par :

$$\begin{aligned} \hat{\alpha}_1 &= \frac{N\langle \tilde{u}, u^* \rangle - \tau_1(\tilde{u})\tau_1(u^*)}{N\tau_2(\tilde{u}) - \tau_1(\tilde{u})^2} \\ \hat{\alpha}_2 &= \frac{\tau_2(\tilde{u})\tau_1(u^*) - \tau_1(\tilde{u})\langle \tilde{u}, u^* \rangle}{N\tau_2(\tilde{u}) - \tau_1(\tilde{u})^2} \end{aligned} \tag{5.7}$$

Les quantités présentes dans ces deux équations sont définies de la manière suivante :

— $\tau_1(\tilde{u}) = \sum_{\underline{i}} (\tilde{u}(\underline{i}))$ et $\tau_2(\tilde{u}) = \sum_{\underline{i}} (\tilde{u}(\underline{i}))^2$
— $\tau_1(u^*) = \sum_{\underline{i}} (u^*(\underline{i}))$ et $\tau_2(u^*) = \sum_{\underline{i}} (u^*(\underline{i}))^2$
— N est le nombre de voxels de l'image
— $\langle \tilde{u}, u^* \rangle = \sum_{\underline{i}} (\tilde{u}(\underline{i}) u^*(\underline{i}))$

le log-SNR devient donc

$$\log - \mathrm{SNR}_{dB}(\tilde{u}) = -10 \log_{10} \left(\frac{\|\hat{\alpha}_1 \tilde{u} + \hat{\alpha}_2 - u^*\|_2}{\|u^*\|_2} \right) \tag{5.8}$$

Pour pouvoir estimer cette mesure, il est évidemment nécessaire de connaître la donnée de référence, ce qui n'est possible que dans le cas d'images artificielles. Les résultats présentés ci-après ne seront donc donnés que pour les images de la figure (5.1).

Une exploration de paramètres a été réalisée pour l'application de chaque méthode décrite en 5.1 et ce, sur chaque image détaillée dans la partie 5.2.1. Pour chaque algorithme, les meilleurs SNRs de tous les résultats de ces exécutions ont été tracés sur la figure (5.7).

5.3.2 Application d'une détection de centre a posteriori

Il est important d'insister sur l'utilité de notre méthode pour un biologiste. Dans ce contexte, deux points sont essentiels : le test sur des données réelles, et une mesure de validation plus significative que le SNR. Comme énoncé dans l'introduction, l'intérêt des méthodes de débruitage réside avant tout dans l'amélioration des algorithmes de mesure (détection, segmentation, tracking). Pour cette raison, décision a été prise d'appliquer un algorithme de détection de noyau à la sortie de chaque algorithme.

Comme tous les jeux de données traités ont été soit validés à la main par un expert lorsqu'ils étaient issus d'un microcoscope, soit créés artificiellement, nous pouvons comparer facilement les taux de faux positifs et faux négatifs engendrés par l'association de l'algorithme de détection avec les différentes méthodes de débruitage.

La méthode de détection prise en compte se nomme Différence de Gaussiennes (DOG [41, 22], pour Difference Of Gaussian). Elle utilise trois paramètres :

— Un seuil de validation
— Une borne inférieure de taille sur les objets.
— Une borne supérieure de taille sur les objets.

Une double exploration de paramètres a été réalisée : une première sur l'algorithme de débruitage, une seconde sur celui de détection.

Cette double exploration a engendré, pour chaque association algorithme de débruitage/algorithme de détection, plusieurs milliers de jeux de centres calculés différents. Pour chaque jeu de paramètres, nous avons mesuré la production des taux de faux positifs, de vrais positifs et enfin de faux négatifs. Chaque mesure a été réalisée avec une tolérance par rapport à la position détectée qui allait de 5 à 10 voxels, selon le jeu de données.

Pour mesurer la qualité d'un algorithme détection, il est d'usage en apprentissage artificiel, d'établir la *courbe fonction d'efficacité du récepteur* (courbe ROC pour Receiver Operating Characteristic). Cet outil d'évaluation n'est pertinent que, si la méthode à tester ne comprend qu'un seul paramètre. Dans notre cas, l'association méthode de débruitage/ méthode de détection possède entre 3 et 7 paramètres (7 pour la MSVST-IUWT). La courbe ROC n'est donc pas utilisable. Une alternative est proposée.

Pour chaque association algorithme de débruitage/jeux de données, a été dessiné un graphe dont chaque point, d'abscisse un taux de faux négatifs et d'ordonnée un taux de vrais positifs, formalise la qualité d'une détection. L'ensemble des graphes ainsi représentés sont des nuages de points qui montrent la qualité de l'association entre un algorithme de débruitage et la détection de centre DOG.

Pour interpréter cette qualité, nous nous sommes intéressés aux "meilleurs résultats" représentés par tous ces points. La qualité d'un résultat augmente en réalité quand :

— le taux de faux négatifs est bas
— le taux de vrais positifs est haut.

Trouver le meilleur compromis entre ces deux critéres n'est pas pertinent si l'on souhaite comparer nos méthodes : il n'y a, a priori, aucune raison de privilégier l'un par rapport à l'autre. Ce problème se place donc dans un contexte d'optimisation *multi-critères* dans lequel les solutions recherchées ne vérifient pas un coût minimal, mais réalise sans compromis l'optimisation d'un critère au milieu d'autres. Chaque optimum de ce nouveau problème est en réalité la minimisation d'un critère, sachant que tous les autres sont fixés.

L'ensemble de ces nouveaux points optimaux est alors appelé *front de Pareto* [75, 94].

Pour obtenir le front de Pareto de chaque nuage de points, la procédure suivante a été réalisée :

— Chaque point qui connaît au moins un autre point d'abscisse strictement inférieure et d'ordonnée supérieure est supprimé.
— Chaque point qui connaît au moins un autre point d'abscisse inférieure et d'ordonnée strictement supérieure est supprimé.

Une fois tous les points du front de pareto calculés, une courbe passant par tous ces points est dessinée. Dans le cas de notre méthode, la figure (5.6), montre le graphe de

détection généré pour tous les jeux de données réels avec leur front de pareto.

Sur ces graphes, chaque point peut prendre 4 couleurs différentes, vert, bleu, noir, et rouge. Chaque couleur nous indique si nous avons atteint les bords de l'exploration de paramètres, i.e. si la détection est associée à une valeur extrémale :

— Si le point est noir, aucune valeur extrémale n'est atteinte.
— Si le point est rouge, au moins une valeur extrémale a été atteinte sur les paramètres de débruitage
— Si le point est vert, c'est, cette fois-ci, l'exploration de paramètres sur l'algorithme de détection qui a atteint un bord.
— Si le point est bleu, nous nous trouvons à la fois dans les deux cas précédents.

Cette labellisation des points nous a permis de vérifier si l'exploration de paramètres était complète, c'est à dire si l'ensemble des points qui déterminent notre front de pareto ne se situe pas au niveau d'un bord. Dans le cas contraire, cela voudrait dire que le front calculé n'est pas optimal et que l'exploration doit être élargie. En revanche cette dernière n'est pas poursuivie, si la variation du paramètre au bord lui fait perdre son sens géométrique. Cela a été le cas de la taille minimale des noyaux à détecter par DOG, à ce moment-là de valeur 0.2 voxels.

Sur chacun de ces graphes, la courbe rouge nous donne la valeur du front de Pareto calculé. Cette courbe rejoint l'axe de abscisse et des ordonnées par projection de ses deux points limites. L'incertitude sur l'exploration de paramètres ainsi traduite minore la performance maximale de chaque algorithme. En effet, nous savons que, quelque soit le point non calculé de notre front de pareto, il aura a minima une abscisse inférieure ou une ordonnée supérieure à celle de tous les points déjà déterminés.

Dans cette analyse, nous ne nous sommes pas intéressés à tous les points du front de pareto : seuls ceux "utiles" ont attiré notre attention. Un point n'est utile que si le résultat qui lui est associé peut intéresser un biologiste. Autrement dit, les points en forte sur-détection (taux de faux négatifs et taux de vrais positifs très bas), ou en forte sous-détection (taux de vrais positifs et de faux négatifs très hauts) ont été ignorés : seule la partie "supérieure gauche" de la courbe a été étudiée.

Malgré cette restriction, nous n'avons pas cherché de compromis optimal entre vrais positifs et faux négatifs. En effet, ce compromis dépend avant tout de l'expert biologiste correcteur des données. Si certains privilégient une sur-détection dans laquelle les "mauvais" centres sont corrigés, d'autres, au contraire, préfèreront rajouter tous les centres manqués par une méthode très sélective.

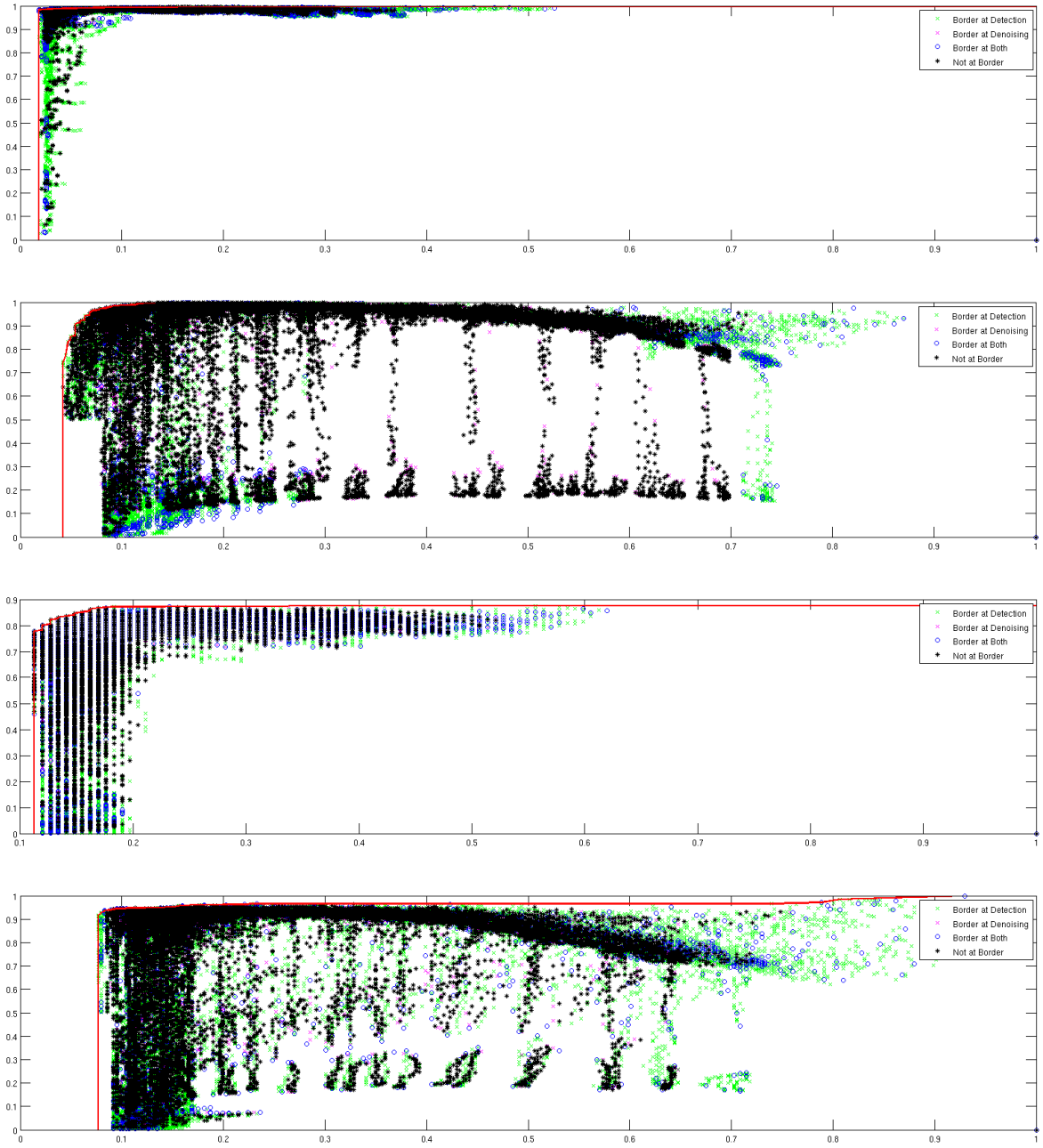


FIGURE 5.6 – Mesure de qualité de l'ensemble des détections réalisées par l'algorithme DOG suite au débruitage par MSVST-IUWT seconde génération. Un point a pour abscisse le nombre faux négatifs et en ordonnée le nombre de vrais positifs associés à un jeu de paramètres donnés. La courbe rouge montre le front de Pareto de la méthode.

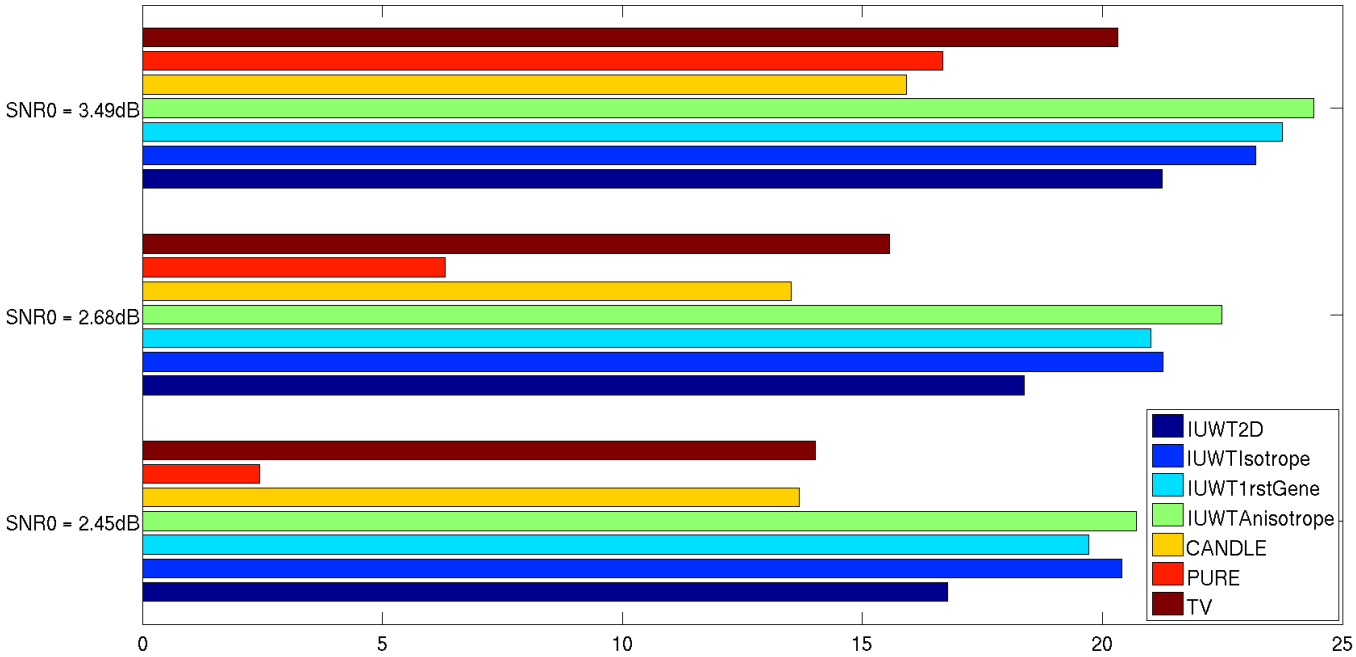


FIGURE 5.7 – Meilleurs SNRs pourvus par les différentes méthodes comparées, pour chacune des trois images artificielles avec différents niveaux de dégradation. L'IUWT isotrope ne prend pas en compte les dimensions de la grille. L'IUWT anisotrope, au contraire, dépend de cette caractéristique physique. IUWT1rstGene désigne L'IUWT 1ère génération. TV est l'acronyme anglais de la variation totale

5.4 Résultats obtenus

5.4.1 SNR des images débruitées

A chaque image artificielle, a été appliqué un algorithme de debruitage ; le SNR, défini par (5.8), a ensuite été mesuré. Les résultats obtenus sont donnés dans les figures (5.7) et (5.8) :

— Le premier graphe confronte notre méthode à la Variation Totale, l'algorithme PURE et enfin CANDLE. Pour chacune des méthodes analysées, nous montrons le meilleur SNR extrait de l'exploration de paramètres.

— Le second graphe compare toutes les techniques fondées sur la MSVST-IUWT. L'exploration de toutes ces méthodes a été réalisée sur les quantités α et J_m, le dernier paramètre J_M étant fixé à $\lceil \log_2(n_z) \rceil$ [3] ($\lceil \bullet \rceil$ désigne l'arrondi à l'entier supérieur). Le graphe du log–SNR en fontion du paramètre α est alors donné sur la figure (5.8).

3. n_z correspond à la taille de l'image en z. Il est aussi, dans notre cas, la plus petite des tailles dans les trois directions.

Il est intéressant de noter la supériorité des méthodes IUWT sur les trois autres. Même la méthode IUWT2D offre de meilleurs résultats que CANDLE ou la Variation Totale qui, elles, utilisent la 3D. Si on compare les quatre méthodes IUWT, il apparaît, comme attendu, que la MSVST-IUWT Anisotrope, i.e. qui considère l'Anisotropie de la grille, donne de meilleurs résultats que les trois autres. La MSVST-IUWT première génération et la MSVST-IUWT Isotrope, renvoie des SNRs à peu près similaires. Evidemment, la MSVST-IUWT 2D, qui n'utilise pas la redondance d'information liée à la troisième dimension, est beaucoup moins perfomante que les trois précédentes.

Sur la figure (5.8), par l'analyse des trois méthodes qui reposent sur la théorie de la MSVST-IUWT et ce, en fonction des paramètres de filtrage, plusieurs points peuvent être notés :

— Il est intéressant de voir que, à fort taux de filtrage (α très petit), la prise en compte de la grille d'échantillonnage importe peu.
— Quand toutes les échelles sont prises en compte, il semblerait que l'IUWT première génération domine toutes les autres méthodes, quelque soit le paramètre α.
— Quand le taux de filtrage est élevé, il semblerait que chacune des méthodes reproduise le même SNR, ce qui peut être expliqué par une forte robustesse du bruit sur les échelles les plus grossières. Cette hypothèse, en évitant le process des grandes échelles, ouvre alors une nouvelle perspective d'économie de temps de calcul.
— L'IUWT, première génération semble être la méthode la plus robuste en fonction des paramètres α et J_m.
— Pour α très faible, c'est, encore une fois, la MSVST-IUWT première génération prend le pas sur les autres.
— En revanche, une fois les paramètres J_m et α bien réglés, il semblerait que l'IUWT seconde génération soit plus performante.
— La méthode 2D reste, dans tous les cas, largement inférieure aux trois autres.
— Plus le paramètre J_m s'accorde à la véritable taille des objets de l'image [4], plus la variabilité entre les résultats proposés par les différentes méthodes s'accroît.
— Quand le paramètre d'échelle est mal réglé, il est possible que l'IUWT isotrope donne de meilleurs résultats que l'IUWT anisotrope.

5.4.2 Détection de centres

Les différents résultats des détections de centres, appliquées à chaque image, artificielle ou réelle, utilisée, sont comparés par le biais d'un graphe représenté par la figure (5.9), pour les images réelles et par la figure (5.10), pour les images artificielles. Ces figures font

4. ce qui s'observe par l'augmentation du SNR global des méthodes

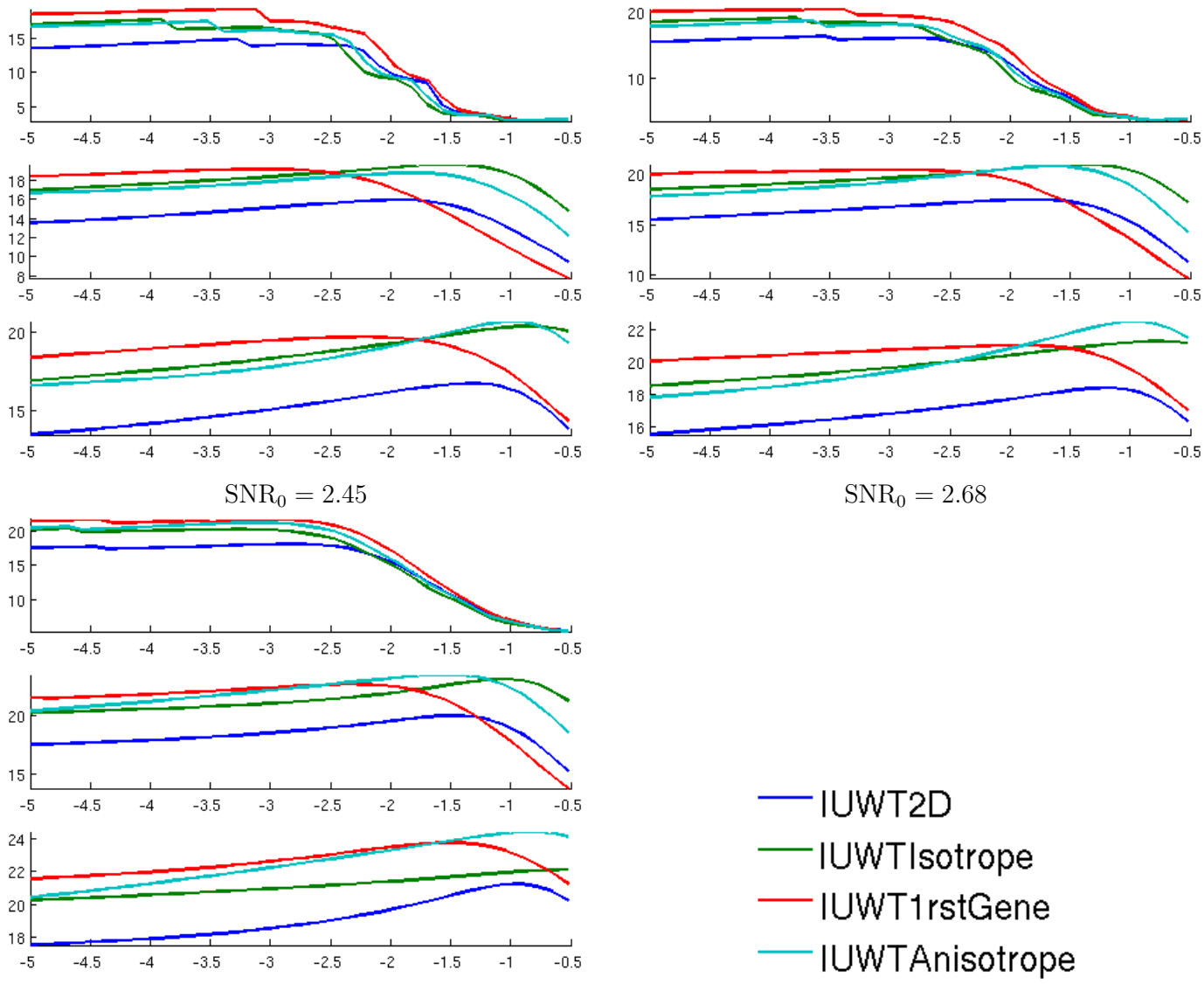


FIGURE 5.8 – Evolution du SNR de la sortie de chaque algorithme IUWT en fonction du paramètre $\log_{10}(\alpha)$. Trois figures, une pour chaque image artificielle. Sur chaque figure, 3 graphes, un pour chaque paramètre J_m, de haut en bas, $J_m = 0$, $J_m = 1$, $J_m = 2$. SNR$_0$, désigne le SNR de l'image bruité originale.

apparaître l'ensemble des fronts de Pareto calculés pour chaque algorithme appliqué à une image donnée.

Jeux de données réelles

Bien que ce front ne soit pas complet, la comparaison pratique des méthodes reste possible. En réalité, un biologiste ne s'intéressera pas aux extrémités du front, mais cherchera un compromis, selon son appréciation, entre faux négatifs et faux positifs. Ce compromis, inhérent à l'utilisateur de la méthode mais aussi à son application, est représenté en général dans la partie centrale de la courbe de ce front.

Il peut être utile de préciser quelques points :

— Plus une courbe est proche de l'axe des ordonnées, moins la méthode a tendance à créer de faux négatifs.

— Une courbe proche de la droite qui, parallèle à l'axe des abscisses, passe par le point (0,1), montre que la méthode a moins tendance à générer de faux positifs.

De manière très surprenante, sur deux des quatre figures observées, l'IUWT seconde génération montre de bien meilleurs résultats que toutes les autres méthodes comparées. Pour les deux autres jeux de données, sa performance dépasse même celle de l'IUWT qui ne prend pas en compte les dimensions de la grille et produit des résultats similaire à l'IUWT première génération.

Une fois l'IUWT 2D mise de côté, il apparaît que l'IUWT deuxième génération, qui prend en compte les dimensions de la grille, apporte un gain significatif en terme de faux négatifs. Ses résultats entrent en concurrence avec ceux de l'IUWT 1-ère génération, elle aussi construite en fonction des dimensions de la grille.

Le jeu de données 080528aF se distingue des 3 autres par la qualité du signal qu'il émet, ce qui entraîne deux conséquences sur la détection :

— Une moindre évidence de la différence entre les algorithmes comparés.

— Par la Variation Totale, apport d'un meilleur compromis entre faux positifs et faux négatifs que par toutes les méthodes fondées sur l'IUWT.

Toujours dans le cas où l'IUWT 2D est mise de côté, 070529a, 080611b et 070604a affichent la supériorité des deux algorithmes IUWT qui prennent en compte la dimension de la grille. Cette supériorité peut disparaître lorsque l'on sort de la zone d'analyse du front de Pareto. Cet aspect peut être observé, en régime de sous-détection (taux de vrais positifs proche de 1), avec le jeu de données 070529a . Le taux d'erreur sous-jacent pourrait trouver son explication dans la forme des noyaux cellulaires, possiblement très allongés (cf figure (5.3)). Ces noyaux, qui annoncent une mitose imminente, perdent leur caractéristique d'isotropie. Notre a-priori de débruitage peut alors s'en retrouver affaibli.

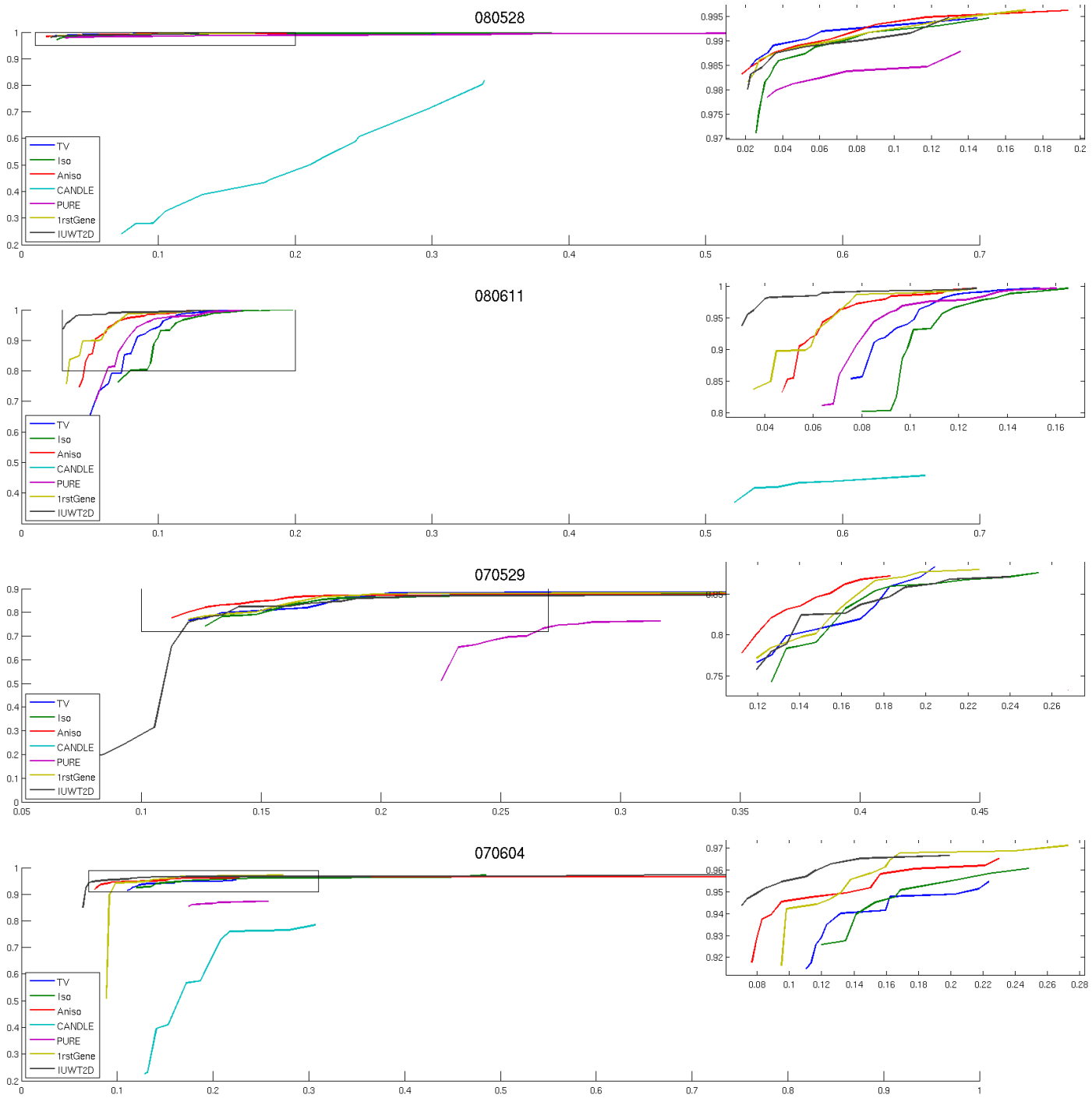
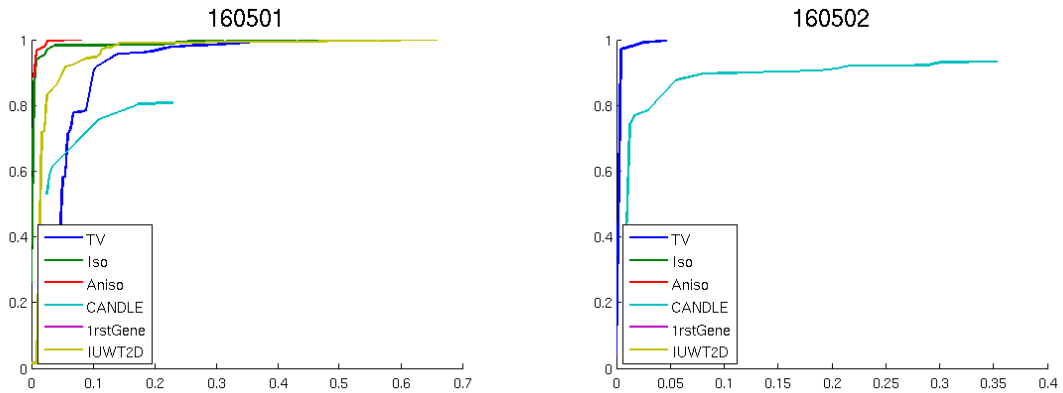


FIGURE 5.9 – Ensemble des fronts de Pareto calculés pour chaque algorithme de débruitage appliqué à une image donnée avant détection de centres. Résultats issus de données réelles



$\mathrm{SNR}_0 = 2.45dB$ $\mathrm{SNR}_0 = 2.68dB$

FIGURE 5.10 – Ensemble des fronts de Pareto calculés pour chaque algorithme de débruitage appliqué à une image artificielle donnée avant détection de centres. Résultats issus de données réelles

D'une manière générale, l'IUWT qui ne tient pas compte des propriétés de la grille donne des résultats assez proches de ceux liés à la Variation Totale.

Par ailleurs, les deux méthodes restantes, PURE ET CANDLE, produisent des résultats en deçà de ceux de la Variation Totale et des méthodes IUWT. La mauvaise qualité des images produites par CANDLE peut être nuancée par la discrétisation sur quatre bits, au lieu de 8, au moment de leur enregistrement par le logiciel fourni sous MATLAB par les auteurs.

Dans le cas de la méthode PURE, les deux paramètres réglés avant la détection ont été choisis à leur valeur maximale, de manière à obtenir une qualité des résultats optimale. Cependant, l'interface graphique de la méthode proposée dans le logiciel ImageJ [88] borne ce paramètre, qui, théoriquement, pourrait être plus grand.

Jeux de données artificielles

Le protocole de validation fondé sur les résultats de détection de données réelles a été transposé sur les images artificielles. Le résultat est donné dans la figure (5.10). En raison d'une exploration de paramètres différente, la méthode PURE n'a pas été analysée. Sur la figure, les fronts de Pareto non représentés ont été réduits au point d'abscisse 0 et d'ordonnée 1. Ce front optimal indique qu'il existe un jeu de paramètres de détection et un de débruitage pour lesquels aucune erreur n'a eu lieu dans la reconnaissance des noyaux.

De la même manière que pour le calcul du SNR, les méthodes qui reposent sur la théorie de la MSVST-IUWT donnent de meilleurs résultats que les autres. Il est très

intéressant de noter que la MSVST-IUWT première génération se soit démarquée par un front optimal de Pareto atteint pour l'image la plus déteriorée. Elle donne par là de meilleurs résultats que la seconde génération, à l'origine construite pour être plus robuste.

5.4.3 Validation de l'intérêt du débruitage

Comme supposé dans l'introduction, l'intérêt du débruitage réside avant tout dans l'amélioration des résultats issus des algorithmes de détection, de segmentation ou de suivi automatique des cellules au cours du temps. Pour chaque jeu de données, réel ou artificiel, nous avons comparé deux détections différentes :

— la première sur données brutes, sans appliquer d'algorithme de restauration sur l'image.

— la seconde sur données débruitées à l'aide de la MSVST-IUWT seconde génération avec prise en compte des dimensions de la grille d'échantillonnage.

Comme lors des comparaisons précédentes, une exploration des paramètres, cette fois-ci fixée [5], a été réalisée. A l'identique de la comparaison des différentes associations algorithme de détection/algorithme de débruitage, supposition a été faite qu'un noyau détecté ne pouvait être correct que s'il se situait dans un rayon de 5 pixels autour d'un centre validé. Les résultats, donnés dans la figure (5.11), montrent qu'un algorithme de détection appliqué à des données brutes est plus efficace qu'un algorithme de détection appliqué à des données traitées. Cette conclusion, apparemment surprenante, peut être erronée dans la mesure où la vérité terrain relève d'une correction manuelle de la détection réalisée à partir des données brutes. Même si les faux positifs et les faux négatifs engendrés sont corrigés, un delta sur la position réelle du noyau est souvent laissé en l'état. La tolérance de 5 voxels d'écart au moment de la validation des centres peut être insuffisante pour compenser cette erreur.

Afin de confirmer notre propos, nous avons augmenté le seuil de tolérance à 10 pour le 070529a et à 8 pour les trois autres jeux. Les graphes de la figure (5.11) ont du être redessinés. Le résultat apparaît dans la figure (5.12) dans laquelle la supériorité des résultats de détection de données débruitées est observable. En conséquence, au vu de cette expérience, la méthode de comparaison des différents algorithmes doit être remise en question, et ce en considérant deux cas :

— Cas où la tolérance est de faible valeur. Le résultat de la comparaison des différents algorithmes pour la détection de centres est alors biaisé par la vérité terrain.

5. i.e. aucun affinage n'a été réalisé pour s'assurer qu'aucun "bord" de l'exploration se situait sur le front de Pareto.

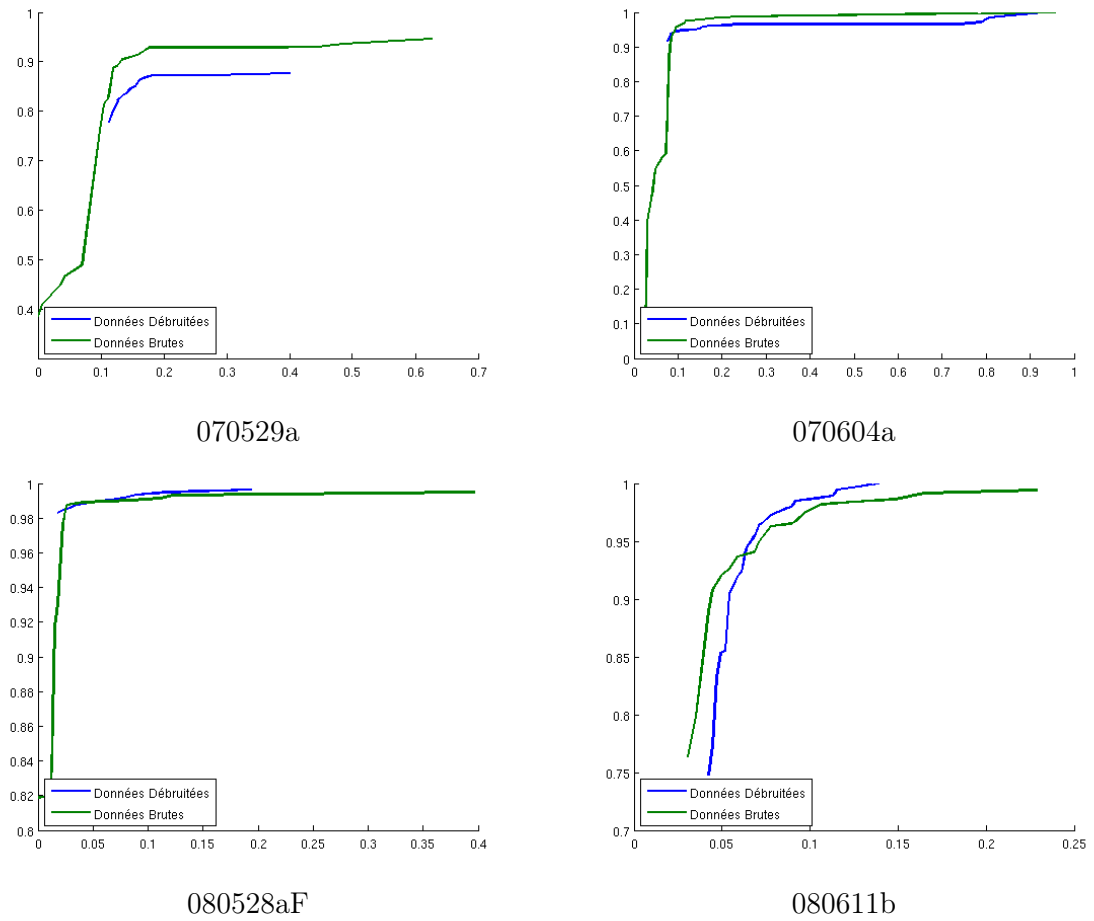


FIGURE 5.11 – Qualité des résultats de détections appliquées à des données brutes et à des données débruitées. Validation réalisée avec une tolérance de 5 pixels

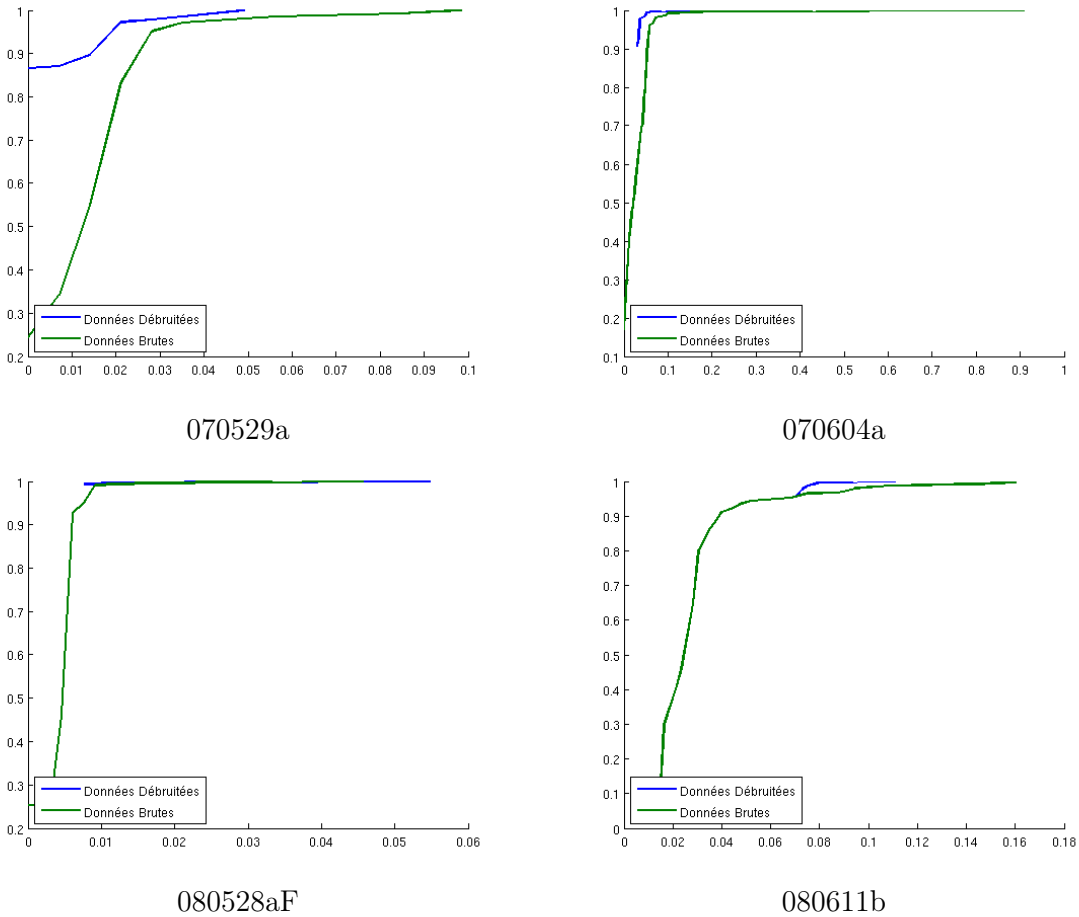


FIGURE 5.12 – Qualité des résultats de détections appliquées à des données brutes et à des données débruitées. Validation réalisée avec une tolérance de 8 à 10 pixels.

— Cas où la tolérance est forte. Elle peut alors depasser la distance minimale entre cellules. Ainsi, un centre détecté pourra être associé à deux centres réels à la fois ; le calcul des vrais positifs ou faux négatifs s'en trouvera erroné.

5.5 Conclusion et interprétation des résultats

Deux outils de comparaison différents ont été utilisés pour valider nos méthodes. Le premier, le plus répandu dans l'état de l'art, correspond à la comparaison des rapports signal sur bruit calculés sur chacun des résultats. Le second applique une détection de centres après le débruitage de l'image et en mesure le taux de vrais positifs et le taux de faux négatifs. L'imprécision des vérités terrain et l'ambigüité dans la validation des centres rendent en revanche cette méthode discutable.

5.5.1 Confrontation des différents algorithmes

Certains résultats de détection renvoyés par l'IUWT2D sont surprenants. Cependant, une fois l'expérience de la partie (5.4.3) réalisée, ce côté inattendu peut trouver son explication dans l'imprécision du positionnement des centres de comparaison. Dès lors cette méthode sera écartée pour l'analyse. Toutes les conclusions tirées des détections seront elles aussi à modérer par l'imprécision de la vérité terrain. En revanche, pour les données artificielles, les centres détectés ne montrent pas d'aléas. Toutefois, le fait que, contrairement aux données réelles, ils respectent rigoureusement les apriori sur la statistique du bruit est à prendre en considération. Ces images ont donné des résultats attendus, sauf pour l'IUWT première génération qui, dans la détection des centres, donne étonnamment de meilleurs résultats que son homologue seconde génération.

Apparemment, qu'il s'agisse des données réelles ou artificielles, il semblerait que les méthodes IUWT donnent de meilleurs résultats que les méthodes référentes de l'état de l'art auxquelles nous les avons comparées. Cette affirmation peut tout de même être nuancée sur deux points :

- ◇ Les méthodes de comparaison choisies doivent s'exécuter en un laps de temps relativement raisonnable (environ 10mn par image sur un cluster de 40 cœurs).
- ◇ Les paramètres optimaux d'une des trois méthodes ont été choisi parmi une plage limitée par son interface d'utilisation.

L'utilisation d'apriori sur les formes, évoquée dans l'introduction, apparaît donc comme non négligeable. Bien sûr, cet avantage n'a cours que dans le débruitage de noyaux cellulaires et il paraît clair que, dans un autre contexte, les résultats ne seraient pas tout à

fait les mêmes, la MSVST-IUWT ayant été créée pour débruiter et détecter avant tout les formes isotropes.

La comparaison des deux générations IUWT amène à deux considérations :

— La première génération offre le meilleur compromis entre temps de calcul, robustesse face aux paramètres [6], et qualité des résultats. Elle peut aussi donner de meilleurs résultats dans la détection, même si ce propos doit être vérifier sur des données réelles, par rapport à des vérités terrains précises.

— En termes de performance brute et de qualité absolue des résultats sur le SNR, l'IUWT seconde génération serait en tête.

5.5.2 Différences entre données artificielles et données réelles

Les images artificielles, mêmes plus dégradées [7] que les images réelles, renvoient des résultats nettement supérieurs. Pour ce qui nous concerne, trois hypothèses peuvent expliquer cette différence :

— L'imprécision des vérités terrain concernant les données réelles.

— L'inexactitude du modèle de bruit MPG de la méthode. Si les images artificielles vérifient rigoureusement cette hypothèse, ce n'est pas le cas des images réelles, et ce pour deux raisons :

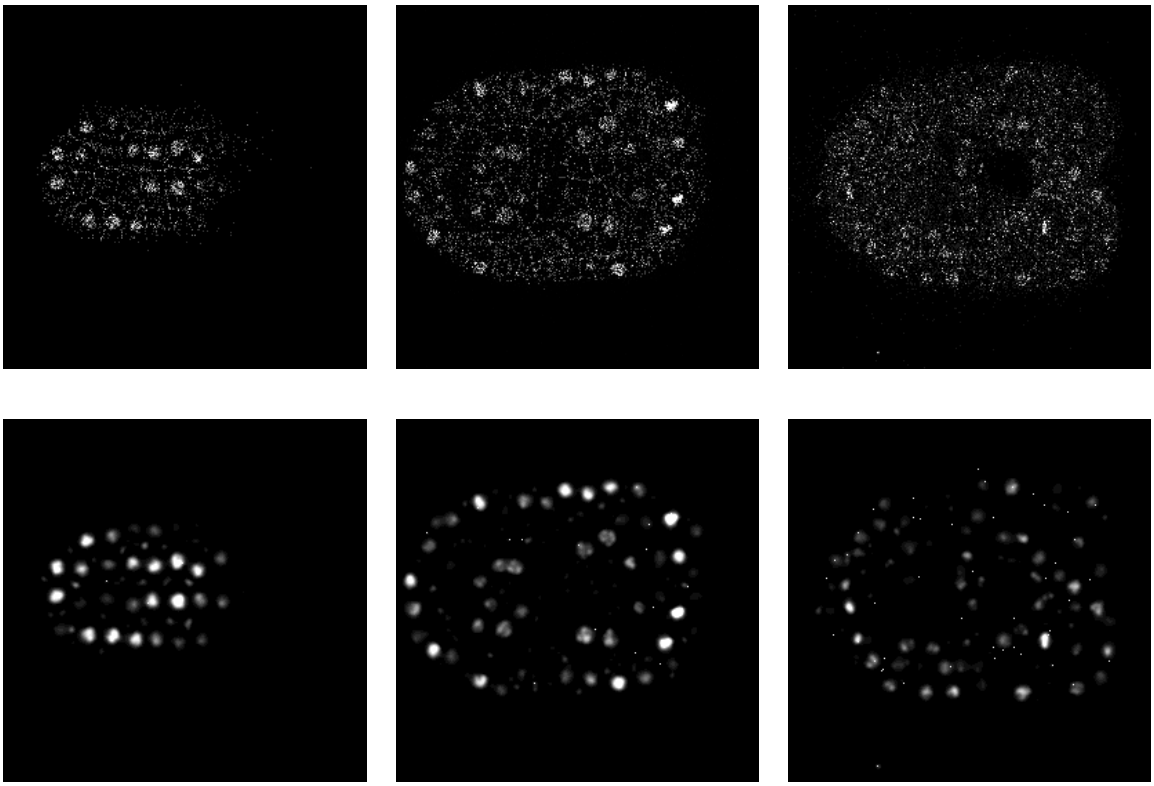
  ◇ La perfectibilité du modèle de bruit proposé pour le tube photo-multiplicateur. La statistique de Bernouilli-Poisson, semble là proposer un bon affinage du modèle.

  ◇ La présence d'autres sources de bruit et de dégradations énumérées dans le chapitre 2. Elles ont été négligées dans notre étude ou incluses dans la composante gaussienne de notre bruit. Les analyser plus spécifiquement peut présenter de l'intérêt.

— Une distance suffisante entre les noyaux qui leur permet une bonne distinction lors de la détection par l'algorithme DOG. A contrario, les noyaux représentés sur les images réelles sont très souvent "collés", ce qui peut nuire à leur bonne identification.

Dans notre cas, les résultats des différentes détections appliquées aux données artificielles et réelles divergent sensiblement. Ces différences peuvent confirmer l'absence de pertinence des résultats sur données réelles, au vu de l'imprécision des vérités terrain. Elles peuvent aussi expliquer dans certains cas la large supériorité de l'IUWT 2D pour la détection de centres.

6. et donc temps humain en affinage de paramètres.
7. à noter que cette appréciation reste visuelle et arbitraire



$i_z = 42$ $i_z = 64$ $i_z = 68$

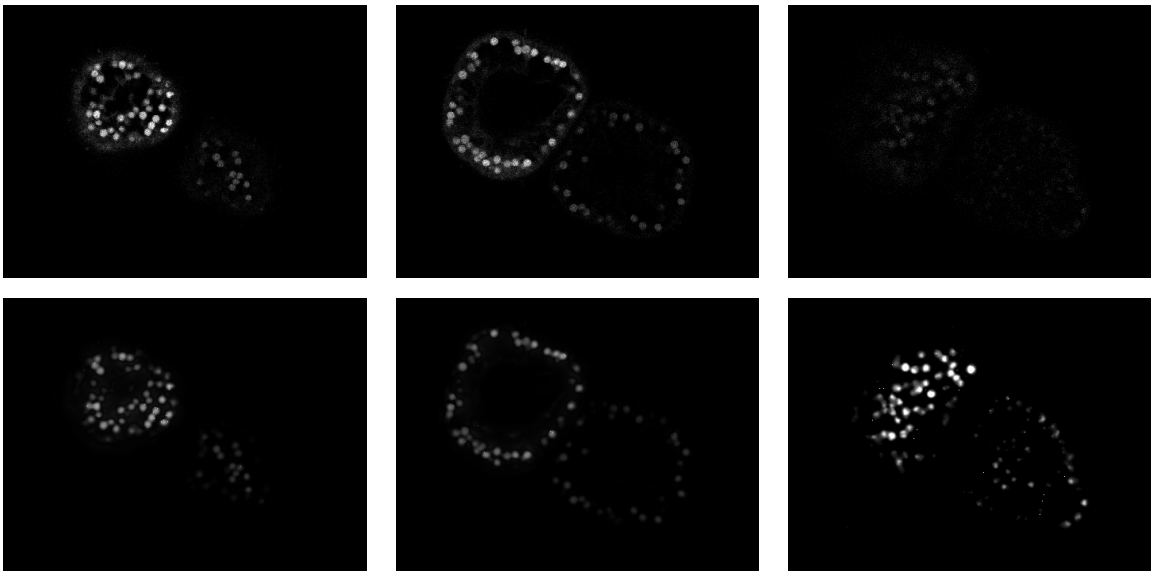
FIGURE 5.13 – Débruitage d'une image deux-photons, avec PMT hybride, représentant un embryon d'Ascidie à 7h41 après fertilisation. Auteur : Adeline Rausch, CNRS.

5.6 Quelques résultats sur le PMT hybride

Les constructeurs des PMT hybrides n'étant pas à même de délivrer les caractéristiques techniques des détecteurs qu'ils proposent, il n'y a pas eu validation de l'hypothèse de bruit MPG sur le PMT hybride. Pour autant, notre méthode a été appliquée sur les images issues d'un tel système d'acquisition. Plusieurs jeux de données ont été testés :

— Un embryon d'ascidie, pris à 7h41 après fertilisation. Les résultats nous sont donnés dans la figure (5.13). Cet embryon est particulièrement endommagé par :
  - ◇ Une perte de signal en profondeur.
  - ◇ Le débordement du canal des membranes sur le canal des noyaux qui entraîne l'apparition de lignes parasites sur l'image. Ce problème trouve son explication dans le chevauchement de deux plages fréquentielles qui, en théorie, ne devraient pas s'intersecter : la plage d'émission du signal des membranes et la plage de réception du signal issu des noyaux.
  - ◇ Le marquage ectopique très présent.

— Deux embryons d'oursin, pris à 20h53 après fertilisation. Les résultats nous sont



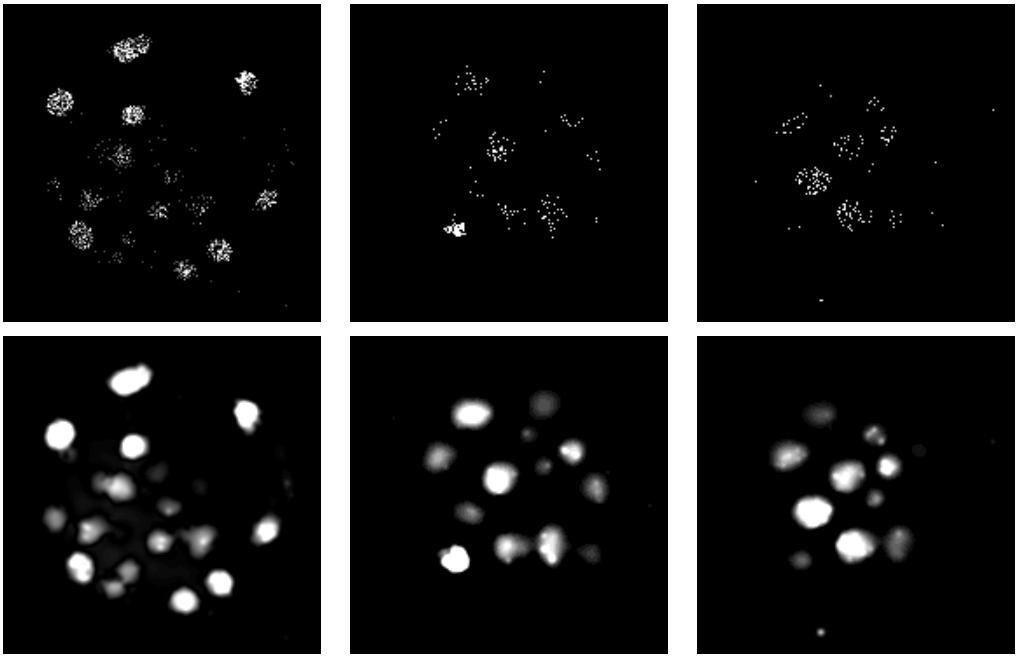
$i_z = 36$ $i_z = 50$ $i_z = 87$

FIGURE 5.14 – Débruitage d'une image deux-photons, avec PMT hybride, représentant un embryon de Oursin à 20h53 après fertilisation. Auteur : Dimitri Fabrèges, CNRS.

donnés dans la figure (5.14). Si, l'un des deux oursins produit plus de signal que l'autre, il subit par ailleurs un signal parasite dû au signal des membranes débordé de son canal.

— Un embryon de lapin, pris à 77h40 après fertilisation. Les résultats nous sont donnés dans la figure (5.15). Cet embryon, peu transparent, s'image difficilement : l'observation faite à partir de la figure (5.15) montre la réduction du signal de certains noyaux à un signal binaire, 0 ou 1. Mais l'absence de bruit de fond ainsi que la taille des objets nucléaires, facilement distinguables, atténuent ce défaut.

Sans pour autant être interprétables, ces résultats très encourageants nous permettent d'espérer par la suite un apport certain sur les images issues de PMT hybride. Des analyses quantifiées seront cependant nécessaires à la confirmation de ce propos.



$i_z = 42$ $i_z = 64$ $i_z = 68$

FIGURE 5.15 – Débruitage d'une image deux-photons, avec PMT hybride, représentant un embryon de lapin à 77h40 après fertilisation. Auteur : Dimitri Fabrèges, CNRS.

Chapitre 6

Discussions

A ce stade, il devient important de prendre du recul par rapport aux résultats que nous venons de produire. Si notre méthode apporte une amélioration inconstestable sur les données utilisées, sa généralisation à d'autres images n'est pas pour autant évidente. Ce chapitre abordera la critique et l'extension potentielle de notre travail à partir de différents points de vue :

— Les contributions théoriques.
— Les protocoles expérimentaux de validation.
— L'application des méthodes de débruitage.
— Le prolongement à d'autres images.

6.1 Critique théorique des modèles utilisés

6.1.1 Réflexion autour de l'opérateur de reconstruction

Cette thèse a, entre autre, montré une solution, théorique et analytique, donnée en annexes, d'un modèle de l'Etat de l'Art, jusqu'alors résolu par une méthode variationnelle. Le calcul du modèle (3.63) en question, associé à l'opérateur en ondelettes isotropes première génération, gagne en vitesse d'exécution. Il consiste à la reconstruction directe de l'image débruitée à partir des coefficients significatifs suivi de la mise à 0 des intensités négatives. Cette solution théorique génère deux problèmes conceptuels :

— la perte de sens du modèle de reconstruction $\mathcal{R}$, qui n'est plus un dictionnaire de formes isotropes de différentes tailles.
— L'association de cet opérateur à un modèle de parcimonie porté par la norme 1 admet une infinité de solutions pour lesquelles le facteur échelle perd tout son sens.

Dans le cas de la transformée en ondelettes seconde génération, l'opérateur de reconstruction est vecteur de sens géométrique. En revanche, le modèle de parcimonie ne garantit

pas plus de signification que dans le cas de la première génération. Cette incertitude à pour origine la propriété suivante : si x, une transformée en ondelettes, est à coefficients positifs alors $\|\mathcal{R}x\|_1 = \|x\|_1$. L'explication réside dans le fait que les filtres utilisés par cette transformée sont positifs et normalisés de manière à ce que leur somme soit égale à 1.

Pour étayer notre propos, il suffit de reprendre le problème (3.63) défini , pour rappel, par :

$$\underset{s\in\mathrm{dom}(\mathcal{R})}{\mathrm{argmin}} \ \|s\|_1 \quad s.t. \quad \begin{cases} (Rs)_{\underline{i}} \geq 0 & \forall \underline{i} \in \mathcal{U} \\ s_j(\underline{i}) = d_j(\underline{i}) & \forall (\underline{i}, j) \in \mathcal{M}_\alpha^{(J_m,J_M)} \end{cases} \tag{6.1}$$

En définissant les quantités suivantes :

— $\overline{d}_j(\underline{i}) = \begin{cases} d_j(\underline{i}) & \text{si } (\underline{i}, j) \in \mathcal{M}_\alpha^{(J_m,J_M)} \\ 0 & \text{sinon.} \end{cases}$

— $\overline{s}_j(\underline{i}) = \begin{cases} 0 & \text{si } (\underline{i}, j) \in \mathcal{M}_\alpha^{(J_m,J_M)} \\ s_j(\underline{i}) & \text{sinon.} \end{cases}$

— $\mathcal{X} = \{s \in \mathrm{dom}(\mathcal{R}), s_j(\underline{i}) = 0 \ \ \forall (\underline{i}, j) \in \mathcal{M}_\alpha^{(J_m,J_M)}\}$

le problème énoncé précédemment devient :

$$\underset{\overline{s}\in\mathcal{X}}{\mathrm{argmin}} \ \|\overline{s}\|_1 \quad s.t. \quad (R\overline{s})_{\underline{i}} \geq -(\mathcal{R}\overline{d})_{\underline{i}} \ \ \forall \underline{i} \in \mathcal{U}$$
$$s = \overline{s} \oplus \overline{d} \tag{6.2}$$

Si s est à coefficients positifs, ce qui peut paraître intuitif, alors $\|\overline{s}\|_1 = \|\mathcal{R}\overline{s}\|_1$. Le problème devient donc résoluble dans l'espace des images ; la solution triviale est l'image, reconstruite à partir de $\overline{d}$, dont les intensités négatives sont mises à 0.

Cette solution serait retrouvée en concentrant les coefficients de s sur les échelles inférieures, quelque soit $\mathcal{R}\overline{d}$. De ce fait, le modèle de reconstruction peut perdre son sens.

L'exemple suivant donne un éclairage de cette affirmation. Supposons que $-(\mathcal{R}\overline{d}) = \mathcal{R}e_{j_0,\underline{i}_0}$, avec $e_{j_0,\underline{i}_0}$ la transformée nulle partout sauf au voxel $\underline{i}_0$ d'échelle j où elle est égale à 1. En faisant abstraction de $\mathcal{M}_\alpha^{(J_m,J_M)}$, résoudre le problème (6.2) pourrait nous amener à plusieurs solutions différentes, parmi lesquelles les deux suivantes :

— la solution $\overline{s} = e_{j_0,\underline{i}_0}$. Cette solution, la plus significative, serait la solution voulue.

— la solution $\overline{s}$ vérifiant :

  — $\overline{s}_0(\underline{i}) = e_{j_0,\underline{i}_0}(\underline{i})$ pour tout voxel $\underline{i}$ de l'image.

  — $\overline{s}_j(\underline{i})$ pour tout j plus grand que 1 et tout voxel $\underline{i}$ de l'image. Cette solution possède exactement la même norme 1 que la précédente. Pourtant elle est dotée de moins de sens.

Pour pallier ce problème, deux solutions peuvent s'offrir à nous à l'avenir :

— Remplacer la norme 1 par la semi norme 0, mesure stricte de la parcimonie. Dans ce cas, le modèle de résolution peut devenir plus difficile ; les outils à disposition pour le résoudre, tels que les algorithmes gloutons [76, 60], n'assurent en rien l'approximation de la solution globale du modèle.
— Normaliser les filtres utilisés par $\mathcal{R}$, non de manière à ce que leur somme fasse 1 mais plutôt à ce que les valeurs respectives des $\tau_2(h^{[j]})$ définies par (3.49) soient des constantes égales à 1. Dans cette situation, la pénalisation de la norme 1 s'en retrouverait allégée sur des plus grandes échelles.

6.1.2 Une analyse de bruit plus fine

Cas du PMT Classique

Notre méthode détecte mieux les formes isotropes quand le signal en profondeur semble presque perdu ; on se situe alors dans le cas d'un faible taux de comptage photonique. Comme nous l'avons vu dans le chapitre sur la microscopie, il existe une statistique de bruit beaucoup plus fine qui, lors d'une détection par le PMT d'une intensité lumineuse encore plus faible, serait beaucoup plus pertinente que la distribution de bruit de Poisson : la distribution de type Bernouilli-Poisson.

Ce défaut d'analyse pourrait partiellement expliquer le décalage entre résultats sur données artificielles et données réelles. Le prendre en compte améliorerait le gain sur la détection.

Une autre stabilisation de variance serait à définir dans ce contexte.

Cas du PMT hybride

Une fois l'analyse statistique de bruit réalisée dans le cas du PMT classique, l'étude de celle du PMT hybride reste un objectif de nos prochaines études. Même si les publications sur le sujet sont nombreuses, aucune, à notre connaissance, n'établit un parallèle entre la distribution théorique proposée et la statistique de Poisson, toujours considérée comme standard en analyse d'image. Par ailleurs, chacune de ces publications traite d'un type très particulier de PMT et il ne nous a pas encore été possible d'identifier le détecteur utilisé.

Les méthodes reposant sur une statistique de bruit de type MPG donnent en revanche des résultats prometteurs ; il pourrait à ce moment-là être intéressant de poursuivre à l'identique les expériences décrites dans le chapitre précédent, mais, cette fois, sur des images issues de capteurs hybrides.

6.2 Extension de la méthode à d'autres objets, d'autres images

6.2.1 Débruitage de membranes

Si les ondelettes non décimées isotropes sont très efficaces pour le débruitage d'images de noyaux cellulaires, d'autres opérateurs pourraient œuvrer sur des membranes. Les curvelets, particulièrement aptes à représenter les contours lisses par morceaux, sont de très bons candidats. Dans les limites de la 2D, la théorie de la MSVST-IUWT a été généralisée à d'autres opérateurs multi-échelles, dont les curvelets, par les mêmes auteurs. Or, cette théorie peut aussi être étendue à la troisième dimension dans la mesure où le débruitage des membranes intéresse particulièrement les biologistes, et ce pour deux raisons :

— La forme entière des cellules gagne en intérêt dans les analyses biologiques. Elle influe aussi bien sur la disposition spatiale des cellules que sur les forces exercées entre elles.

— La qualité des images membranaires est plus mauvaise que celle des images nucléaires. La raison en est que ces objets, en plus de disposer d'une concentration moindre en protéines, sont de taille très fine et donc susceptibles de passer sous la résolution du voxel.

L'utilisation des curvelets pour des objets membranaires peut, dans ce cas, se révéler tout à fait pertinente.

6.2.2 Le microscope à scanner résonnant

Le microscope à scanner résonnant se caractérise par sa capacité d'imager très vite un embryon. Le gain engendré sur la résolution temporelle des vidéos 3D+temps permet un suivi automatique plus précis des cellules, une cellule bougeant extrêmement peu d'un pas de temps à un autre.

En contrepartie, la médiocre qualité des images empêche la bonne distinction, ne serait-ce que visuelle, des noyaux. La figure (6.1), nous montre un exemple d'images produites par ce type de microscope. Leur qualité est si mauvaise qu'en général, l'intensité du voxel ne peut prendre que deux valeurs : 0 ou 1.

Pour compenser ce défaut, le recours à une fenêtre temporelle glissante, qui réalise la moyenne d'un pas de temps avec ses voisins, peut donner des résultats tout à fait convenables. En revanche, le flou causé par la mobilité des cellules rend cette technique perfectible.

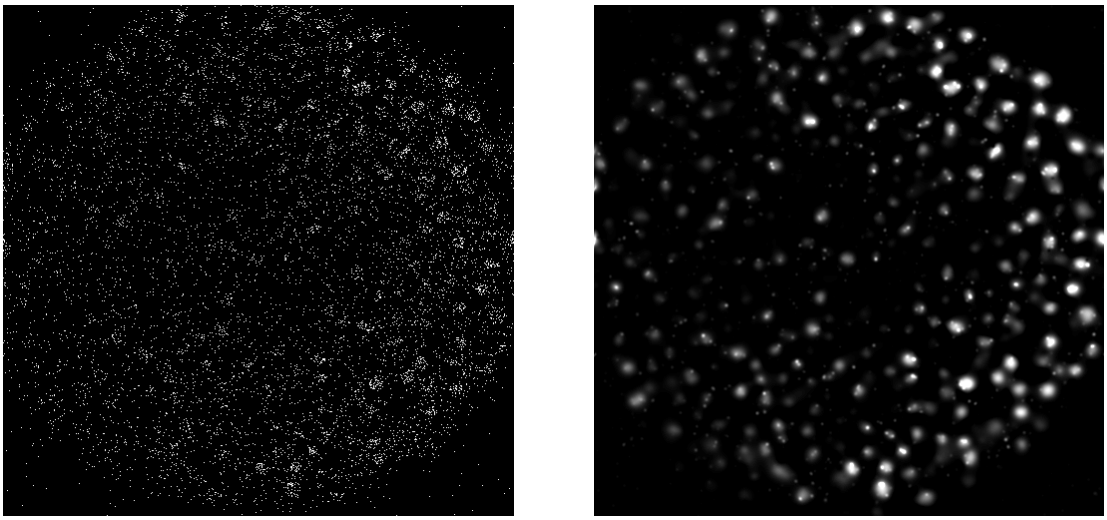


FIGURE 6.1 – Exemple d'une coupe 2D d'une image 3D acquise par scanner résonnant et de son débruitage.

L'utilisation d'une MSVST-IUWT 3D + temps pourrait ici bénéficier des avantages du moyennage temporel, tout en en atténuant les défauts.

Qui plus est, la statistique utilisée par ce microscope ne nécessite pas une analyse physique des composants d'acquisition : comme l'ensemble des valeurs prises par le voxel équivaut au singleton $\{0, 1\}$, la seule distribution possible est celle de Bernouilli.

Des études préliminaires ont été réalisées sur un pas de temps, en utilisant notre méthode telle quelle. Le résultat, prometteur, communiqué dans la figure (6.1), nous permet d'espérer de futures avancées significatives en imagerie 3D + temps !

6.3 Critique des méthodes de validation

6.3.1 Une vérité terrain perfectible

Nous avons ici présenté une méthode de validation des algorithmes de débruitage des images biologiques 3D, plus particulièrement représentatrices de noyaux cellulaires. Cette méthode consiste à évaluer la qualité d'une détection d'objets après le processus de restauration. Cette méthode reste imparfaite de par la jonction de différents phénomènes :

— La vérité terrain, calculée sur données bruitées puis corrigée à la main, reste très imprécise. Cette imprécision réside avant tout dans le décalage entre la position validée du noyau et son véritable centre de gravité.

— Lors du calcul des faux positifs et des faux négatifs, une tolérance sur la position est nécessaire pour associer un centre détecté à un centre validé. Plus cette tolérance sera élevée, plus la méthode de validation sera biaisée par les imperfections de la

FIGURE 6.2 – Exemple de construction de deux régions à partir de l'image d'un noyau cellulaire pour la réalisation d'un méthode de validation. Tout centre détecté à l'intérieur d'e la région verte sera validé, tout centre détecté à l'extérieur de la région rouge sera rejeté.

vérité terrain. Plus elle sera faible, plus la probabilité d'associer deux centres en théorie incompatibles sera faible.

— La distance entre les noyaux, parfois très faible, impose une tolérance maximale sur la méthode d'association entre les différents centres, qui, du fait d'une valeur possiblement faible, peut fausser le processus de validation.

La solution à ce problème qu nous pouvons proposer réside non pas dans l'utilisation d'une vérité terrain sous forme d'ensemble de positions, mais plutôt sous celle d'ensemble de segmentations. A partir d'une segmentation d'un noyau donné, seraient définies deux régions :

— Une région intérieure qui validerait la détection avec 100% de certitude. Elle ne correspondrait pas exactement à la totalité mais plutôt à un sous-volume de la segmentation du noyau.

— Une région extérieure en adéquation avec la segmentation, dans laquelle la probabilité d'accepter un noyau varierait en fonction de sa distance avec la région intérieur pour arriver nulle à la frontière.

— Partout ailleurs, tout centre détecté en dehors des deux régions précédentes serait rejeté au moment de la correspondance avec le noyau d'intérêt.

La figure (6.2) représente la construction des deux régions en fonction de l'image du noyau cellulaire.

Une autre solution à ce problème, serait la redéfinition des vérités terrain à partir d'images débruitées. Même si cette, méthode peut apporter un gain significatif à tous les résultats de validation, elle apporterait un biais relatif à l'algorithme de débruitage choisi.

6.3.2 Une exploration de paramètre plus exhaustive et plus précise

Comme énoncé dans le chapitre précédent, l'exploration de paramètres n'a pas permis de recouvrir entièrement le front de Pareto des méthodes. Pratiquement, étant donné que les points d'intérêt réalisent un compromis entre faux positifs et faux négatifs, les extrémités de cette courbe ne sont pas très pertinentes dans la comparaison de la performance des différentes méthodes de débruitage.

Cependant, pour analyser les paramètres des résultats du front de Pareto, il peut être intéressant d'élargir la zone calculée jusqu'à ses frontières qui, dans notre cas, correspondraient aux points (0,0) et (1,1). L'exploration brute des paramètres ne serait dès lors plus efficace pour déterminer le front dans son intégralité ; l'utilisation d'algorithmes génétiques [25, 43] serait beaucoup plus appropriée.

6.3.3 Amélioration des méthodes de validation manuelle

Jusqu'à présent, l'intérêt du débruitage n'a été développé que pour la facilitation du passage des méthodes de détection et l'amélioration de leurs résultats. Mais se focaliser uniquement sur ce volet éclipserait un autre aspect de la restauration d'image : la qualité visuelle. L'utilité d'une image nette, outre son intérêt commercial, réside dans l'amélioration de la vitesse d'exécution de la tâche d'un biologiste qui corrige et valide manuellement une détection de centres. Dans ce cadre, la confrontation de deux validations manuelles, l'une sur données brutes, l'autre sur données débruitées, pourrait prouver notre propos. La vitesse d'exécution et le taux d'erreur humaine par validation ("oubli") seraient alors les mesures comparées.

Chapitre 7

Conclusion

Dans ce document, nous nous sommes intéressés à des images issues de microscopes deux-photons. Cette technique d'acquisition en trois dimensions, particulièrement performantes pour photogrophier un embryon vivant (*in vivo*) dans son intégralité (*in toto*), peuvent aussi fortement dégrader les données.

7.1 Le contexte très particulier de la microscopie à deux photons

La mauvaise qualité des images issues des microscopes deux-photons trouve son origine dans de multiples sources desquelles ont été dégagés deux facteurs majeurs de détérioration : le marquage ectopique et le bruit issu du PMT.

Pour annuler ces deux composantes parasites, a été proposée l'exportation à la troisième dimension d'une méthode qui a déjà largement fait ses preuves en imagerie astronomique ou biologique 2D : la MSVST-IUWT. Comme énoncé dans le chapitre 3, les tendances actuelles en débruitage visent à restaurer la plus grande classe d'images possible, le plus souvent par l'utilisation de redondances de patterns présents dans le signal. A la différence de ces méthodes dites *globales*, la méthode proposée préfère utiliser des forts a-priori sur les formes des objets d'une image et en même temps sur les dégradations pour retrouver l'information.

7.2 Une nouvelle exportation à la troisième dimension de la MSVST-IUWT

Cette méthode associe une technique appelée la Stabilisation de Variance à une transformée parcimonieuse adaptée aux formes *presque isotropes*, l'IUWT. Deux générations différentes sont comprises dans cet opérateur multi-échelle. Nous les avons analysées.

Outre la nature du bruit présent sur les images, l'exportation à la troisième dimension de cette méthode a pris en compte une propriété physique du système d'acquisition : la taille du voxel, autrement dit les dimensions de la grille d'échantillonnage, différentes dans les trois directions x, y, et z de l'espace. Ce travail, mis en place pour les deux générations IUWT, repose avant tout sur la généralisation du filtre binomial, cœur de la transformée, à toute une classe de filtres paramétrée par les dimensions de la grille. L'équation de la chaleur, socle de cette généralisation, a permis de mieux comprendre le lien entre l'isotropie de la transformée et l'utilisation des filtres binomiaux.

Une fois la nouvelle IUWT mise en œuvre, les coefficients significatifs de la transformée ont pu être retrouvés grâce à un test d'hypothèse. La reconstruction de l'image débruitée à partir de ces coefficients s'est distinguée de la méthode originale par l'utilisation d'un algorithme Primal-Dual doté de deux avantages majeurs :

— Il converge en peu d'itérations.

— Le coût calculatoire de chaque itération est raisonnable.

La nouvelle méthode ainsi obtenue a pu être testée sur des images artificielles ou réelles puis être validée ; Les outils de validation ont aussi été sujets de réflexion.

7.3 Mise en place de deux protocoles de validation différents

La première question posée fut celle du choix des algorithmes à confronter à notre méthode. A cette fin, nous en avons sélectionné trois , référents dans l'état de l'art en raison de leur jeunesse ou, au contraire, de leur autorité dans la littérature. La méthode CANDLE, l'algorithme PURE, et la Variation Totale nous ont semblé à même de remplir cette tâche.

Vint ensuite le choix des données d'application. Il porta en premier lieu sur des données artificielles dont toute mesure est connue. Mais notre volonté de prouver l'applicabilité de la méthode nous a poussés aussi à trouver d'autres outils de validation pour des données réelles.

Une fois les deux questions précédentes résolues, les mesures utilisées pour la comparaison des différentes méthodes ont pu être présentées. Si, dans le cas d'images artificielles, le SNR peut paraître une solution évidente, l'absence de données non bruitées pour des données réelles a rendu l'utilisation de ce ratio impossible. La mise en place d'un nouveau protocole de validation s'imposait donc.

Dans ce cadre, nous avons pris parti d'appliquer une détection de centres en suivant du débruitage. Un taux de comptage de vrais positifs et de faux négatifs est apparu comme une suite intéressante de notre mesure de validation. Sachant que, lors de la comparaison de deux méthodes de validation, le choix d'un compromis entre vrais positifs et faux négatifs n'est pas pertinent, parti a été pris de réaliser une double exploration de paramètres, la première portant sur les algorithmes de débruitage comparés, la seconde sur la méthode de détection. L'ensemble des paramètres optimaux pour lesquels le taux de vrais positifs est maximal ou celui de faux négatifs est minimal, nous a servi de point de comparaison de chaque méthode. Cet ensemble est appelé front de Pareto de l'association algorithme de débruitage/algorithme de détection.

Toutefois cette proposition de nouvelle méthode de validation reste inaboutie et ce pour trois raisons :

— l'invalidité de la vérité terrain, correction manuelle de la détection de centres sur donnée bruitée.
— la tolérance requise entre centre détecté et centre validé.
— la distance entre noyaux parfois très faible.

Elle devra être améliorée avant de pouvoir affirmer son autorité sur le choix du meilleur algorithme de débruitage. Dans ce cadre, le choix de l'utilisation de résultats de segmentation reste une bonne alternative.

A l'usage, notre méthode a offert des résultats de débruitage plus qu'encourageants, qui ont d'ores et déjà montré leur intérêt auprès des biologistes du laboratoire. La méthode proposée a été intégrée aux outils standards utilisés au quotidien.

7.4 Perspectives

Malgré cela, notre méthode a montré des résultats tout à fait encourageants sur les images traitées, qu'elles soient réelles ou artificielles. Ce travail, nous l'espérons, sera poursuivi , et ce à plusieurs titres :

— Etablir une méthode de validation beaucoup plus robuste que les méthodes existantes.

— Automatiser cette validation, plus précisément l'exploration des paramètres sur la méthode de débruitage et sur celle de détection. Dans ce sens, l'utilisation d'algorithmes génétiques semble appropriée.
— Proposer des améliorations sur le modèle de bruit, notamment dans le cas d'un modèle Bernouilli-Poisson.
— Etendre le champ d'application de la MSVST à d'autres objets biologiques tels que les membranes.

Mais, de même que la MSVST-IUWT est partie de l'imagerie astronomique ou biologique 2D, pour arriver à la microscopie 3D, de même sera-t-il intéressant d'explorer différentes disciplines susceptibles de tirer parti de cette technique.

7.5 Ouverture de la méthode à d'autres données

La détection de formes *presque isotropes*, est un sujet qui peut-être étendu à d'autres domaines que le débruitage d'images. N'importe quel signal, n'importe quelle donnée, possiblement représentative de l'agrégation de différentes quantités, peut être considérée comme une forme isotrope. En géographie, cette idée pourrait concerner l'approximation de la concentration de populations, en fonction de la mesure d'autres quantités, par exemple celle de la lumière émise la nuit par les habitats. Les données téléphoniques ou l'estimation de la consommation électrique des foyers pourraient aussi servir de source de données de ce type.

La concentration sylvestre d'un terrain pourrait aussi être estimée de cette manière, à partir d'une image satellite de sa surface. La mesure de propagation d'un front d'onde sismique pourrait aussi être améliorée au travers de l'association de notre méthode à des données mesurées localement par différents sismographes ou accéléromètres.

Bien sûr, la statistique sur le bruit liée à toutes ces données, nous est pour le moment inconnu ; du moins, la question de sa correspondance à un bruit de Poisson, gaussien, ou MPG, reste en suspens. Une analyse plus approfondie validerait ou pas la possibilité d'application de notre méthode à ces données.

Annexes

A Une solution analytique pour le modèle de restauration IUWT dans le cas de la transformée en ondelettes première génération.

Nous voulons résoudre le problème (3.63), défini comme suit :

$$\underset{s\in\mathrm{dom}(\mathcal{R})}{\mathrm{argmin}} \ \|s\|_1 \quad s.t. \quad \begin{cases} \tilde{u}_{\underline{i}} = (Rs)_{\underline{i}} \geq 0 & \forall \underline{i} \in \mathcal{U} \\ s_j(\underline{i}) = d_j(\underline{i}) & \forall (\underline{i}, j) \in \mathcal{M}_\alpha^{(J_m, J_M)} \end{cases} \tag{1}$$

$(\mathcal{R}s)_{\underline{i}} = \sum_{\underline{i},j} s_{\underline{i},j}$. $\tilde{u} = \mathcal{R}s$ est l'image débruitée. En même temps, nous définissons $d_{\underline{i},j}$ comme égal à $(\mathcal{W}u)(\underline{i}, j)$. Pour alléger les notations, $\mathcal{M}_\alpha^{(J_m,J_M)}$ sera, à l'avenir, noté $\mathcal{M}$. L'objet de cette section est de montrer que résoudre ce problème amène nécessairement à une image débruitée $\tilde{u}$ de la forme :

$$\tilde{u}(\underline{i}) = \begin{cases} \sum_{j\in\mathcal{M}} d_{\underline{i},j} & \text{si } \sum_{j\in\mathcal{M}} d_{\underline{i},j} > 0. \\ 0 & \text{sinon.} \end{cases} \tag{2}$$

De fait, la réalisation de la minimisation (3.63) est séparable selon l'ensemble des voxels $\underline{i}$:

$$\mathcal{P}_{\underline{i}} : \qquad \underset{s^{(\underline{i})}}{\arg\min} \|s^{(\underline{i})}\|_1 \qquad \text{s.t.} \qquad \begin{cases} \sum_j s_j^{(\underline{i})} \geq 0 \\ s_j^{(\underline{i})} = d_{\underline{i},j} \qquad \forall (j) \in \mathcal{M}_{\underline{i}} \end{cases}$$

Cette séparation est schématisée dans la figure (1).

D'un point de vue graphique, $s^{(\underline{i})}$ représente un pixel au travers de toutes les échelles ; $\mathcal{M}_{\underline{i}} = \{j,\ (\underline{i}, j) \in \mathcal{M}\}$.

On note $s^{(\underline{i})}|_{\mathcal{M}_{\underline{i}}^c}$ le vecteur restreint aux coordonnées dans $\mathcal{M}^c$, complémentaire de $\mathcal{M}$. $\mathcal{P}_{\underline{i}}$ peut-être réduit à :

$$\mathcal{P}'_{\underline{i}} : \qquad \underset{s^{(\underline{i})}|_{\mathcal{M}^c}}{\arg\min} \|s^{(\underline{i})}|_{\mathcal{M}^c}\|_1 \qquad \text{s.t.} \qquad \sum_{j\in\mathcal{M}^c} s_j^{(\underline{i})} \geq -\sum_{j\in\mathcal{M}} d_{\underline{i},j}$$

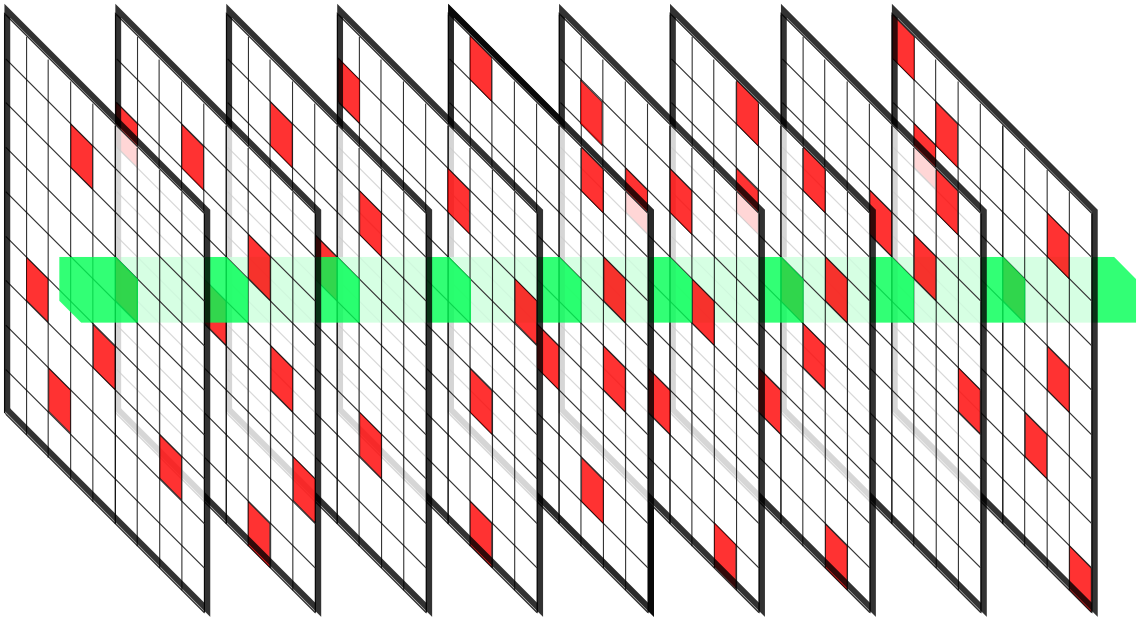


FIGURE 1 – Schématisation, dans le cas 2D, de la séparation du problème 3.63 selon chaque pixel. Chaque image représente une échelle de la transformée. Les zones rouges illustrent les voxels, d'intensité fixe, pointés par $\mathcal{M}$. la région verte correspond à la région d'intérêt pour un voxel donné $\underline{i}$. L'intensité du voxel $\underline{i}$ de l'image débruitée sera donc, dans ce cas-là, somme des voxels dans la région verte.

Là encore, à l'intérieur de la zone verte de la figure (1), $s^{(\underline{i})}|_{\mathcal{M}^c}$ est l'ensemble des intensités des pixels blancs et $\sum_{j\in\mathcal{M}} d_{\underline{i},j}$ la somme des voxels rouges.

Trois cas de figure sont alors possibles :

— $\underline{\mathcal{M}^c_{\underline{i}} = \emptyset \text{ et } \sum_{j\in\mathcal{M}_{\underline{i}}} d_{\underline{i},j} < 0}$: ce cas-là n'offre pas de solution. Tous les voxels de la zone verte de la figure (1) sont rouges et leur somme est négative, cas impossible dans la mesure où il impliquerait une intensité négative du pixel $\underline{i}$ sur l'image bruitée.

— $\underline{\sum_{j\in\mathcal{M}} d_{\underline{i},j} > 0}$: la solution unique du problème est $s^{(\underline{i})}|_{\mathcal{M}^c} = 0$. Si nous revenons au problème $\mathcal{P}_{\underline{i}}$, cette solution peut être réécrite sous la forme :

$$s^{(\underline{i})}(j) = \begin{cases} d_{\underline{i},j} & \text{si } (\underline{i}, j) \in \mathcal{M}. \\ 0 & \text{sinon.} \end{cases}$$

Tous les voxels blanc de la zone verte sur la figure (1) sont ramenés à 0 ; la valeur de l'intensité du voxel débruité est égale à $\sum_{j\in\mathcal{M}} d_{\underline{i},j} > 0$.

— $\underline{\mathcal{M}^c \neq \emptyset, \text{ et } \sum_{j\in\mathcal{M}} d_{\underline{i},j} < 0}$: ce cas amène une optimisation 1D sous contrainte de la forme

$$\arg\min_x \|x\| \qquad \text{s.t.} \qquad \sum_p x_p \geq \alpha \qquad \alpha > 0$$

où x, l'inconnue, correspond à $s^{(\underline{i})}|_{\mathcal{M}^c}$, ensemble des voxels blancs de la zone verte de la figure (1), et où α, alors connu, est de valeur $-\sum_{j\in\mathcal{M}} d_{\underline{i},j}$.
L'ensemble des solutions de ce problème se compose des vecteurs x à coordonnées positives, tels que $\sum_p x_p = \alpha$. Toujours dans le cas du problème $\mathcal{P}'_{\underline{i}}$, ce raisonnement induit une solution de la forme $\sum_{j\in\mathcal{M}^c} s_j^{(\underline{i})} = -\sum_{j\in\mathcal{M}} d_{\underline{i},j}$. Pour terminer, les solutions de $\mathcal{P}_{\underline{i}}$ vérifient $\sum_j s_j^{(\underline{i})} = 0$, ce qui correspond à l'intensité du voxel $\underline{i}$ débruité.

Le premier cas exclu, l'image débruitée, reconstruite à partir de la solution du problème $\mathcal{P}_{\underline{i}}$, se résume comme suit :

$$\tilde{u}(\underline{i}) = \begin{cases} \sum_{j\in\mathcal{M}} d_{\underline{i},j} & \text{si } \sum_{j\in\mathcal{M}} d_{\underline{i},j} > 0. \\ 0 & \text{sinon.} \end{cases} \tag{3}$$

B Calculs des différents opérateurs pour l'implémentation de l'algorithme Primal-Dual

Des notions d'algèbre linéaire et d'analyse convexe [45] sont nécessaires pour bien comprendre cette partie. Ici, toute image, toute transformée IUWT, sera considérée comme élément d'un espace vectoriel dans lequel sont définies les opérations suivantes :

— La multiplication par un scalaire.
— L'addition de deux éléments.
— La soustraction de deux éléments.
— La norme euclidienne, ou quadratique : $\| \bullet \|_2$.
— La norme 1 : $\| \bullet \|_1$.

Nous proposons ici une méthode de résolution du problème (3.63) défini, pour rappel, par :

$$\underset{s\in\mathrm{dom}(\mathcal{R})}{\mathrm{argmin}} \ \|s\|_1 \quad s.t. \quad \begin{cases} \tilde{u}_{\underline{i}} = (Rs)_{\underline{i}} \geq 0 & \forall \underline{i} \in \mathcal{U} \\ s_j(\underline{i}) = d_j(\underline{i}) & \forall (\underline{i}, j) \in \mathcal{M}_\alpha^{(J_m, J_M)} \end{cases} \tag{4}$$

B.1 l'Algorithme de Chambolle-Pock

La méthode implémentée repose sur l'algorithme de Chambolle-Pock, utilisé pour chercher le minimum d'une fonction généralement écrite comme :

$$F(Kx) + G(x) \tag{5}$$

où

— l'argument x évolue sur un espace vectoriel $\mathrm{dom}(G)$.

— F et G sont deux fonctions convexes.

— K est un opérateur linéaire.

Sous sa forme la plus générale, ce processus est détaillé par l'algorithme (6). $|||K|||$, norme

Data: Fonction F, Fonction G, Opérateur K. Paramètre de convergence r_s.
Result: argument minimium de $F(Kx) + G(x)$.
$\tau \leftarrow \sqrt{\frac{1}{r_s |||K|||^2}}$;
$\sigma \leftarrow \sqrt{\frac{r_s}{|||K|||^2}}$;
Initialiser x_0 ;
$\overline{x}_0 \leftarrow x_0$;
repeat
$y_{k+1} \leftarrow \underset{y \in \mathrm{dom}(F)}{\mathrm{argmin}} \frac{1}{2}\|y - (y_k + \sigma K \overline{x}_k)\|_2^2 + \sigma F^*(y)$;
$x_{k+1} \leftarrow \underset{x \in \mathrm{dom}(G)}{\mathrm{argmin}} \frac{1}{2}\|x - (x_k - \tau K^* y_{k+1})\|_2^2 + \tau G(x)$;
$\overline{x}_{k+1} \leftarrow 2x_{k+1} - x_k$;
$k \leftarrow k + 1$;
until *convergence*;
$\tilde{u} \leftarrow \mathcal{R}s_\infty$;

Algorithm 6: Algorithme de Chambolle-Pock

triple K, est définie par :

$$|||K||| = \sup_{x \neq 0} \frac{\|Kx\|_2}{\|x\|_2}$$

Ici $\|x\|$, $\|Kx\|_2$ sont les normes euclidiennes classiques sur des espaces vectoriels. La fonction F^*, duale de F, est donnée par :

$$F^*(y) = \sup_{y'} \langle y', y \rangle - F(y') \tag{6}$$

L'opérateur K^*, adjoint de K, vérifie, par définition, la propriété suivante :

$$\forall\, x \in \mathrm{dom}(G), \forall\, y \in \mathrm{dom}(F), \quad \langle y, Kx \rangle = \langle K^* y, x \rangle \tag{7}$$

Dans le cas où K est une matrice réelle, K^* correspond à sa transposée.

B.2 Adaptation de l'Algorithme de Chambolle-Pock au modèle 3.63

Il apparaît que le problème (3.63) peut s'écrire comme minimisation d'une fonction de la même forme que (5). Pour identifier les fonctions F et G, nous introduisons la fonction indicatrice χ qui prend en paramètre un argument et une condition. Cette application

retourne 0 si l'argument vérifie la condition ; dans le cas contraire, il renvoie $+\infty$. Nous noterons $\chi_C(x)$, où x est l'argument et C la condition. Dans ce contexte, la fonction à minimiser devient

$$\|s\|_1 + \chi_{C_1}(s) + \chi_{C_2}(\mathcal{R}s)$$

avec

— $C_1 =$"$\forall\ (\underline{i}, j) \in \mathcal{M}, \quad s_{\underline{i},j} = (\mathcal{W}u)(\underline{i}, j)$".

— $C_2 =$"$\forall\ \underline{i} \in \mathcal{U}, \quad (\mathcal{R}s)(\underline{i}) \geq 0$".

, L'identification suivante s'ensuit :

— l'argument x est identifié à s. Pour une raison de consistence de notations, $\overline{x}$ sera écrit $\overline{s}$

— $G(s) = \chi_{C_1}(s) + \|s\|_1$

— $F = \chi_{C_2}$

— $K = \mathcal{R}$

— Les variables y_k évoluant dans l'espace des images, nous les noterons u_k. Elles ne sont cependant pas directement liées à l'image bruitée ou à l'image débruitée.

B.3 Calcul des différents opérateurs pour l'adaptation de la Méthode de Chambolle Pock au modèle 3.63

Calculons dans un premier temps F^* :

$$\begin{aligned}
F^*(y) &= \sup_u \ \langle y', y\rangle - \chi_{C_2}(y) \\
&= \sup_{y'} \ \sum_{\underline{i}} y'(\underline{i})y(\underline{i}) + \chi_{\text{“}\geq 0''}(y'(\underline{i})) \\
&= \sum_{\underline{i}} \sup_{y'(\underline{i})} \ y'(\underline{i})y(\underline{i}) + \chi_{\text{“}\geq 0''}(y'(\underline{i})) \\
&= \sum_{\underline{i}} \sup_{y'(\underline{i})\geq 0} \ y'(\underline{i})y(\underline{i})
\end{aligned}$$

Par ailleurs,

$$\sup_{y'(\underline{i})\geq 0} \ y'(\underline{i})y(\underline{i}) = \begin{cases} 0 & \text{si } y(\underline{i}) \leq 0. \\ +\infty & \text{sinon.} \end{cases}$$

En posant $C_3 =$"$\forall\ \underline{i} \in \mathcal{U}, \quad (\mathcal{R}s)(\underline{i}) \leq 0$", nous avons

$$F^*(y) = \chi_{C_3}(y) \tag{8}$$

Calculons maintenant $\underset{y\in\mathrm{dom}(F)}{\mathrm{argmin}}\ \frac{1}{2}\|y-(y_k+\sigma K\overline{x}_k)\|_2^2+\sigma F^*(y)$. Nous avons par identification :

$$y_k+\sigma K\overline{x}_k=u_k+\sigma\mathcal{R}\overline{s}_k$$

On pose $u'_k=u_k+\sigma\mathcal{R}\overline{s}_k$.

$$\begin{aligned}
\underset{y\in\mathrm{dom}(F)}{\mathrm{argmin}}\ \frac{1}{2}\|y-(y_k+\sigma K\overline{x}_k)\|_2^2+\sigma F^*(y) &= \underset{u'\in\mathrm{dom}(F)}{\mathrm{argmin}}\ \frac{1}{2}\|u'-u'_k\|_2^2+\sigma F^*(u')\\
&= \underset{u'\in\mathrm{dom}(F)}{\mathrm{argmin}}\ \frac{1}{2}\|u'-u'_k\|_2^2+\chi_{C_3}(u')\\
&= \underset{u'\in\mathcal{O}^-}{\mathrm{argmin}}\ \frac{1}{2}\|u'-u'_k\|_2^2\\
&= \mathcal{P}_{\mathcal{O}^-}(u'_k)\\
&= \mathcal{P}_{\mathcal{O}^-}(u_k+\sigma\mathcal{R}\overline{s}_k)
\end{aligned}$$

Ici $\mathcal{O}^-$ désigne le sous-ensemble de $\mathrm{dom}(F)$ à coordonnées négatives. $\mathcal{P}$ est l'opérateur de projection d'un élément sur un ensemble. Dans le cas où cet ensemble est $\mathcal{O}^-$, $\mathcal{P}$, préserve les coordonnées négatives et ramène les coordonnées positives à 0 :

$$(\mathcal{P}_{\mathcal{O}^-}(u))(\underline{i})=\begin{cases} u(\underline{i}) & \text{si } u(\underline{i})\leq 0\\ 0 & \text{sinon.}\end{cases}$$

La ligne $y_{k+1}\leftarrow\underset{y\in\mathrm{dom}(F)}{\mathrm{argmin}}\ \frac{1}{2}\|y-(y_k+\sigma K\overline{x}_k)\|_2^2+\sigma F^*(y)$ de l'algorithme (6) devient donc :

$$u_{k+1}\leftarrow\mathcal{P}_{\mathcal{O}^-}(u_k+\sigma\mathcal{R}\overline{s}_k)$$

Calculons maintenant $x_{k+1}\leftarrow\underset{x\in\mathrm{dom}(G)}{\mathrm{argmin}}\ \frac{1}{2}\|x-(x_k-\tau K^*x_{k+1})\|_2^2+\tau G(x)$. Par identification :

$$x_k-\tau K^*y_{k+1}=s_k-\mathcal{R}^*u_{k+1} \tag{9}$$

Toujours dans un souci de simplification, nous notons $s'_k=s_k-\mathcal{R}^*u_{k+1}$

$$\begin{aligned}
\underset{x\in\mathrm{dom}(G)}{\mathrm{argmin}}\ \frac{1}{2}\|x-(x_k-\tau K^*x_{k+1})\|_2^2+\tau G(x) &= \underset{s\in\mathrm{dom}(G)}{\mathrm{argmin}}\ \frac{1}{2}\|s-s'_k\|_2^2+\tau G(s)\\
&= \underset{s\in\mathrm{dom}(G)}{\mathrm{argmin}}\ \frac{1}{2}\|s-s'_k\|_2^2+\tau\|s\|_1+\chi_{C_1}(s)
\end{aligned}$$

A cause de la propriété suivante :

$$\frac{1}{2}\|s-s'_k\|_2^2+\tau\|s\|_1+\chi_{C_1}(s) = \sum_{(\underline{i},j)\in\mathcal{M}} (s(\underline{i},j)-s'_k(\underline{i},j))^2+\tau|s(\underline{i},j)|+\sum_{(\underline{i},j)\in\mathcal{M}^c} \chi_{\text{“}=(\mathcal{W}u)(\underline{i},j)\text{”}}(s(\underline{i},j))$$

le problème est décomposable selon chaque paire voxel/echelle.
Soit $\hat{s} = \text{argmin}_{s\in\text{dom}(G)} \frac{1}{2}\|s-s'_k\|_2^2+\tau\|s\|_1+\chi_{C_1}(s)$, il en découle la propriété suivante :

$$\begin{aligned}\hat{s}(\underline{i},j) &= \begin{cases} (Wu)(\underline{i},j) & \text{si } (\underline{i},j)\in\mathcal{M} \\ \text{argmin}_{s(\underline{i},j)\in\mathbb{R}} \frac{1}{2}(s(\underline{i},j)-s'_k(\underline{i},j))^2+\tau|s(\underline{i},j)| & \text{sinon.}\end{cases} \\ &= \begin{cases} (Wu)(\underline{i},j) & \text{si } (\underline{i},j)\in\mathcal{M} \\ S.T._\tau(s'_k(\underline{i},j))) & \text{sinon.}\end{cases}\end{aligned}$$

Le passage de la première à la seconde ligne est expliqué dans [102]. Il ne nous reste plus qu'à calculer $\mathcal{R}^*$ et $|||\mathcal{R}|||$. Pour déterminer $\mathcal{R}^*$, utilisation est faite de la propriété (7) : soit $x\in\text{dom}(G)$ et $y\in\text{dom}(F)$,

$$\begin{aligned}\langle\mathcal{R}^*y,x\rangle &= \langle y,\mathcal{R}x\rangle \\ &= \sum_{\underline{i}} y(\underline{i})(\mathcal{R}x)(\underline{i},j) \\ &= \sum_{\underline{i}} y(\underline{i})\sum_j (h^{[j]}*x(\bullet,j))(\underline{i}) \\ &= \sum_j\sum_{\underline{i}} y(\underline{i})(h^{[j]}*x(\bullet,j))(\underline{i})\end{aligned}$$

où $x(\bullet,j)$ représente la j-ième image de la transformée et $h^{[j]}$ est défini par (3.46). Par ailleurs, démonstration peut être faite que :

$$\sum_{\underline{i}} y(\underline{i})(h^{[j]}*x(\bullet,j))(\underline{i}) = \sum_{\underline{i}}(h^{[j]}*y)(\underline{i})x(\underline{i},j)$$

ce qui nous amène à

$$\langle\mathcal{R}^*y,x\rangle = \sum_j\sum_{\underline{i}}(h^{[j]}*y)(\underline{i})x(\underline{i},j)$$

Par identification nous avons :

$$(\mathcal{R}^*y)(\underline{i},j) = (h^{[j]}*y)(\underline{i})$$

Par définition de $h^{[j]}$, l'équation ci-dessus est réécrite ainsi :

$$(\mathcal{R}^* y)(\bullet, 0) = y$$
$$(\mathcal{R}^* y)(\bullet, j+1) = (\mathcal{R}^* y)(\bullet, j) * h^{(j)}$$

Il ne reste plus maintenant qu'à calculer $|||\mathcal{R}|||$. A cette fin, nous utiliserons la propriété suivante :

$$|||\mathcal{R}^*||| = |||\mathcal{R}|||$$

Le calcul de cette norme se déroulera en trois temps :

1. Nous montrerons que $\|\mathcal{R}^* y\|_2^2 \leq \sum_{j=0}^{J} \|\mathcal{R}^{(j)} y\|_2^2$, quelque soit y. Ici $\mathcal{R}^{(j)} y = h^{[j]} * x_j$.
2. Quelque soit y et j, nous montrerons que $\|\mathcal{R}^{(j)} y\|_2^2 \leq \|y\|_2^2$. De là, il sera possible de déduire directement que $|||\mathcal{R}^*|||^2 \leq \sum_{j=0}^{J} 1 = (J+1)$.
3. Nous trouverons une valeur y telle que $\|\mathcal{R}^* y\|_2^2 = (J+1)\|y\|_2^2$, ce qui nous permettra de conclure que $|||\mathcal{R}^*|||^2 = (J+1)$

1 - : Soit y un élément de l'espace des images $\mathrm{dom}(\mathcal{R}^*)$.
Par définition de $\mathcal{R}^*$, $(\mathcal{R}^* y)(\bullet, j) = \mathcal{R}^{(j)} y$. En utilisant $\|\mathcal{R}^* y\|_2^2 = \sum_j \|(\mathcal{R}^* y)(\bullet, j)\|_2^2$, nous avons $\|\mathcal{R}^* y\|_2^2 = \sum_j \|R^{(j)} y\|_2^2$.

2 - : Soit y une image $\|R^{(j)} y\|_2^2 = \|h^{[j]} * y\|_2^2$. Ici $h^{[j]}$, combinaison de filtres moyenneurs $h^{(j)}$, est donc, lui-aussi, un filtre moyenneur (cf partie 3.4.2 et prop 3.35). Or, en plus d'avoir une somme égale à 1, ces filtres sont à coefficients positifs. Il est alors possible de montrer que l'opérateur $\mathcal{R}^{(j)}$ est markovien [1], propriété qui entraîne $|||\mathcal{R}^{(j)}||| = 1$, ce qui nous amène à :

$$\forall\ y \in \mathrm{dom}(\mathcal{R}^{(j)}), \quad \|\mathcal{R}^{(j)} y\|_2^2 \leq \|y\|_2^2$$

Il s'ensuit donc que

$$\begin{aligned}
\|\mathcal{R}^* y\|_2^2 &\leq \sum_{j=0}^{J} \|\mathcal{R}^{(j)} y\|_2^2 \\
&\leq \sum_{j=0}^{J} \|y\|_2^2 \\
&\leq (J+1)\|y\|_2^2
\end{aligned}$$

1. Pour plus d'explications consulter [49]

Enfin,

$$|||\mathcal{R}|||_2^2 \leq J+1$$

3 - : Pour obtenir l'égalité stricte, il suffit de trouver un y qui vérifie $\|\mathcal{R}^* y\|_2^2 = (J+1)\|y\|_2^2$: ce y solution est le vecteur dont toutes les composantes sont égales à 1. En effet, quelque soit j, un tel vecteur vérifie :

$$\begin{aligned}(\mathcal{R}^* y)(\bullet, j) &= h^{[j]} * y \\ &= y \qquad\qquad \text{car } h^{[j]} \text{ est un filtre moyenneur}\end{aligned}$$

et donc ,

$$\begin{aligned}\|\mathcal{R}^* y\|_2^2 &= \sum_{j=0}^{J} \|(\mathcal{R}^* y)(\bullet, j)\|_2^2 \\ &= \sum_{j=0}^{J} \|y\|_2^2 \\ &= (J+1)\|y\|_2^2\end{aligned}$$

Bibliographie

[1] Wits = where is the starlet ? (wavelet names ending with *let). http ://www.laurent-duval.eu/siva-wits-where-is-the-starlet.html.

[2] Michal Aharon, Michael Elad, and Alfred Bruckstein. K-svd : An algorithm for designing overcomplete dictionaries for sparse representation. *Signal Processing, IEEE Transactions on*, 54(11) :4311–4322, 2006.

[3] Luis Alvarez, Pierre-Louis Lions, and Jean-Michel Morel. Image selective smoothing and edge detection by nonlinear diffusion. ii. *SIAM Journal on numerical analysis*, 29(3) :845–866, 1992.

[4] Francis J Anscombe. The transformation of poisson, binomial and negative-binomial data. *Biometrika*, 35(3/4) :246–254, 1948.

[5] Ery Arias-Castro and David L Donoho. Does median filtering truly preserve edges better than linear filtering ? *The Annals of Statistics*, pages 1172–1206, 2009.

[6] Matthew Aubury and Wayne Luk. Binomial filters. *Journal of VLSI signal processing systems for signal, image and video technology*, 12(1) :35–50, 1996.

[7] Suyash P Awate and Ross T Whitaker. Image denoising with unsupervised, information-theoretic, adaptive filtering. *IEEE Tr. Pattern Anal. Mach. Intell*, 2004.

[8] Carlos Alberto Bazan. *PDE-based image and structure enhancement for electron tomography of mitochondria*. The Claremont Graduate University and San Diego State University, 2009.

[9] Mario Bertero, Henri Lantéri, and Luca Zanni. Iterative image reconstruction : a point of view. *Mathematical Methods in Biomedical Imaging and Intensity-Modulated Radiation Therapy (IMRT), Y. Censor, M. Jiang, and A. Louis, eds*, 7 :37–63, 2008.

[10] Thierry Blu and Florian Luisier. The sure-let approach to image denoising. *Image Processing, IEEE Transactions on*, 16(11) :2778–2786, 2007.

[11] Torsten Bölke, Lisa Krapf, Regina Orzekowsky-Schroeder, Tobias Vossmeyer, Jelena Dimitrijevic, Horst Weller, Anna Schüth, Antje Klinger, Gereon Hüttmann, and Andreas Gebert. Data-adaptive image-denoising for detecting and quantifying nanoparticle entry in mucosal tissues through intravital 2-photon microscopy. *Beilstein journal of nanotechnology*, 5(1) :2016–2025, 2014.

[12] Jérôme Boulanger, Charles Kervrann, Patrick Bouthemy, Peter Elbau, Jean-Baptiste Sibarita, and Jean Salamero. Patch-based nonlocal functional for denoising fluorescence microscopy image sequences. *Medical Imaging, IEEE Transactions on*, 29(2) :442–454, 2010.

[13] Kristian Bredies, Karl Kunisch, and Thomas Pock. Total generalized variation. *SIAM Journal on Imaging Sciences*, 3(3) :492–526, 2010.

[14] Antoni Buades, Bartomeu Coll, and Jean-Michel Morel. A review of image denoising algorithms, with a new one. *Multiscale Modeling & Simulation*, 4(2) :490–530, 2005.

[15] Martin Burger, Jahn Müller, Evangelos Papoutsellis, and Carola-Bibiane Schönlieb. Total variation regularization in measurement and image space for pet reconstruction. *Inverse Problems*, 30(10) :105003, 2014.

[16] Li-Dong Cai. Spline smoothing : A special case of diffusion smoothing. In *Proceedings of the Alvey Vision Conference, AVC 1989, Reading, UK, September, 1989*, pages 1–4, 1989.

[17] Matteo Campana, Cecilia Zanella, Barbara Rizzi, Paul Bourgine, Nadine Peyriéras, and Alessandro Sarti. A subjective surfaces based segmentation for the reconstruction of biological cell shape. In Ranchordas Alpesh and Araújo Helder, editors, *VISAPP 2008*, Proceedings of the Third International Conference on Computer Vision Theory and Applications Volume 1, pages 555–558. INSTICC - Institute for Systems and Technologies of Information, Control and Communication, 2008. 3rd International Conference on Computer Vision Theory and Applications : Funchal, PORTUGAL, JAN 22-25, 2008.

[18] E. Candes and D. Donoho. Curvelets : A Surprisingly Effective Nonadaptive Representation of Objects with Edges. Technical report, 1999.

[19] Emmanuel J Candès and David L Donoho. Ridgelets : A key to higher-dimensional intermittency ? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 357(1760) :2495–2509, 1999.

[20] Emmanuel Candès, Laurent Demanet, David Donoho, and Lexing Ying. Fast discrete curvelet transforms, 2005.

[21] Tian Cao. Multi-modal image registration for correlative microscopy. *arXiv preprint arXiv :1411.3229*, 2014.

[22] Carlos Castro-González, Miguel A Luengo-Oroz, Louise Duloquin, Thierry Savy, Barbara Rizzi, Sophie Desnoulez, René Doursat, Yannick L Kergosien, María J Ledesma-Carbayo, Paul Bourgine, et al. A digital framework to build, visualize and analyze a gene expression atlas with cellular resolution in zebrafish early embryogenesis. *PLoS Comput Biol*, 10(6) :e1003670, 2014.

[23] Francine Catté, Pierre-Louis Lions, Jean-Michel Morel, and Tomeu Coll. Image selective smoothing and edge detection by nonlinear diffusion. *SIAM Journal on Numerical analysis*, 29(1) :182–193, 1992.

[24] Antonin Chambolle and Thomas Pock. A first-order primal-dual algorithm for convex problems with applications to imaging. *Journal of Mathematical Imaging and Vision*, 40(1) :120–145, 2011.

[25] Darwin Charles. *The origin of species*. John Murry London, 1959.

[26] Caroline Chaux, Laure Blanc-Féraud, and Josiane Zerubia. Wavelet-based restoration methods : application to 3d confocal microscopy images. In *Optical Engineering+ Applications*, pages 67010E–67010E. International Society for Optics and Photonics, 2007.

[27] Scott Shaobing Chen, David L. Donoho, and Michael A. Saunders. Atomic decomposition by basis pursuit. *SIAM JOURNAL ON SCIENTIFIC COMPUTING*, 20 :33–61, 1998.

[28] Pierrick Coupé, Martin Munz, Jose V Manjón, Edward S Ruthazer, and D Louis Collins. A candle for a deeper in vivo insight. *Medical image analysis*, 16(4) :849–864, 2012.

[29] Kostadin Dabov, Alessandro Foi, Vladimir Katkovnik, and Karen Egiazarian. Image denoising with block-matching and 3d filtering. In *Electronic Imaging 2006*, pages 606414–606414. International Society for Optics and Photonics, 2006.

[30] Kostadin Dabov, Alessandro Foi, Vladimir Katkovnik, and Karen Egiazarian. Image denoising by sparse 3-d transform-domain collaborative filtering. *Image Processing, IEEE Transactions on*, 16(8) :2080–2095, 2007.

[31] Aram Danielyan, Yu-Wei Wu, Pei-Yu Shih, Yulia Dembitskaya, and Alexey Semyanov. Denoising of two-photon fluorescence images with block-matching 3d filtering. *Methods*, 68(2) :308–316, 2014.

[32] Ingrid Daubechies. Orthonormal bases of compactly supported wavelets. *Communications on pure and applied mathematics*, 41(7) :909–996, 1988.

[33] Ingrid Daubechies et al. *Ten lectures on wavelets*, volume 61. SIAM, 1992.

[34] Nicolas Dey, Laure Blanc-Feraud, Christophe Zimmer, Pascal Roux, Zvi Kam, Jean-Christophe Olivo-Marin, and Josiane Zerubia. Richardson–lucy algorithm with total variation regularization for 3d confocal microscope deconvolution. *Microscopy research and technique*, 69(4) :260–266, 2006.

[35] Ferran Diego, Susanne Reichinnek, Martin Both, Fred Hamprecht, et al. Automated identification of neuronal activity from calcium imaging by sparse dictionary learning. In *Biomedical Imaging (ISBI), 2013 IEEE 10th International Symposium on*, pages 1058–1061. IEEE, 2013.

[36] Minh N Do and Martin Vetterli. The contourlet transform : an efficient directional multiresolution image representation. *Image Processing, IEEE Transactions on*, 14(12) :2091–2106, 2005.

[37] David L Donoho. De-noising by soft-thresholding. *Information Theory, IEEE Transactions on*, 41(3) :613–627, 1995.

[38] David L Donoho and Jain M Johnstone. Ideal spatial adaptation by wavelet shrinkage. *Biometrika*, 81(3) :425–455, 1994.

[39] Alexandre Dufour, Vasily Shinin, Shahragim Tajbakhsh, Nancy Guillén-Aghion, Jean-Christophe Olivo-Marin, and Christophe Zimmer. Segmenting and tracking fluorescent cells in dynamic 3-d microscopy with coupled active surfaces. *Image Processing, IEEE Transactions on*, 14(9) :1396–1410, 2005.

[40] Jalal M Fadili, J-L Starck, B Zhang, and Seth Digel. Poisson noise removal in multivariate count data. In *SPIE Optical Engineering+ Applications*, pages 74461B–74461B. International Society for Optics and Photonics, 2009.

[41] Emmanuel Faure, Thierry Savy, Barbara Rizzi, Camilo Melani, Olga Stašová, Dimitri Fabrèges, Róbert Špir, Mark Hammons, Róbert Čúnderlík, Gaëlle Recher, et al. A workflow to process 3d+ time microscopy images of developing organisms and reconstruct their cell lineage. *Nature communications*, 7, 2016.

[42] Achilleas S Frangakis and Reiner Hegerl. Noise reduction in electron tomographic reconstructions using nonlinear anisotropic diffusion. *Journal of structural biology*, 135(3) :239–250, 2001.

[43] Alex Fraser, Donald Burnell, et al. Computer models in genetics. *Computer models in genetics.*, 1970.

[44] Dennis Gabor. Theory of communication. part 1 : The analysis of information. *Electrical Engineers-Part III : Radio and Communication Engineering, Journal of the Institution of*, 93(26) :429–441, 1946.

[45] Jean-Baptiste Hiriart-Urruty and Claude Lemaréchal. *Fundamentals of convex analysis*. Springer Science & Business Media, 2012.

[46] Zahid Hosssain and Torsten Möller. Edge aware anisotropic diffusion for 3d scalar data. *Visualization and Computer Graphics, IEEE Transactions on*, 16(6) :1376–1385, 2010.

[47] Vladimir Katkovnik, Alessandro Foi, Karen Egiazarian, and Jaakko Astola. From local kernel to nonlocal multiple-model image denoising. *International journal of computer vision*, 86(1) :1–32, 2010.

[48] Zuzana Krivá, Karol Mikula, Nadine Peyriéras, Barbara Rizzi, Alessandro Sarti, and O Stašová. 3d early embryogenesis image filtering by nonlinear partial differential equations. *Medical image analysis*, 14(4) :510–526, 2010.

[49] Guy Latouche and Vaidyanathan Ramaswami. *Introduction to matrix analytic methods in stochastic modeling*, volume 5. Siam, 1999.

[50] Jong-Sen Lee. Digital image smoothing and the sigma filter. *Computer Vision, Graphics, and Image Processing*, 24(2) :255 – 269, 1983.

[51] Yue M Lu and Minh N Do. Multidimensional directional filter banks and surfacelets. *Image Processing, IEEE Transactions on*, 16(4) :918–931, 2007.

[52] Florian Luisier, Cédric Vonesch, Thierry Blu, and Michael Unser. Fast interscale wavelet denoising of poisson-corrupted images. *Signal Processing*, 90(2) :415–427, 2010.

[53] Marius Lysaker, Arvid Lundervold, and Xue-Cheng Tai. Noise removal using fourth-order partial differential equation with applications to medical magnetic resonance images in space and time. *Image Processing, IEEE Transactions on*, 12(12) :1579–1590, 2003.

[54] Matsilele Mabaso, B Twala, D Withey, and S Utete. Performance evaluation of spot detection algorithms in fluorescence microscopy images. 2012.

[55] Julien Mairal, Francis Bach, Jean Ponce, and Guillermo Sapiro. Online dictionary learning for sparse coding. In *Proceedings of the 26th Annual International Conference on Machine Learning*, pages 689–696. ACM, 2009.

[56] Stéphane Mallat. *A wavelet tour of signal processing*. Academic press, 1999.

[57] Stephane Mallat and Wen Liang Hwang. Singularity detection and processing with wavelets. *Information Theory, IEEE Transactions on*, 38(2) :617–643, 1992.

[58] Stephane G Mallat. A theory for multiresolution signal decomposition : the wavelet representation. *Pattern Analysis and Machine Intelligence, IEEE Transactions on*, 11(7) :674–693, 1989.

[59] Stéphane G Mallat and Zhifeng Zhang. Matching pursuits with time-frequency dictionaries. *Signal Processing, IEEE Transactions on*, 41(12) :3397–3415, 1993.

[60] Stéphane G Mallat and Zhifeng Zhang. Matching pursuits with time-frequency dictionaries. *Signal Processing, IEEE Transactions on*, 41(12) :3397–3415, 1993.

[61] Frank J Massey Jr. The kolmogorov-smirnov test for goodness of fit. *Journal of the American statistical Association*, 46(253) :68–78, 1951.

[62] Boaz Matalon, Michael Elad, and Michael Zibulevsky. Image denoising with the contourlet transform.

[63] C. Melani, M. Campana, B. Lombardot, B. Rizzi, F. Veronesi, C. Zanella, P. Bourgine, K. Mikula, N. Peyrieras, and A. Sarti. Cells tracking in a live zebrafish embryo. In *2007 29th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, pages 1631–1634, Aug 2007.

[64] Yves Meyer. Les ondelettes. *Contributions to nonlinear partial differential equations*, 2 :158–171, 1987.

[65] Karol Mikula, NADINE Peyriéras, and RÓBERT Špir. Numerical algorithm for tracking cell dynamics in 4d biomedical images. *in Discrete and Continuous Dynamical Systems-Series S*, 2015.

[66] Karol Mikula, Róbert Špir, Michal Smíšek, Emmanuel Faure, and Nadine Peyriéras. Nonlinear {PDE} based numerical methods for cell tracking in zebrafish embryogenesis. *Applied Numerical Mathematics*, 95 :250 – 266, 2015. Fourth Chilean Workshop on Numerical Analysis of Partial Differential Equations (WONAPDE 2013).

[67] M. Minsky. Microscopy apparatus, December 19 1961. US Patent 3,013,467.

[68] Koki Moriyoshi, Linda J Richards, Chihiro Akazawa, Dennis DM O'Leary, and Shigetada Nakanishi. Labeling neural cells using adenoviral gene transfer of membrane-targeted gfp. *Neuron*, 16(2) :255–260, 1996.

[69] E. A. Nadaraya. On estimating regression. *Theory of Probability & Its Applications*, 9(1) :141–142, 1964.

[70] Jean-Christophe Olivo-Marin. Extraction of spots in biological images using multiscale products. *Pattern Recognition*, 35(9) :1989 – 1996, 2002.

[71] Bruno A Olshausen and David J Field. Sparse coding with an overcomplete basis set : A strategy employed by v1 ? *Vision research*, 37(23) :3311–3325, 1997.

[72] Erik Ordentlich, Gadiel Seroussi, Setgio Verdu, Murcelo Weinberger, and Tsachy Weissman. A discrete universal denoiser and its application to binary images. In

Image Processing, 2003. ICIP 2003. Proceedings. 2003 International Conference on, volume 1, pages I–117. IEEE, 2003.

[73] Erik Ordentlich, Gadiel Seroussi, Setgio Verdu, Murcelo Weinberger, and Tsachy Weissman. A discrete universal denoiser and its application to binary images. In *Image Processing, 2003. ICIP 2003. Proceedings. 2003 International Conference on*, volume 1, pages I–117. IEEE, 2003.

[74] Stanley Osher, Martin Burger, Donald Goldfarb, Jinjun Xu, and Wotao Yin. Using geometry and iterated refinement for inverse problems (1) : Total variation based image restoration. *Department of Mathematics, UCLA, LA, CA*, 90095 :04–13, 2004.

[75] Vilfredo Pareto. *Manuale di economia politica*, volume 13. Societa Editrice, 1906.

[76] Yagyensh Chandra Pati, Ramin Rezaiifar, and PS Krishnaprasad. Orthogonal matching pursuit : Recursive function approximation with applications to wavelet decomposition. In *Signals, Systems and Computers, 1993. 1993 Conference Record of The Twenty-Seventh Asilomar Conference on*, pages 40–44. IEEE, 1993.

[77] JB Pawley and Barry R Masters. Handbook of biological confocal microscopy. *Optical Engineering*, 35(9) :2765–2766, 1996.

[78] Pietro Perona and Jitendra Malik. Scale-space and edge detection using anisotropic diffusion. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 12 :629–639, 1990.

[79] Sorin Pop, Alexandre Dufour, and Jean-Christophe Olivo-Marin. Image filtering using anisotropic structure tensor for cell membrane enhancement in 3d microscopy. In *Image Processing (ICIP), 2011 18th IEEE International Conference on*, pages 2041–2044. IEEE, 2011.

[80] VBS Prasath, R Pelapur, OV Glinskii, VV Glinsky, VH Huxley, and K Palaniappan. Multiscale tensor anisotropic filtering of fluorescence microscopy for denoising microvasculature. In *IEEE ISBI*, 2015.

[81] Irina Rish and Genady Grabarnik. *Sparse modeling : theory, algorithms, and applications*. CRC Press, 2014.

[82] Paul Rodríguez. Total variation regularization algorithms for images corrupted with different noise models : a review. *Journal of Electrical and Computer Engineering*, 2013 :10, 2013.

[83] Sebastien Rey-Coyrehourcq Romain Reuillon, Mathieu Leclaire. Openmole, a workflow engine specifically tailored for the distributed exploration of simulation models. *Future Generation Computer Systems*, 29(8) :1981 – 1990, 2013.

[84] Leonid I Rudin, Stanley Osher, and Emad Fatemi. Nonlinear total variation based noise removal algorithms. *Physica D : Nonlinear Phenomena*, 60(1) :259–268, 1992.

[85] Guillermo Sapiro. *Geometric partial differential equations and image analysis*. Cambridge university press, 2006.

[86] A. Sawatzky. *(Nonlocal) Total Variation in Medical Imaging*. 2011.

[87] Alex Sawatzky, Christoph Brune, Jahn Müller, and Martin Burger. Total variation processing of images with poisson statistics. In *Computer Analysis of Images and Patterns*, pages 533–540. Springer, 2009.

[88] Johannes Schindelin, Curtis T Rueden, Mark C Hiner, and Kevin W Eliceiri. The imagej ecosystem : An open platform for biomedical image analysis. *Molecular reproduction and development*, 82(7-8) :518–529, 2015.

[89] Yu Shi, Houzhang Fang, and Guoyou Wang. Poissonian image deconvolution via sparse and redundant representations and framelet regularization. *Mathematical Problems in Engineering*, 2014, 2014.

[90] E.P. Simoncelli, W.T. Freeman, E.H. Adelson, and D.J. Heeger. Shiftable multiscale transforms. *Information Theory, IEEE Transactions on*, 38(2) :587–607, March 1992.

[91] Ihor Smal, Marco Loog, Wiro Niessen, and Erik Meijering. Quantitative comparison of spot detection methods in fluorescence microscopy. *Medical Imaging, IEEE Transactions on*, 29(2) :282–301, 2010.

[92] Gordon D Smith. *Numerical solution of partial differential equations : finite difference methods*. Oxford university press, 1985.

[93] Stephen M Smith and J Michael Brady. Susan—a new approach to low level image processing. *International journal of computer vision*, 23(1) :45–78, 1997.

[94] Wolfram Stadler. A survey of multicriteria optimization or the vector maximum problem, part i : 1776–1960. *Journal of Optimization Theory and Applications*, 29(1) :1–52, 1979.

[95] J-L Starck and Fionn Murtagh. *Astronomical image and data analysis*. Springer Science & Business Media, 2007.

[96] Jean-Luc Starck, Emmanuel J Candès, and David L Donoho. The curvelet transform for image denoising. *Image Processing, IEEE Transactions on*, 11(6) :670–684, 2002.

[97] Jean-Luc Starck, Jalal Fadili, and Fionn Murtagh. The undecimated wavelet decomposition and its reconstruction. *Image Processing, IEEE Transactions on*, 16(2) :297–309, 2007.

[98] Jean-Luc Starck, Fionn Murtagh, and Jalal M Fadili. *Sparse image and signal processing : wavelets, curvelets, morphological diversity.* Cambridge university press, 2010.

[99] Jean-Luc Starck, Fionn D Murtagh, and Albert Bijaoui. *Image processing and data analysis : the multiscale approach.* Cambridge University Press, 1998.

[100] Eitan Tadmor, Suzanne Nezzar, and Luminita Vese. A multiscale image representation using hierarchical (bv, l 2) decompositions. *Multiscale Modeling & Simulation*, 2(4) :554–579, 2004.

[101] HH Tan. Avalanche photodiode statistics in triggered-avalanche detection mode. *The Telecommunications and Data Acquisition Progress Report 42-79, July–September 1984*, pages 69–80, 1984.

[102] Robert Tibshirani. Regression shrinkage and selection via the lasso. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, pages 267–288, 1996.

[103] A. Tikhonov. Solution of incorrectly formulated problems and the regularization method. In *Soviet Math. Doklady*, volume 4, pages 1035–1038, 1963.

[104] Carlo Tomasi and Roberto Manduchi. Bilateral filtering for gray and color images. In *Computer Vision, 1998. Sixth International Conference on*, pages 839–846. IEEE, 1998.

[105] Roger Y Tsien. The green fluorescent protein. *Annual review of biochemistry*, 67(1) :509–544, 1998.

[106] J.W. Tukey. *Exploratory Data Analysis.* Addison-Wesley series in behavioral science. Addison-Wesley Publishing Company, 1977.

[107] Geoffrey S. Watson. Smooth regression analysis. *Sankhya : The Indian Journal of Statistics, Series A (1961-2002)*, 26(4) :359–372, 1964.

[108] Joachim Weickert. *Anisotropic diffusion in image processing*, volume 1. Teubner Stuttgart, 1998.

[109] Isao Yamada. The hybrid steepest descent method for the variational inequality problem over the intersection of fixed point sets of nonexpansive mappings. *Studies in Computational Mathematics*, 8 :473–504, 2001.

[110] Leonid P Yaroslavsky and LP Yaroslavskij. Digital picture processing. an introduction. *Digital picture processing. An introduction.. LP Yaroslavsky (LP Yaroslavskij). Springer Seriesin Information Sciences, Vol. 9. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo. 12+ 276 pp. Price DM 112.00 (1985). ISBN 3-540-11934-5 (FR Germany), ISBN 0-387-11934-5 (USA).*, 1, 1985.

[111] Douglas G Youmans, George Williams, and Andrew Huntington. Linear-mode avalanche photo-diode detectors with a quasi-deterministic gain component : statistical model studies. In *SPIE Defense, Security, and Sensing*, pages 803716–803716. International Society for Optics and Photonics, 2011.

[112] Bo Zhang, Jalal M Fadili, and Jean-Luc Starck. Wavelets, ridgelets, and curvelets for poisson noise removal. *Image Processing, IEEE Transactions on*, 17(7) :1093–1108, 2008.

[113] Bo Zhang, MJ Fadili, Jean-Luc Starck, and J-C Olivo-Marin. Multiscale variance-stabilizing transform for mixed-poisson-gaussian processes and its applications in bioimaging. In *Image Processing, 2007. ICIP 2007. IEEE International Conference on*, volume 6, pages VI–233. IEEE, 2007.

[114] Bo Zhang, Mohamed-Jalal Fadili, and J-L Starck. Multi-scale variance stabilizing transform for multi-dimensional poisson count image denoising. In *Acoustics, Speech and Signal Processing, 2006. ICASSP 2006 Proceedings. 2006 IEEE International Conference on*, volume 2, pages II–II. IEEE, 2006.

ÉCOLE DOCTORALE

Agriculture, alimentation, biologie, environnement, santé (ABIES)

Titre : Restauration d'images de noyaux cellulaires en microscopie 3D par l'introduction de connaissance a priori

Résumé : Cette thèse aborde la problématique de la restauration d'images 3D de noyaux cellulaires fluorescents issues de la microscopie 2-photons à balayage laser d'animaux observés in vivo et in toto au cours de leur développement embryonnaire. La dégradation originale de ces images provient des limitations des systèmes optiques, du bruit intrinsèque des systèmes de détection ansi que de l'absorption et la diffusion de la lumière dans la profondeur des tissus. A la différence des propositions de "débruitage" de l'état de l'art, nous proposons ici une méthode qui prend en compte les particularités des données biologiques.
Cette méthode, adaptation à la troisième dimension d'un algorithme utilisé dans l'analyse d'image astronomique, tire parti de connaissances a priori sur les images étudiées. Les hypothèses émises portent à la fois sur la détérioration du signal par un bruit supposé Mixe Poisson Gaussien (MPG) et sur la nature des objets observés. Nous traitons ici le cas de noyaux de cellules embryonnaires que nous supposons quasi sphériques.
L'implémentation en 3D doit prendre en compte les dimensions de la grille d'échantillonnage de l'image. En effet ces dimensions ne sont pas identiques dans les trois directions de l'espace et un objet sphérique échantillonné sur cette grille perd cette caractéristique. Pour adapter notre méthode à une telle grille, nous avons ré-interprété le processus de filtrage, au coeur de la théorie originale, comme un processus physique de diffusion.

Mots clés : Débruitage d'image, Traitement d'image, Microscopie 3D, Ondelettes, Stabilisation de Variance

Title: Denoising 3D Microscopy Images of Cell Nuclei using Shape Priors

Abstract: In this this document, we present a method to denoise 3D images acquired by 2-photon microscopy and displaying cell nuclei of animal embryos. The specimens are observed in toto and in vivo during their early development. Image deterioration can be explained by the microscope optical flaws, the acquisition system limitations, and light absorption and diffusion through the tissue depth.
The proposed method is a 3D adaptation of a 2D method so far applied to astronomical images and it also differs from state-of-the-art methods by the introduction of priors on the biological data. Our hypotheses include assuming that noise statistics are Mixed Poisson Gaussian (MPG) and that cell nuclei are quasi spherical.
To implement our method in 3D, we had to take into account the sampling grid dimensions which are different in the x, y or z directions. A spherical object imaged on this grid loses this property. To deal with such a grid, we had to interpret the filtering process, which is a core element of the original theory, as a diffusion process.

Keywords: Image Denoising, Image processing, 3D Microscopy, Wavelets, Variance Stabilizing Transform