

TABLE DES MATIÈRES

	Page
REMERCIEMENTS.....	5
RÉSUMÉ	7
ABSTRACT	9
CHAPITRE 1 ARTÈRE ET EXPLORATION DE PLAQUES VULNÉRABLES.....	23
1.1 Anatomie de la paroi vasculaire.....	23
1.2 Athérosclérose.....	24
1.2.1 L'athérogénèse et développement d'une plaque d'athérome.....	25
1.2.2 Plaque vulnérable.....	27
1.3 Techniques d'imagerie pour la caractérisation des plaques vulnérables	29
1.3.1 Angiographie.....	29
1.3.2 Échographie ultrasonore en mode B.....	31
1.3.3 Échographie intra vasculaire (IVUS).....	32
1.3.4 Tomodensitométrie (TDM).....	33
1.3.5 Imagerie par Résonance Magnétique (IRM).....	33
1.4 L'élastographie ultrasonore	34
1.4.1 L'élastographie endovasculaire ultrasonore (EVE).....	35
1.4.2 L'élastographie vasculaire non-intrusive (NIVE).....	37
1.5 Objectifs de ce mémoire de maîtrise.....	39
CHAPITRE 2 REVUE DES OUTILS DE TRAITEMENT D'IMAGES	41
2.1 L'histomorphométrie	41
2.2 Segmentation d'image numérique	41
2.3 Image numérique	41
2.4 Espace couleur	42
2.4.1 Espace RGB.....	42
2.4.2 Espace HSV	43
2.4.3 Espace L*a*b.....	44
2.5 Texture	44
2.6 La présentation couleur texture.....	45
2.7 Égalisation d'histogramme	45
2.8 Filtrage spatial.....	46
2.9 Opération morphologique.....	47
2.10 Principe de l'anamorphose, technique de segmentation.....	48
2.11 Algorithme du chemin le plus court.....	52
2.12 Recalage rigide d'image	53
2.13 Reconstruction par isosurface	54
2.14 Travaux antérieurs similaires dans la littérature.....	55

CHAPITRE 3	MÉTHODOLOGIE.....	57
3.1	Acquisition de la base de données des images histologiques	58
3.1.1	Base de données.....	58
3.1.2	Colorations histologiques.....	61
3.1.3	Numérisation des lames histologiques.....	62
3.2	Caractérisation transversale : choix d'une méthodologie semi-automatique	62
3.3	Caractérisation transversale : segmentation de la LEE, LEI et la lumière.....	64
3.3.1	Images d'entrées	64
3.3.2	Initialisation du programme.....	65
3.3.3	Détection des contours des zones d'intérêts	66
3.3.4	Ajustement des segmentations.....	68
3.4	Caractérisation transversale : segmentation d'autres zones d'intérêt	68
3.5	Caractérisation transversale quantitative	71
3.6	Recalage rigide.....	73
3.7	Caractérisation longitudinale : la reconstruction 3D des images recalées.....	75
3.8	Création d'interfaces utilisateur.....	76
3.9	Protocole de validation des résultats.....	77
3.9.1	Validation intra utilisateur	77
3.9.2	Validation inter utilisateur	77
3.9.3	Validation qualitative visuelle	78
CHAPITRE4	RÉSULTATS.....	79
4.1	Résultats de la caractérisation transversale.....	81
4.1.1	Résultats de la segmentation.....	81
4.1.2	Résultats du recalage pour un affichage simultané.....	83
4.2	Résultats du recalage et de la caractérisation longitudinale.....	84
4.3	Résultats de la caractérisation quantitative	86
4.4	Résultats de la validation	88
4.4.1	Validation de l'algorithme de caractérisation transversale.....	88
4.4.2	Validation de l'algorithme du recalage.....	90
4.5	Interface graphiques.....	91
4.5.1	Interface de caractérisation transversale.....	91
4.5.2	Interface de recalage	92
4.5.3	Interface de reconstruction 3D.....	94
4.6	Corrélation histologie et élastographie	95
4.6.1	Corrélation des données avec les données d'élastographie transverse	95
4.6.2	Corrélation des données avec les données d'élastographie non invasive	97
CHAPITRE 5	DISCUSSION.....	99
5.1	Segmentation et caractérisation histomorphométrique de coupes transverses	99
5.2	Reconstruction 3D et caractérisation histomorphométrique longitudinale.....	101
CONCLUSION	105
ANNEXE I	EXEMPLE : FICHER EXCEL DE LA CARACTÉRISATION TRANSVERSALE	107

LISTE DES RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	109
Tableau4.1 Évaluation qualitatif visuelle de l’algorithme de caractérisation transversale	90

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1.1	Structure de la paroi vasculaire.....24
Figure 1.2	a) Artère normale, b) artère atteinte d'athérosclérose.....25
Figure 1.3	Processus de l'athérogénèse et formation de la plaque d'athérome26
Figure 1.4	Différents types de plaques vulnérables28
Figure 1.5	Angiographie des artères coronaires montre deux sténoses (flèches)29
Figure 1.6	Les deux principales méthodes pour l'estimation du degré de la sténose de la lumière utilisée en Europe et aux USA, NASCET : North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial, ECST : European Carotid Surgery Trial.....30
Figure 1.7	Morphologie de l'artère versus structure de la paroi artérielle30
Figure 1.8	Image ultrasonore mode B d'une sténose31
Figure 1.9	Image IVUS. La flèche jaune indique la limitante élastique externe et les pointillés bleus indiquent la lumière du vaisseau sanguin. La flèche rouge indique le transducteur.....32
Figure 1.10	Utilisations du TDM pour la détection des plaques vulnérables33
Figure 1.11	Image IRM transverse. Les flèches indiquent deux plaques d'athéromes dans la carotide interne et externe34
Figure 1.12	a) Élastogramme d'une coupe histologique b) Image IVUS de la même coupe histologique36
Figure 1.13	a) et b) Image IVUS transversale c) Elastogramme des déformations. d) Histogramme de la rigidité du tissu.....37
Figure 1.14	a) Image échographique. b) Déformations axiales du tissu. c) Représentation graphique de la déformation axiale de la région RI3. d) Distribution des contraintes de déformation dans le tissu imagé38
Figure 1.15	a) Image échographique. b) Représentation de la déformation des deux zones identifiées sur l'image échographique c) Élastogramme de la déformation axiale. d) Élastogramme des cisaillements de la région.....39
Figure 2.1	Présentation d'une image couleur dans un espace RGB42

Figure 2.2	Représentation spatiale de l'espace HSV	43
Figure 2.3	Représentation spatiale du modèle de l'espace couleur $L.*a.*b$	44
Figure 2.4	(a) histogramme d'une image (b) le résultat de l'égalisation de (a)	45
Figure 2.5	Exemple d'interpolation où les contours sont partiellement inexistantes ...	49
Figure 2.6 a)	Image d'un cercle I bruité b) l'image I filtrée avec un filtre conventionnel	50
Figure 2.7 a)	Une forme a priori de la zone d'intérêt. b) Image initiale I, en rouge la forme a priori et en bleu les vecteurs normaux. La zone jaune est définie par le vecteur d'échantillonnage. c) Image dans le sous espace développé. d) Élimination du bruit et détection des contours dans l'image anamorphosée. e) Image filtrée et contours détectés	51
Figure 2.8 a)	Carte de distance orientée vers le bas. b) Carte de distance orientée vers le haut. c) Carte de coût. d) Extraction du chemin le plus court à partir de la carte de distance.....	52
Figure 3.1	Organigramme de la méthodologie du travail en fonction des objectifs du projet	58
Figure 3.2	Coupe histologique du porc 32 après colorations HPS, un grossissement de 25x	59
Figure 3.3	Coupe histologique du porc 27 après coloration VanKossa, $G = 25x$	60
Figure 3.4	Coupe histologique du porc 32 après coloration Movat, montrant les LEI, LEE	60
Figure 3.5	Le système digital Nanozoomer.....	61
Figure 3.6	Deux colorations de la même coupe histologique Coloration SiriusRed , b) Coloration VanKoss	62
Figure 3.7	Exemple de LEI endommagée est indiquée par des flèches	63
Figure 3.8	Lumière et zones à caractéristiques similaires.....	63
Figure 3.9 a)	Image présentée en espace $L.*a.*b$, b) La composante de luminance de l'espace $L.*a.*b$, c) La composante de chrominance de l'espace $L.*a.*b$	65
Figure 3.10	Création d'une forme a priori de la zone LEI.....	66

Figure 3.11	a) Image présentée dans l'espace sous développé, b) La composante du gradient suivant l'axe x, c) Détection des contours par l'algorithme du chemin le plus court.....	67
Figure 3.12	Résultat de la segmentation de la LEI (en rouge) après l'anamorphose..	68
Figure 3.13	Outil Matlab d'ajustement de contraste.....	69
Figure 3.14 a)	Coloration V _{koss} d'une coupe histologique, b) Composante de luminance de l'image de a). c) Composante de luminance dont les niveaux de gris sont modifiés.	70
Figure 3.15	Détection des calcifications par anamorphose à partir d'une image à contraste modifié manuellement. a)Image originale b) Image anamorphosée. d) Prétraitement de l'image anamorphosée et détection des contours. c) Transfert des contours sur l'image originale	71
Figure 3.16	Interface Matlab de sélection des points de contrôle. À droite l'image de base et à gauche l'image à recaler.....	73
Figure 3.17	a) Affichage de l'image de base, b) l'image à recaler c) symétrie de l'image à recaler selon X, d) symétrie de l'image à recaler selon Y.	75
Figure 3.18	Reconstruction 3D de la LEI d'une série d'image du porc 27	76
Figure 4.1	Schéma de la réalisation des coupes histologiques.....	79
Figure 4.2	Même coupe histologique avec deux colorations différentes a) Coloration HPS et b) Coloration Movat	80
Figure 4.3	Coupes histologiques dont les paramètres sont endommagés. a) Une néointima très importante au niveau de la media. b) Une media très endommagé à cause d'un fil de suture.....	80
Figure 4.4	Segmentation des paramètres histologiques d'une coupe histologique du porc23	81
Figure 4.5	Segmentation des paramètres histologiques d'une coupe histologique du porc27	82
Figure 4.6	caractérisations des calcifications sur une coupe histologique de la carotide droite du porc 27	82
Figure 4.7	a) Caractérisation des calcifications et b) caractérisations	83
Figure 4.8	Fusion des caractérisations de la figure 4.7 et la figure 4.8.....	84

Figure 4.9	Recalage de deux images s�riees	85
Figure 4.10	Reconstruction longitudinale de la paroi vasculaire d'un segment de la carotide du porc 27	86
Figure 4.11	Rétrécissement intra luminal en fonction de la distance de la bifurcation carotidienne pour le porc 27	87
Figure 4.12	Surface relative de la media en fonction de la distance de la bifurcation carotidienne pour le porc 27	87
Figure 4.13	évaluation de la validation intra-utilisateur de l'algorithme de caractérisation transversale	88
Figure 4.14	évaluation de la validation inter-utilisateur de l'algorithme de caractérisation transversale	89
Figure 4.15	évaluation de la validation inter-utilisateur et intra-utilisateur de l'algorithme de caractérisation longitudinale.....	91
Figure 4.16	Interface utilisateur de la caractérisation transversale	93
Figure 4.17	Interface utilisateur recalage	93
Figure 4.18	Interface utilisateur de reconstruction 3D.....	94
Figure 4.19	Graphe présentant le patron de déformation d'un segment de la carotide droite du porc 27.	96
Figure 4.20	Pourcentage de rétrécissement intra luminele en fonction de la distance à la bifurcation pour la carotide droite du porc 27.....	96
Figure 4.21	a) Caractérisation par élastographie. b) Caractérisation histomorphométrique transversale	97
Figure 4.22	a) Présentation d'un �lastogramme NIVE de la carotide droite du porc 27 b) Caractérisation longitudinale de la même artère	98

INTRODUCTION

Au Québec, comme dans toutes les sociétés industrialisées, les maladies cardiovasculaires figurent au premier rang des causes de décès. L'athérosclérose est la pathologie cardiovasculaire la plus fréquente. C'est une maladie inflammatoire chronique qui altère la paroi des vaisseaux sanguins. Histologiquement, la lésion de l'athérosclérose commence à se développer par un remodelage de la paroi vasculaire et continue à se développer jusqu'à la formation d'une plaque complexe, avec un rétrécissement important de la lumière du vaisseau sanguin. On sait maintenant que les risques associés à une plaque d'athérome ne dépendent pas tant de la taille de la plaque que de ses constituants, qui déterminent sa vulnérabilité. Une plaque *d'athérome* vulnérable présente un grand risque de rupture. Par conséquent, elle peut mener à une occlusion soudaine d'artères, et donc à des accidents cérébraux vasculaires, un infarctus et autres ischémies. Identifier la nature de la plaque d'athérome et évaluer sa stabilité mécanique permet la prévention de ces conséquences cliniques. Cela aidera en effet les cliniciens à faire le suivi du développement de l'athérosclérose et à identifier les patients à risques élevés de mort soudaine et nécessitant une intervention. Les études histologiques menées dans ce projet ont permis d'établir une définition du concept de la plaque vulnérable, et de définir les biomarqueurs des plaques vulnérables.

Actuellement, il existe plusieurs modalités d'imageries pour diagnostiquer l'athérosclérose. Le chapitre de la revue de littérature montrera que ces dernières se concentrent sur la quantification du degré de sténose et sur l'évaluation qualitative de la morphologie de la paroi vasculaire. Quelques-unes de ces techniques comme le "CT-Scan" et l'IRM permettent la visualisation de certains constituants de la plaque, mais leur utilisation présente plusieurs inconvénients, comme les coûts élevés, le taux de radiation et le manque de disponibilité.

L'élastographie ultrasonore vasculaire est une nouvelle approche prometteuse d'imagerie qui permet de fournir des renseignements sur les caractéristiques biomécaniques de la paroi vasculaire et de la plaque d'athérosclérose, ce que les autres modalités d'imagerie ne révèlent

pas. Cette technique est actuellement utilisée pour diagnostiquer la fibrose hépatique (maladie du foie), et le cancer du sein et de la prostate.

Le développement des techniques d'imagerie médicale pour l'étude des pathologies cardiovasculaires figure parmi les activités de recherche du Laboratoire de Biorhéologie et Ultrasonographie Médicale (LBUM) au centre de recherche du CHUM (CRCHUM, Montréal). L'élastographie vasculaire est l'une de ces techniques. Elle permet de caractériser les propriétés biomécaniques de la paroi vasculaire et d'évaluer la vulnérabilité des plaques d'athérome. Il existe deux types d'élastographie vasculaire: l'élastographie vasculaire non intrusive (NIVE) et l'élastographie endovasculaire ultrasonore (EVE).

Ce mémoire s'effectue dans le cadre d'un objectif général de validation de ces deux dernières modalités d'imagerie au LBUM, avec l'aide des Drs Soulez et Lerouge. Toute l'équipe cherche à prouver l'efficacité de l'élastographie à caractériser qualitativement et quantitativement les plaques vulnérables, par deux volets :

- Premièrement, par une comparaison des résultats de la simulation mathématique avec des fantômes expérimentaux. Il s'agit d'évaluer la précision et l'exactitude des estimations des contraintes mécaniques.
- Deuxièmement, par corrélation entre les résultats obtenus de l'analyse élastographique et de l'analyse histomorphométrique des artères athérosclérotiques d'un modèle animal diabétique (Porc Sinclair).

L'objectif général de ce mémoire de maîtrise s'inscrit dans le deuxième volet de validation. Il consiste à développer des outils de segmentation de coupes histologiques transverse puis de reconstruction 3D qui permettront de corréler les données histologiques des plaques d'athéromes vulnérables avec les données de l'élastographie. En particulier, la technique est appliquée aux spécimens du projet de la validation de l'élastographie.

La technique d'analyse histomorphométrique se base initialement sur une segmentation 2D des différentes zones d'intérêts de la coupe histologique de l'artère. Les résultats de cette analyse permettront une corrélation avec l'élastographie transversale. Ultérieurement, une visualisation 3D des résultats de la segmentation 2D permettra l'analyse de la morphologie

des constituants de la plaque. Ces résultats seront ensuite corrélés avec les résultats de l'élastographie longitudinale.

Le contenu de ce mémoire est divisé en cinq chapitres. Le premier chapitre présentera la revue de littérature sur l'athérosclérose, les plaques vulnérables et les méthodes d'imageries, notamment l'élastographie. La mise en contexte de ce mémoire de maîtrise y sera aussi présentée. Le deuxième chapitre présentera la définition des principales techniques de traitement d'image utilisées dans ce travail. Les méthodes de segmentation et de reconstruction 3D employées seront présentées au troisième chapitre. Le quatrième chapitre présentera les résultats, tandis qu'au chapitre cinq on discutera des résultats, de leur comparaison avec les études antérieures, de la méthodologie et des limites du travail.

CHAPITRE 1

ARTÈRE ET EXPLORATION DE PLAQUES VULNÉRABLES

1.1 Anatomie de la paroi vasculaire

La paroi artérielle normale est généralement constituée de trois tuniques: l'intima, la media et l'adventice, comme le présente la figure 1.1.

L'intima est la tunique intérieure de la paroi vasculaire. Elle est limitée de l'intérieur par des cellules endothéliales plates pour faciliter la circulation du flux sanguin. De l'extérieur elle est limitée par la limitante élastique interne LEI. Cette dernière est une lame formée principalement d'élastine structurée. Elle permet l'échange des substances entre l'intima et la media.

La media est la tunique intermédiaire de la paroi vasculaire, elle est constituée de cellules musculaires lisses et d'élastine. La media assure la fonction de dilatation et de rétrécissement des vaisseaux sanguins. Elle est limitée par les deux membranes élastiques: la limitante élastique interne (LEI) côté intima et la limitante élastique externe (LEE) coté adventice.

L'adventice est la tunique externe des vaisseaux sanguins. C'est un tissu conjonctif formé de grandes quantités de collagène, de quelques fibroblastes et de cellules adipeuses (Chapman, 2003; Léoni, 2001; Marieb, 2005; Toussaint et al., 2003).

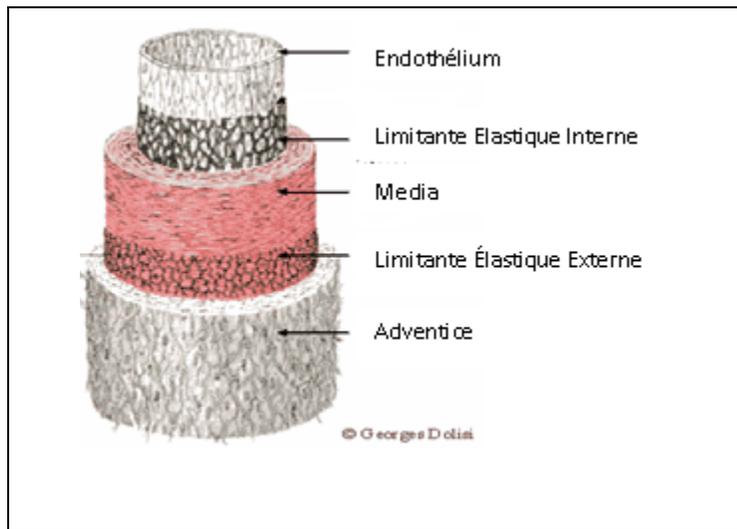


Figure 1.1 Structure de la paroi vasculaire
Tirée de Cohen (1997) et Léoni (2001)

1.2 Athérosclérose

L'athérosclérose est une pathologie incontrôlée, une maladie anatomiquement diffuse, qui se développe silencieusement. Le terme athérosclérose désigne la perte d'élasticité de l'artère, car le terme « sclérose » signifie la dégénérescence fibreuse du tissu de la paroi artérielle. L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a défini l'athérosclérose en 1954 comme étant une association variable de remaniements de l'intima des artères de gros et moyen calibre consistant en une accumulation locale de lipides, de glucides complexes, de sang et de produits sanguins, de tissu fibreux et de dépôt calcaire; le tout s'accompagnant de modifications de la media", (Toussaint et al., 2003 et Léoni, 2001).

Plusieurs études épidémiologiques ont prouvé que la lésion de l'athérosclérose passe par différents stades évolutifs, jusqu'à la formation d'une plaque d'athérome. Celle-ci cause un rétrécissement de la lumière de l'artère jusqu'à parfois l'occlusion complète (voir figure 1.2) (Chapman, 2003 et Marieb, 2005).

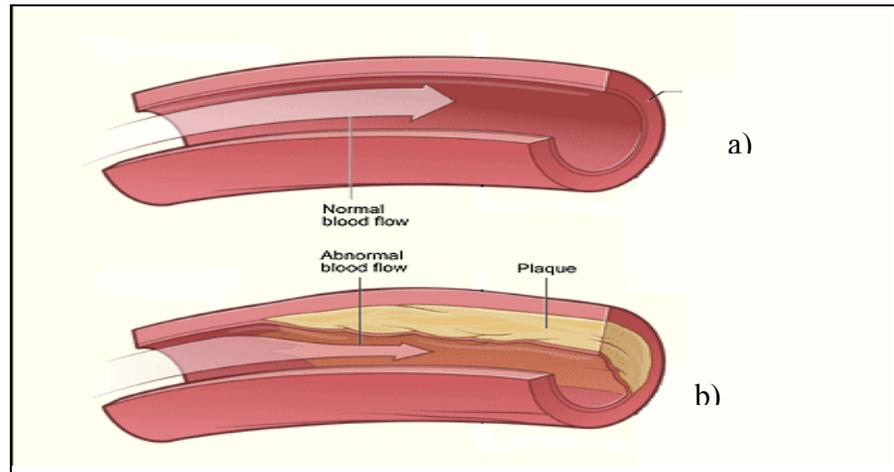


Figure 1.2 a) Artère normale, b) artère atteinte d'athérosclérose
Tirée et modifiée de (NIH, 2009)

1.2.1 L'athérogénèse et développement d'une plaque d'athérome

Il s'agit d'un déséquilibre des entrées et sorties des molécules de lipoprotéines de faible densité (LDL) au niveau de l'intima de la paroi artérielle. Ceci cause une accumulation des molécules, ce qui déclenche le processus de l'athérosclérose. Celui-ci altère l'endothélium de la paroi vasculaire. Les cellules endothéliales de la région endommagée commencent à disparaître et facilitent la pénétration du LDL circulant dans le sang (Marieb, 2005 et Mitra et al., 2004).

L'oxydation des molécules LDL accumulées au niveau de l'intima déclenche une réaction inflammatoire chronique et active le recrutement des monocytes. Ces derniers se transforment en macrophages pour épurer la zone des grandes quantités des LDL oxydées, puis ensuite en cellules spumeuses une fois qu'elles ont capté leur cible. L'agglomération de ces cellules forme des stries lipidiques (athérome). La progression du processus de l'athérosclérose stimule ensuite la migration des cellules musculaires lisses (CML) de la média vers l'intima. Elles se placent sous l'endothélium de la lésion et commencent à proliférer et produire du collagène et des fibres d'élastines, c'est ce qu'on appelle la matrice extracellulaire. Ces réarrangements donnent naissance à une plaque d'athérome formée d'un cœur lipidique et enveloppée par une chape fibreuse. Plus le processus évolue, plus le taux de

la matrice extracellulaire devient important: c'est ce qu'on appelle une plaque fibro-lipidique (Falk, 2006; Léoni, 2001; Toussaint et al., 2003; Virmani et al., 2006).

La mort cellulaire ou l'apoptose des CML, des cellules endothéliales et des macrophages, introduit plusieurs autres phénomènes. La mort des cellules endothéliales provoque l'érosion de la plaque. Ensuite, les plaquettes sanguines viennent s'agglomérer et adhérer à la zone d'ulcération, c'est la formation du thrombus (Mitra et al., 2004). La différenciation des cellules musculaires lisses en cellules osseuses cause l'apparition des calcifications dans la plaque athéromateuse (Corvol, 2007-2008). La figure 1.3 illustre tout le processus expliqué ci-dessus.

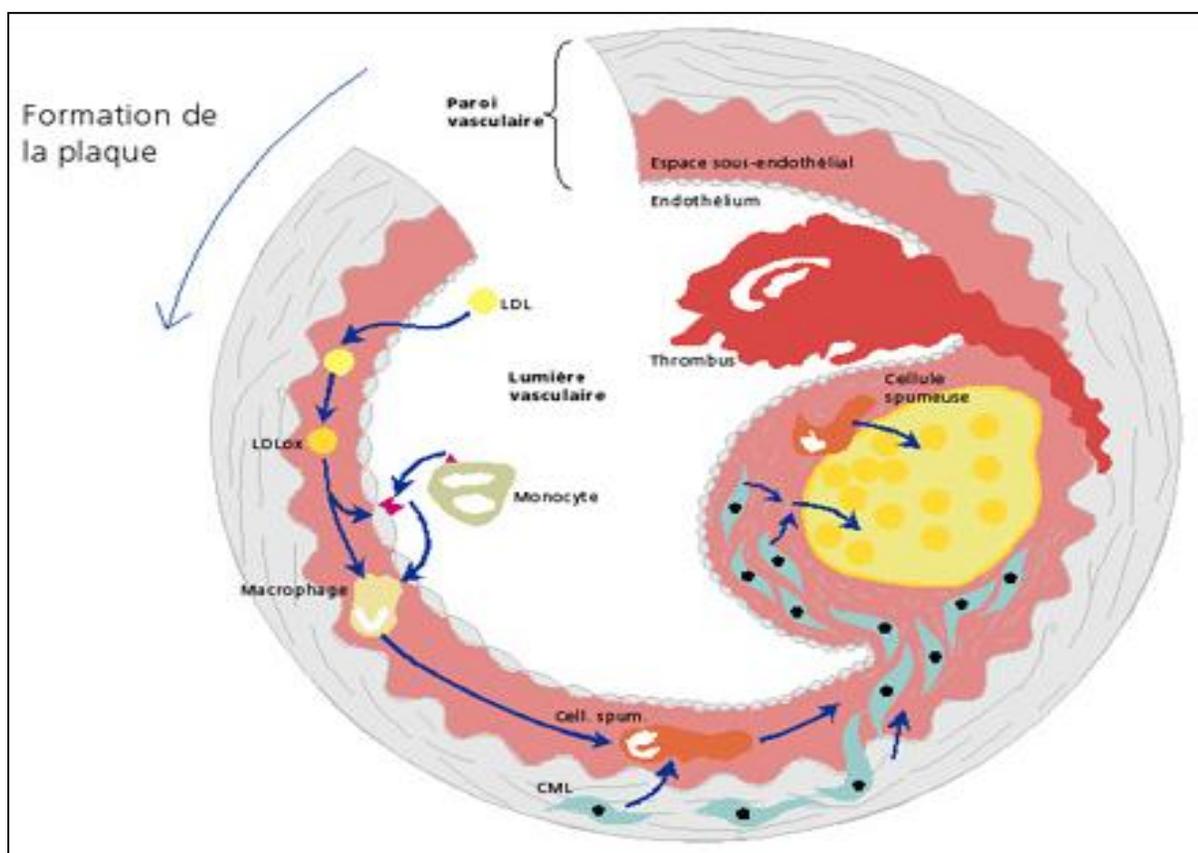


Figure 1.3 Processus de l'athérogénèse et formation de la plaque d'athérome
Tirée de Cohen (1997) et Léoni (2001)

L'American Heart Association Committee on Vascular Lesions a effectué un classement des lésions d'athérosclérose, après avoir effectué plusieurs études anatomopathologiques et épidémiologiques de l'athérosclérose. Il s'agit d'une évolution de lésions et qu'on classe en 6 types de lésions dépendamment de la composition histologique, de la structure et de son caractère évolutif (Mitra et al., 2004; Stary et al., 1995; Virmani et al., 2006).

- Les types I et II sont souvent détectés chez les enfants à l'âge de la puberté. Ces lésions sont sous forme de faibles stries lipidiques.
- Le type III est un regroupement des gouttelettes lipidiques extracellulaires.
- Le type IV est un large cœur lipidique instable, qu'on nomme athérome.
- Le type V est sous forme d'un cœur lipidique couvert d'une chape fibreuse et peut contenir des calcifications.
- Le type VI est une forme plus compliquée du type V. Il peut contenir des ulcérations, des hémorragies et de la thrombose (Mitra et al., 2004).

Cependant, les deux derniers types de lésions sont nommés des plaques vulnérables.

1.2.2 Plaque vulnérable

Une plaque vulnérable est une plaque instable mécaniquement, à grand risque de rupture. Sa rupture peut causer une embolie ou une sténose complète de l'artère. Des plaques d'athéromes de ce type, situées au niveau des artères du cœur (coronaires) peuvent mener à l'infarctus du myocarde, tandis que la rupture d'une plaque au niveau de la carotide (artères menant au cerveau) peut provoquer un accident vasculaire cérébral (Toussaint, 2003). La figure 1.4 présente les différents types de plaques vulnérables (Mitra et al., 2004; Lau et al., 2004; Broisat et al., 2005).

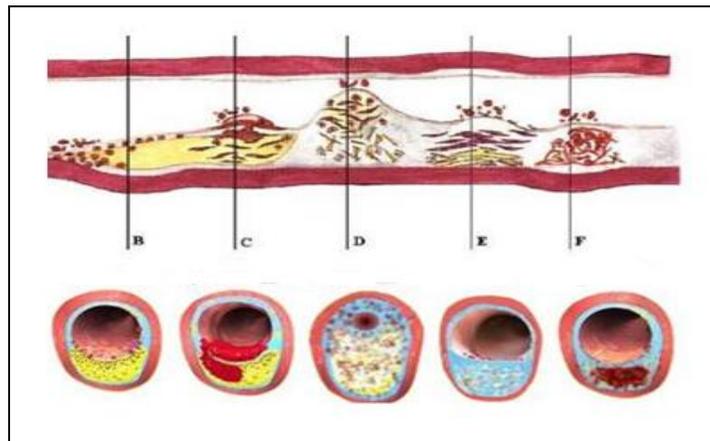


Figure 1.4 Différents types de plaques vulnérables
Tirée de Shape society (2009)

L'identification des types de plaques vulnérables et ses composants histologiques permettront de décrire les bio-marqueurs d'une plaque vulnérable. Le développement d'une plaque d'athérome produit plusieurs types de plaques. Les plus importants sont expliqués ci-dessus :

La plaque de type B est la plus sujette à la rupture. Elle est souvent constituée d'un large cœur lipidique, une mince chape fibreuse. Il s'agit d'une réaction inflammatoire chronique.

La plaque de type C est une plaque instable à cause du phénomène apoptotique. Les différentes fissures de la plaque activent l'agglomération des plaquettes sanguines et donc la formation du thrombus.

La plaque de type D est une plaque très développée avec une sténose chronique. Ceci peut être causé par la réorganisation du thrombus et par la formation des grandes quantités de calcifications.

La plaque de type E est une plaque érodée, résultats de la dégradation de la matrice extracellulaire et de la diminution du volume de la chape fibreuse. Elle présente toujours un risque de thrombose.

La plaque de type F est une lésion vulnérable où l'épaisseur de la paroi vasculaire augmente et des néovaisseaux fragiles se forment pour nourrir le nouveau tissu. Ils sont responsables de microhémorragies intra-plaque qui déstabilisent la lésion.

1.3 Techniques d'imagerie pour la caractérisation des plaques vulnérables

La section suivante résume les différentes modalités d'imagerie actuellement disponibles pour la détection des plaques d'athéromes vulnérables.

1.3.1 Angiographie

L'angiographie présente encore un outil de diagnostic indispensable, elle est considérée comme l'étalon d'or pour l'évaluation de l'athérosclérose. Elle nécessite l'insertion d'un cathéter dans les artères afin de diffuser un produit de contraste radio-opaque. Les images sont prises à l'aide d'un tube à rayons X et d'un détecteur. L'angiographie permet la visualisation de la morphologie de l'artère et de la sévérité du rétrécissement de la lumière artérielle (ou la sténose).



Figure 1.5 Angiographie des artères coronaires
montre deux sténoses (flèches)
Tirée de Ibanez, et al (2009)

Le degré de sténose est mesuré par différentes techniques. La figure 1.6 explique les deux techniques majeures pour le calcul de la sténose. Cependant, mesurer la sténose ou imager la morphologie de la lumière artérielle ne sont pas des critères suffisants pour déterminer la vulnérabilité de la plaque d'athérome. La figure 1.7 présente un exemple de caractérisation de deux lumières d'artères, avec une structure de paroi vasculaire très différente.

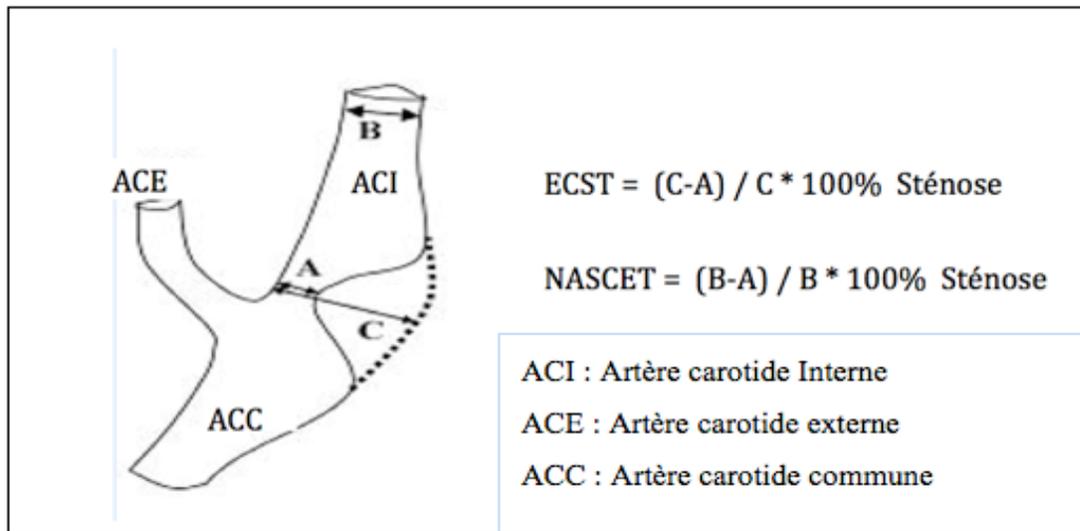


Figure 1.6 Les deux principales méthodes pour l'estimation du degré de la sténose de la lumière utilisée en Europe et aux USA, NASCET : North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial, ECST : European Carotid Surgery Trial
 Tirée de Trivedi, et al (2008)

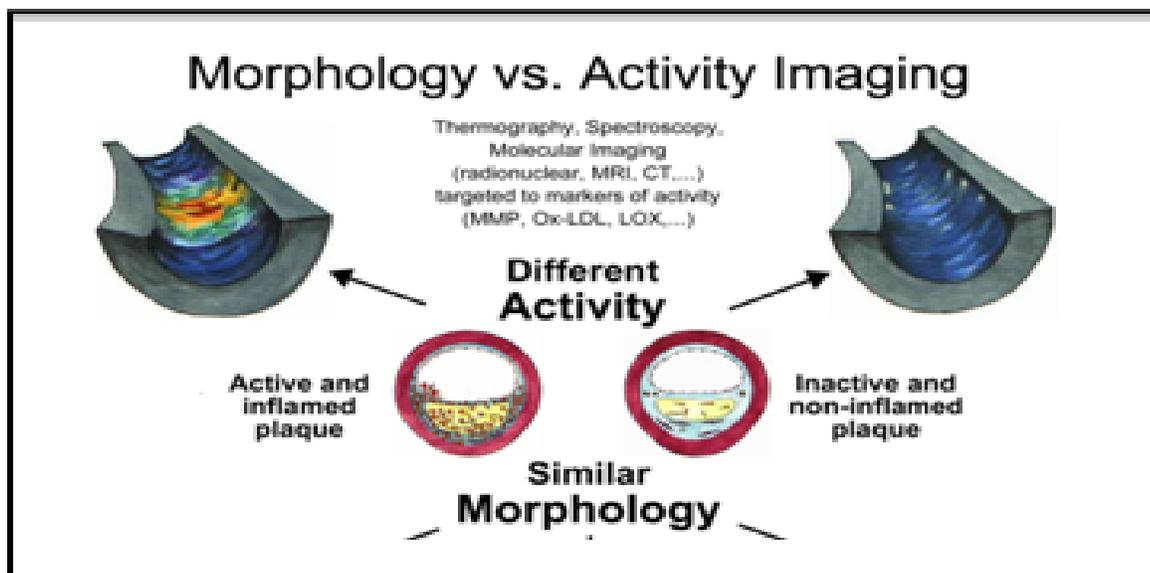


Figure 1.7 Morphologie de l'artère versus structure de la paroi artérielle
 Tirée de Naghavi et al. (2003)

L'angiographie est une technique qui ne permet pas de caractériser toutes les composantes de la paroi artérielle. Elle ne permet qu'une visualisation longitudinale. De plus, puisque les radiographies sont prises sous différents angles de vue, des variations entre les différentes images peuvent survenir. Enfin, cette modalité est efficace pour l'évaluation, mais invasive et expose le patient à une importante quantité de rayonnements (Hamdan et al.,2007).

1.3.2 Échographie ultrasonore en mode B

L'image échographique (image de brillance) est obtenue à partir des réflexions (échos) des ultrasons émis par la sonde (transducteur ultrasonore) sur les différentes structures de la zone imagée de la paroi artérielle (voir figure1.8). Les structures brillantes expriment un coefficient de réflexion très grand. L'hétérogénéité des images mode B peut être classée subjectivement à l'œil. Cependant, il est difficile de distinguer les zones inflammatoires ou fibreuses des zones lipidiques. En couplant l'échographie mode B à l'effet doppler, on peut évaluer la vulnérabilité de la sténose par mesure de l'accélération du flux sanguin autour de la sténose. L'échographie est généralement utilisée pour une première évaluation de la sténose des artères superficielle comme les carotides et une sélection préliminaire des personnes à risque d'occlusion (Hamdan et al., 2007; Trivedi et al., 2008).

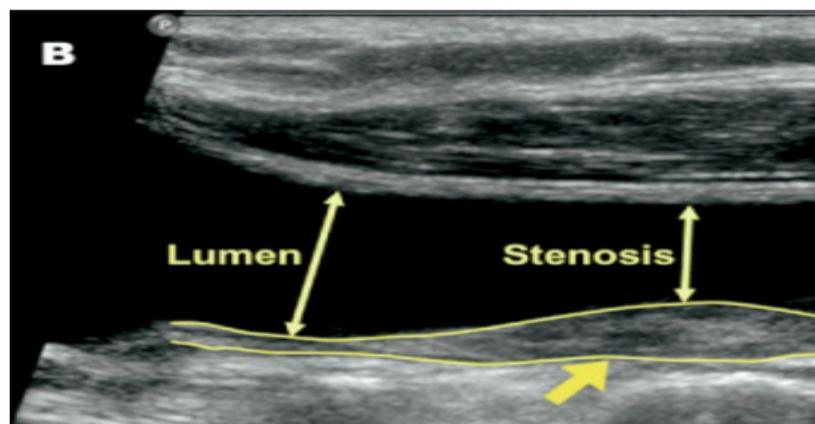


Figure 1.8 Image ultrasonore mode B d'une sténose
Tirée de Ibanez, et al (2009)

1.3.3 Échographie intra vasculaire (IVUS)

Le principe de l'échographie intra vasculaire (IVUS) est le même que l'échographie externe, mais avec un cathéter transducteur qui est introduit dans l'artère. Ce dernier utilise les propriétés piézo-électriques pour émettre et capter le faisceau ultrasonore et pouvoir constituer une image en temps réel. L'IVUS permet une bonne caractérisation de la paroi vasculaire. Elle permet de faire la distinction entre la lumière, l'intima et la limitante élastique interne. Elle permet de détecter les différentes régions de la plaque explorée. On peut analyser qualitativement les dépôts lipidiques, les calcifications et les régions fibreuses. Cependant, cette technique ne permet qu'une caractérisation qualitative et sommaire de composants de l'artère explorée. Elle ne fournit donc pas des informations quantitatives sur le comportement mécanique de la paroi vasculaire (Ibanez et al., 2009).

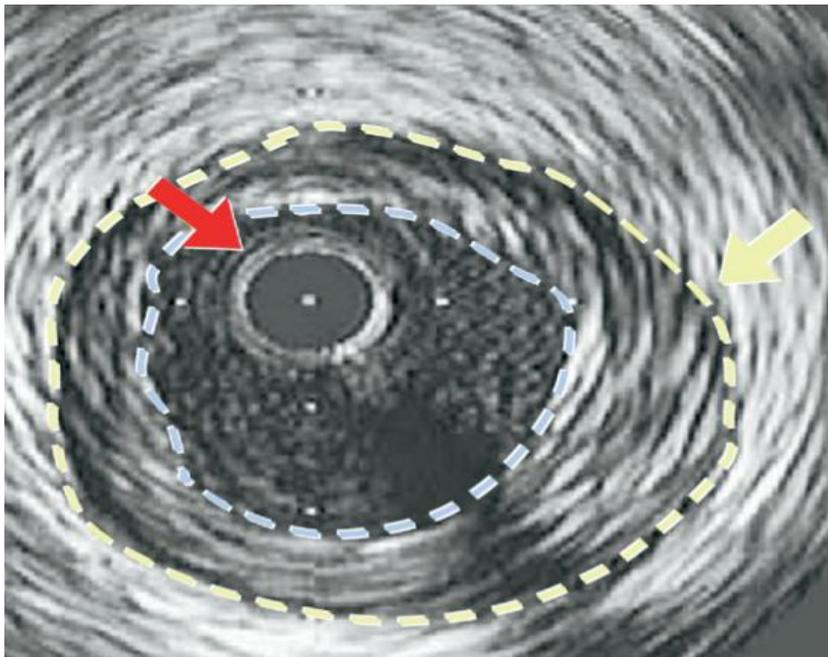


Figure 1.9 Image IVUS. La flèche jaune indique la limitante élastique externe et les pointillés bleus indiquent la lumière du vaisseau sanguin. La flèche rouge indique le transducteur
Tirée de Ibanez, et al (2009)

1.3.4 Tomodensitométrie (TDM)

La TDM produit des images à l'aide des rayons X. Ces derniers sont générés par un tube radiogène qui tourne autour du patient. Ceci permet l'acquisition des coupes anatomiques axiales du corps humain. On peut aller chercher plus d'informations sur les structures imagées en fonction du taux de radiation et du nombre des détecteurs. C'est une technique rapide et qui permet une bonne évaluation qualitative de la plaque d'athérome. De plus, plusieurs études ont signalé la bonne quantification des calcifications par les images CT, avec une résolution temporelle et spatiale meilleure. Cependant, la TDM ne permet pas une bonne distinction entre les structures des tissus mous, et le taux d'irradiation des patients lors de l'examen est élevé.

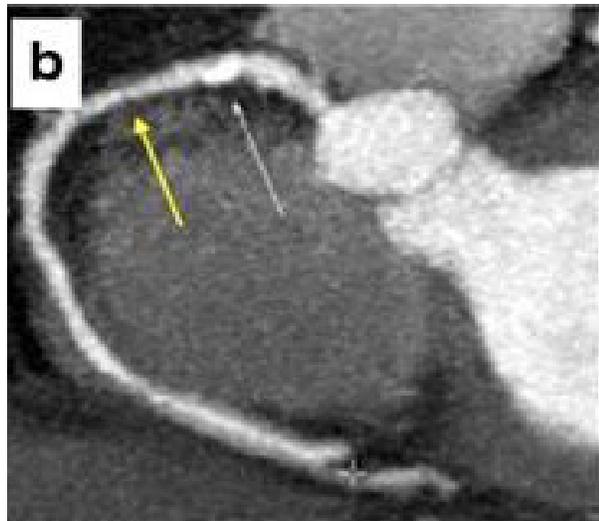


Figure 1.10 Utilisations du TDM pour la détection des plaques vulnérables
Tirée de Hamdan et al (2007)

1.3.5 Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

L'IRM produit un champ magnétique constant pour aligner les protons de l'atome d'hydrogène présents dans le corps humain. Après l'application d'impulsions radiofréquence, ces protons se relaxent et retournent à l'état d'alignement initial en émettant un signal radiofréquence, qui dépend des temps de relaxation T1 et T2. Ces derniers varient dépendamment de l'environnement moléculaire entourant l'atome d'hydrogène. Ce qui

permet d'identifier les différents composants du tissu imagé. La haute sensibilité de l'IRM face aux mouvements cardiaques et respiratoires ne permet pas d'acquérir des images à une bonne résolution pour caractériser les plaques vulnérables. De plus, le coût élevé d'un examen IRM limite son utilisation. Plusieurs études sont en cours pour prouver l'efficacité de l'IRM avec l'utilisation des agents de contraste qui ciblent des molécules spécifiques des plaques d'athérome (Hamdan et al., 2007; Ibanez et al., 2009).

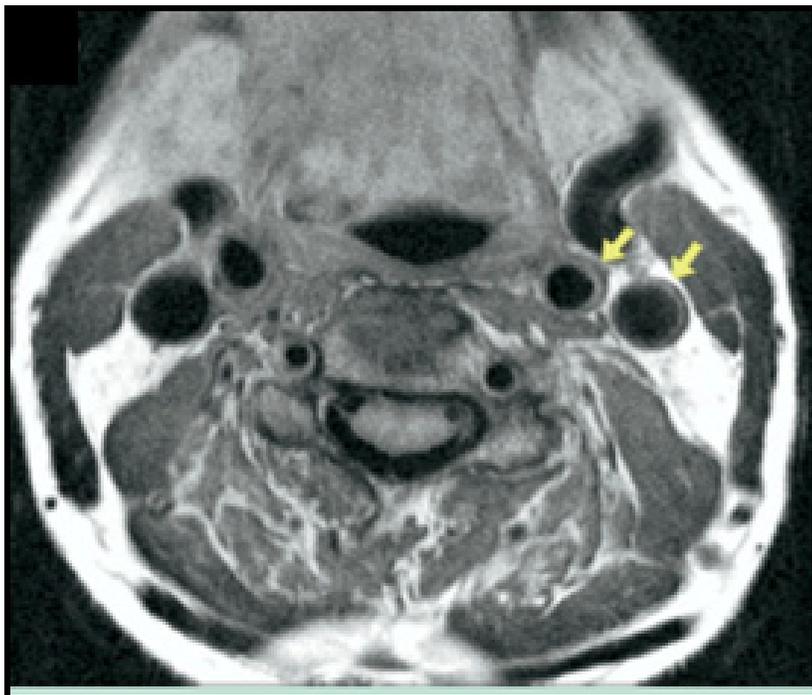


Figure 1.11 Image IRM transverse. Les flèches indiquent deux plaques d'athéromes dans la carotide interne et externe
Tirée de Ibanez, et al (2009).

1.4 L'élastographie ultrasonore

L'élastographie est une nouvelle modalité d'imagerie médicale qui permet de caractériser mécaniquement le tissu normal et pathologique. Le principe de l'élastographie introduit par Ophir *et al.* (1999) consiste à appliquer une force de compression externe quasi-statique sur le tissu exploré. À partir de la séquence d'images pré et post compression, on peut calculer les déformations internes du tissu, estimer le mouvement interne du tissu et déduire une évaluation des propriétés mécaniques à l'aide du module de Young. Celui-ci permet

d'exprimer les propriétés mécaniques du tissu et il est défini par l'équation de Hook (équation 1.1), où σ présente la contrainte uniaxiale, ε la déformation axiale et E le module de Young.

$$\sigma = E \times \varepsilon \quad (1.1)$$

L'élastographie ultrasonore vasculaire est une nouvelle approche de l'imagerie vasculaire. Elle permet de cartographier les caractéristiques mécaniques du tissu de la paroi vasculaire, c'est ce qu'on appelle un élastogramme.

Le laboratoire de biorhéologie et ultrasonographie médicale du Dr Cloutier au CRCHUM développe en parallèle deux modalités d'élastographie : l'élastographie endovasculaire ultrasonore (EVE) et l'élastographie vasculaire non-intrusive (NIVE).

1.4.1 L'élastographie endovasculaire ultrasonore (EVE)

L'élastographie intra-vasculaire est une technique invasive, elle caractérise l'élasticité de la paroi vasculaire à l'aide d'un cathéter IVUS. En introduisant la sonde IVUS, celle-ci commence à recueillir les images échographiques pour la caractérisation mécanique de la paroi artérielle. Pour cet objectif, un algorithme de minimisation non linéaire (Lagrangian Speckle Model Estimator, LSME) a été développé (Maurice *et al.*, 2005). Cet algorithme permet de calculer un élastogramme 2D, c'est-à-dire de cartographier les déformations et les cisaillements axiaux et latéraux du tissu examiné. Les déformations permettent de distinguer les matériaux de la paroi alors que les cisaillements permettent d'estimer la vulnérabilité de la plaque d'athérome (Cloutier, 2006; Mercure, 2006; Schmitt, 2005). La figure 1.12 montre un exemple d'élastogramme et l'image IVUS correspondante d'une coupe histologique d'un vaisseau sanguin atteint d'athérosclérose.

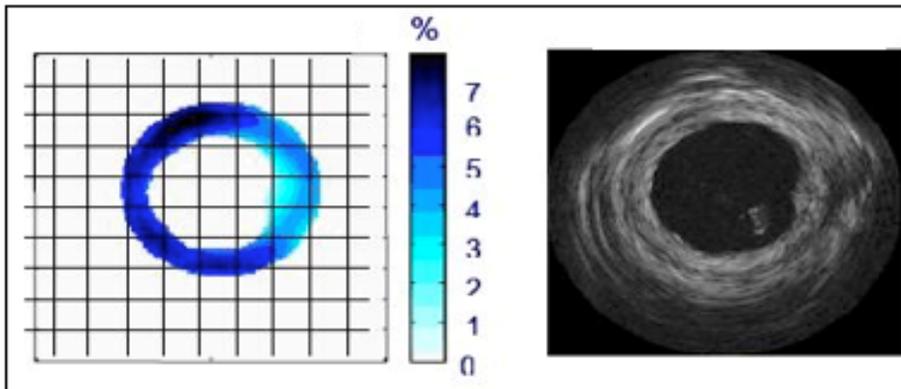


Figure 1.12 a) Élastogramme d'une coupe histologique
 b) Image IVUS de la même coupe histologique
 Tirée et modifiée de Cloutier (2006)

Dans la perspective d'une validation de la EVE, des images RF de patients avec des maladies coronariennes et ayant eu un cathétérisme cardiaque, sont utilisées par l'équipe de Guy Cloutier LBUM. Les figures 1.13 a) et b) montrent une image IVUS B-mode avec une segmentation manuelle de la plaque d'athérome. La figure 1.13 c) présente l'élastogramme correspondant. Cette image cartographie les valeurs de déformation radiale. La figure 1.13 d) représente les informations de la figure 1.13 c) où on remarque que l'élasticité de la paroi vasculaire normale est de 0.1%, alors que celle de la paroi pathologique est de 0.25-0.4%.

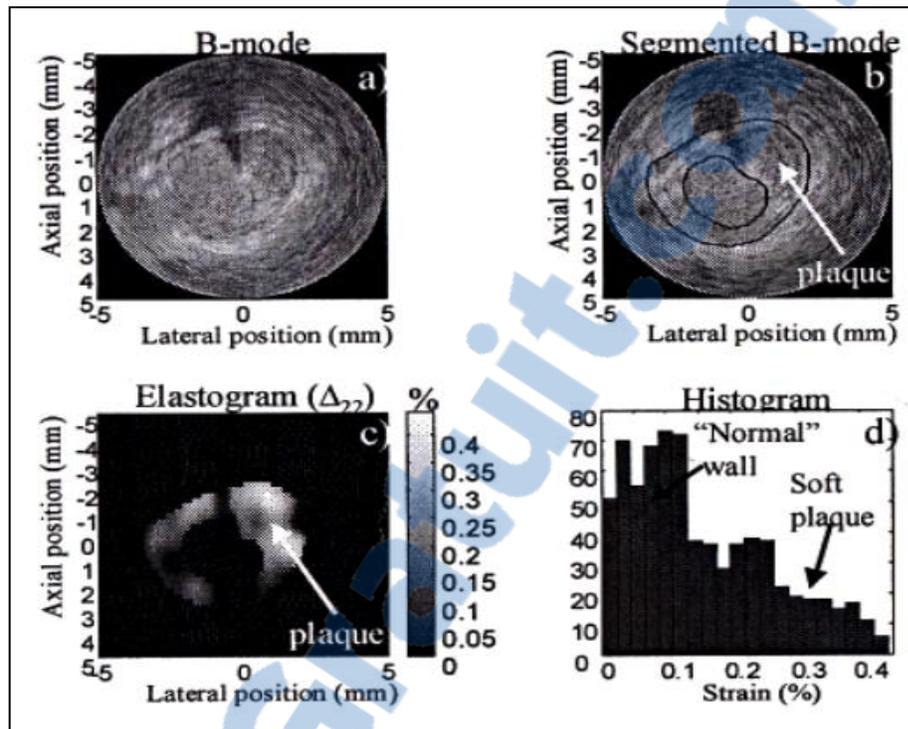


Figure 1.13 a) et b) Image IVUS transversale c) Elastogramme des déformations. d) Histogramme de la rigidité du tissu

1.4.2 L'élastographie vasculaire non-intrusive (NIVE)

C'est une technique utile pour l'exploration des vaisseaux sanguins superficiels. Cette fois la technique est non invasive, le diagnostic est réalisé à l'aide d'une sonde ultrasonore extracorporelle posée sur la peau. La NIVE fournit des images transversales et axiales de la zone imagée.

Lors de l'analyse transversale, le faisceau ultrasonore est orienté axialement, tandis que le mouvement de la paroi vasculaire est radial. Lors de l'analyse longitudinale, le mouvement de la peau n'est pas toujours dans le même sens que le vaisseau sanguin. Cependant le LSME permet de calculer l'élastogramme indépendamment de l'orientation. La NIVE produit ainsi un élastogramme longitudinal de la déformation axiale du tissu (Cloutier, 2006; Mercure, 2006; Schmitt et al., 2007; Schmitt, 2005).

La figure 1.14 a) présente une image longitudinale B-mode de la carotide de sujets normaux et la figure 1.14 b) la déformation axiale cumulative durant le cycle cardiaque pour la région d'intérêt. La figure 1.14 c) présente la déformation axiale durant le cycle cardiaque pour la région d'intérêt (RI-3) identifiée sur la figure 1.14 b). La figure 1.14 d) présente la distribution des déformations.

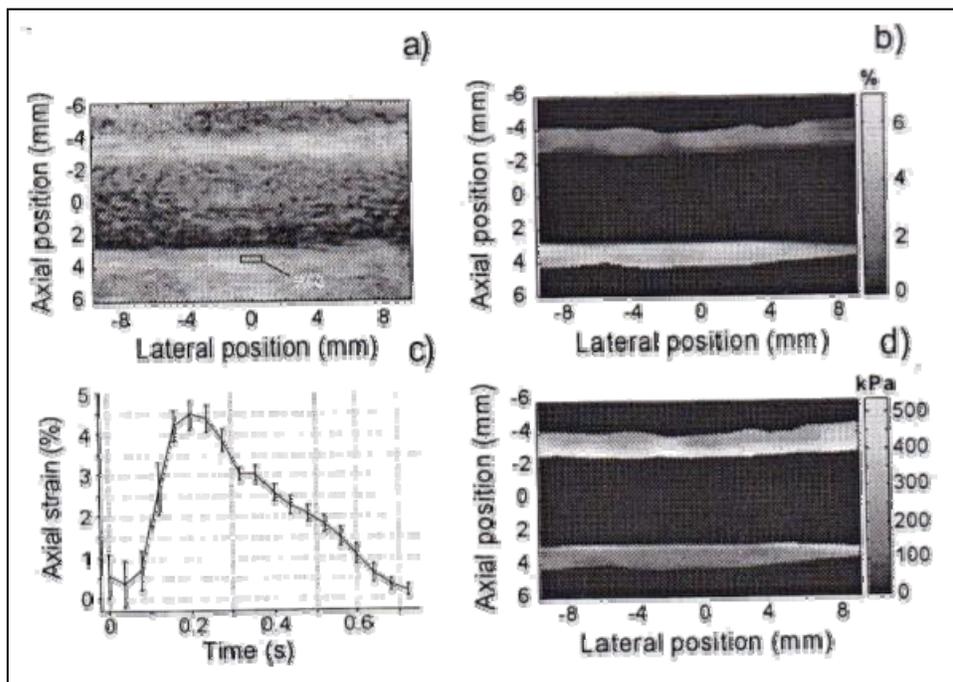


Figure 1.14 a) Image échographique. b) Déformations axiales du tissu.
 c) Représentation graphique de la déformation axiale de la région RI3.
 d) Distribution des contraintes de déformation dans le tissu imagé

In vivo, la technique a été testée sur des sujets avec des plaques calcifiées au niveau de la carotide. La figure 1.15 a) présente une zone calcifiée et une autre zone de la plaque d'athérome. Les caractéristiques mécaniques de ces deux zones seront comparées. Sur la figure 1.15 b) on peut déduire que les calcifications se déforment moins que le tissu normal durant le cycle cardiaque. Sur la figure 1.15 c) l'élastogramme montre un ratio de 7% de déformations entre les deux régions. La figure 1.15 d) présente les zones de cisaillement qui permettent d'indiquer les sites à risque de rupture, hémorragie, inflammation et thrombose.

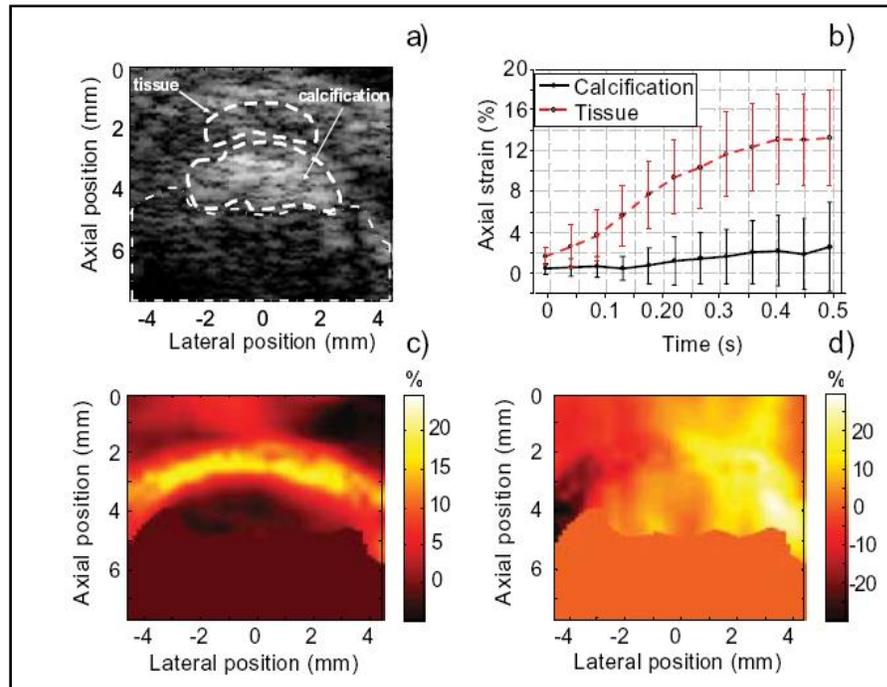


Figure 1.15 a) Image échographique. b) Représentation de la déformation des deux zones identifiées sur l'image échographique c) Élastogramme de la déformation axiale. d) Élastogramme des cisaillements de la région

Malgré ces résultats très prometteurs, une validation de ces méthodes demeure nécessaire. Le LBUM a donc initié un vaste projet visant à comparer les résultats élastographiques et histologiques obtenus sur un modèle animal.

1.5 Objectifs de ce mémoire de maîtrise

Ce mémoire de maîtrise s'inscrit dans le cadre de l'objectif général du projet LBUM de valider l'élastographie EVE et NIVE sur un modèle animal d'athérosclérose.

Notre objectif général est de fournir un outil semi-automatique pour la caractérisation 2D et 3D des coupes histologiques obtenues afin de permettre une corrélation avec les résultats de l'élastographie enregistrés avant le sacrifice de l'animal.

Les objectifs spécifiques sont:

- 1) Le 1^{er} objectif de ce mémoire de maîtrise consiste à développer un algorithme de segmentation et d'analyse d'images des coupes histologiques. Il doit permettre une caractérisation quantitative et qualitative des différentes régions d'intérêt des coupes histologiques. Les résultats permettront ainsi une corrélation entre les caractéristiques des coupes histologiques et les résultats d'élastographie endovasculaire (EVE, coupes transverses)

- 2) Le 2^{ème} objectif de ce mémoire consiste à développer une méthode de reconstruction 3D des segments d'artère à partir des segmentations des coupes transverses sériées. La production d'un volume 3D permettra une analyse qualitative de la morphologie de la lésion et une corrélation entre les résultats histologiques 3D et l'élastographie non invasive qui fournit des images longitudinales.

CHAPITRE 2

REVUE DES OUTILS DE TRAITEMENT D'IMAGES

Pour atteindre les objectifs de ce projet, il était essentiel de sélectionner les outils de traitement d'image adéquats permettant l'analyse histomorphométrique des images histologiques en 2 et 3 dimensions. Dans ce chapitre, on définira les différentes notions utilisées pour le traitement et l'analyse des images en 2 et 3 dimensions.

2.1 L'histomorphométrie

Généralement, l'objectif de l'analyse histomorphométrique des images numériques des coupes histologiques est l'extraction de l'information pour des mesures quantitatives et qualitatives. Pour cette finalité, une segmentation permet de spécifier les structures ou les zones d'intérêt dans la coupe histologique. Ces structures sont extraites sous forme de masques de mesures quantitatives et qualitatives (Usson, 2009).

2.2 Segmentation d'image numérique

L'objectif de la segmentation d'image est de l'interpréter sous forme d'entités décrites en régions et contours. Le processus de segmentation se base sur le principe de détection puis de mise en correspondance d'éléments ou d'objets possédant des propriétés semblables. La segmentation conditionne la pertinence des mesures effectuées en définissant les zones d'intérêt dans une image. En effet, il n'y a pas d'algorithme universel de segmentation et chaque type d'images correspond à une approche spécifique (Gonzalez et Woods, 2002; Usson, 2009).

2.3 Image numérique

L'image numérique est une matrice 2 dimensions formées de points appelés pixels. Il existe plusieurs types d'images numériques : les images en niveau de gris, les images binaires et les images en couleur. On dit qu'une image est en niveaux de gris lorsque les valeurs de pixel

varient entre 0 et 255 niveaux de gris. Par contre, une image binaire ne contient que deux niveaux: le noir (corresponds à la valeur 0) et le blanc (corresponds à la valeur 1). Une image couleur est une matrice 3D, composée de trois matrices 2D superposées, chacune présente une composante de l'espace couleur (Gonzalez et Woods, 2002).

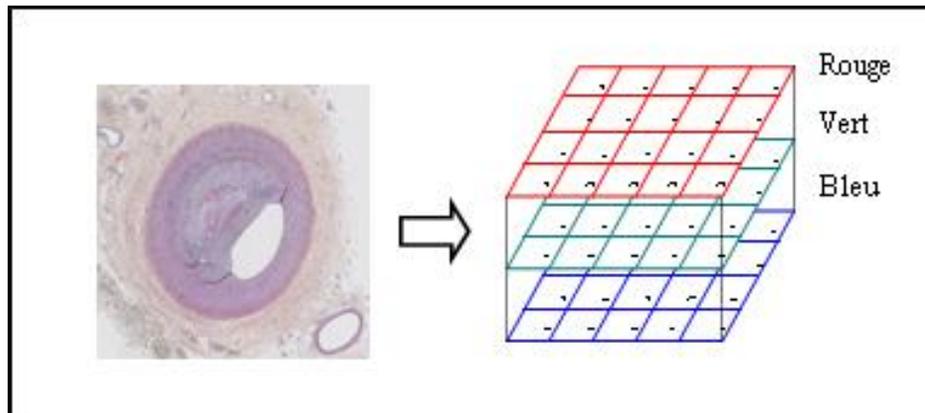


Figure 2.1 Présentation d'une image couleur dans un espace RGB

2.4 Espace couleur

2.4.1 Espace RGB

Cet espace est fréquemment utilisé grâce à sa ressemblance à la perception humaine (Drulhe et al., 2004; Gonzalez et Woods, 2002). Les valeurs des composantes de cet espace (rouge, vert et bleu) varient entre 0 et 255. Cependant, c'est un espace non uniforme, car la perception des différences entre les couleurs est très difficile, vu que ses composantes sont très corrélées entre eux.

Les éléments difficilement identifiables dans les plans R, G, B, sont souvent faciles à révéler avec les autres présentations couleur qui séparent les composantes chromatiques et achromatiques. Les espaces perceptuellement uniformes réalisent cette séparation, comme l'espace CIEL*a*b* ou l'espace HSV (Lopez, 2003; Paschos, 2001). Les composantes achromatiques correspondent au niveau de gris et le reste des couleurs sont les composantes chromatiques.

2.4.2 Espace HSV

L'espace HSV est conforme à la perception naturelle des couleurs. Il permet de décomposer chaque couleur en trois variables; la teinte, la saturation, la luminance. La teinte (Hue) présente chaque couleur dépendamment de sa longueur d'onde. La saturation présente la pureté de la couleur, c'est-à-dire si elle est sombre ou claire. La luminance (value) présente l'information d'intensité, c'est-à-dire si une zone émet de la lumière ou pas.

La figure 2.4 est la représentation spatiale de l'espace HSV. La teinte est présentée comme un paramètre angulaire normal à l'origine et varie entre 0 et 2π . La saturation et la luminance elles sont évaluées entre 0 et 1 .

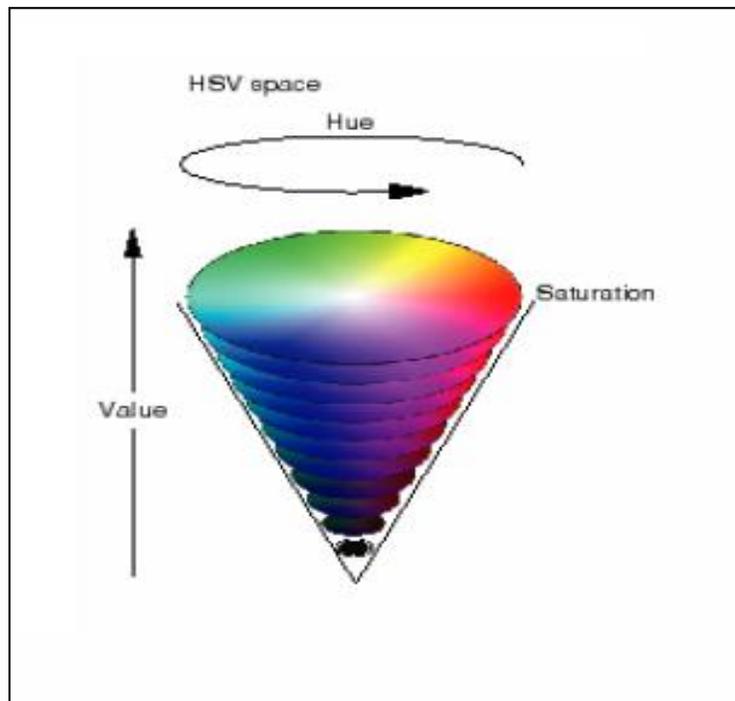


Figure 2.2 Représentation spatiale de l'espace HSV
Tirée de Lopez (2003)

2.4.3 Espace $L^*a^*b^*$

C'est un espace perceptuellement uniforme, recommandé par la CIE (Commission internationale de l'éclairage). La variable L^* de cet espace présente la luminance c'est-à-dire l'opposition noir-blanc, elle varie entre 0 (noir) et 100 (blanc). La variable a^* présente l'opposition rouge-vert et elle varie entre -100 et 100. Cette composante est positive si la couleur tend vers le rouge, négative si elle tend vers le vert et nulle si elle ne contient aucune de ces deux couleurs. La variable b^* mesure l'opposition jaune – bleue, et elle varie entre -100 et 100. Cette composante est négative si elle contient plus de jaune, positive si elle contient plus de bleu et nulle si elle ne contient aucune de ces deux couleurs. La figure 2.5 est la représentation spatiale de cet espace $L^*a^*b^*$.

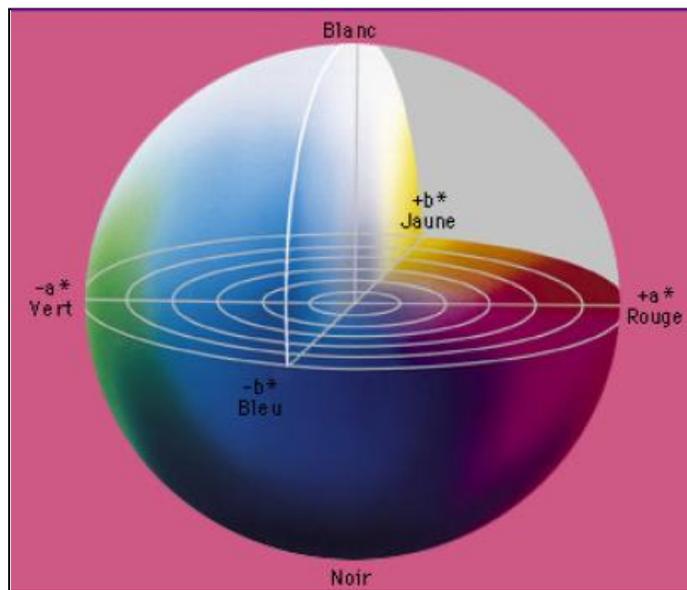


Figure 2.3 Représentation spatiale du modèle de l'espace couleur $L^*a^*b^*$.
Tirée de Lopez, (2003)

2.5 Texture

La texture caractérise une région de l'image perçue homogène par l'œil humain c'est la relation spatiale entre les niveaux de gris des pixels de l'image. Il existe deux approches

d'identifications de texture : approches structurelles et approches statistiques. Dans la première, on considère que la texture est définie par un petit motif qui se répète pour caractériser la région. Dans la deuxième, on décrit la texture par des lois statistiques : des moments, des propriétés de corrélation ou d'isotropie. Le lien entre la texture et sa résolution est direct, car chaque changement dans la résolution induit un changement de l'apparence locale de l'image, d'où l'exploitation de cette caractéristique en histologie microscopique (Gonzalez et Woods, 2002; Mirmehdi et al , 2000) .

2.6 La présentation couleur texture

Plusieurs études se sont concentrées sur l'étude de la capacité des espaces couleur à bien présenter la texture et la couleur (Lopez, 2003; Paschos, 1998).

Cependant, une étude de Qazi et al.(2009) a déduit que la séparation luminance-chrominance est meilleure dans l'espace $L^*a^*b^*$, car elle permet une bonne caractérisation des textures.

2.7 Égalisation d'histogramme

Un histogramme d'une image en niveau de gris est une fonction discrète. Elle présente le nombre de pixels dans une image en fonction des niveaux de gris de l'image.

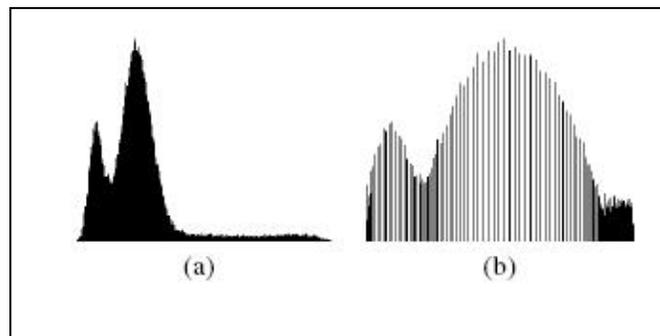


Figure 2.4 (a) histogramme d'une image (b) le résultat de l'égalisation de (a)
Tirée de Eramian et al, (2005)

Dans le but d'ajuster le contraste d'une image, on utilise l'égalisation d'histogramme. C'est une transformation des niveaux de gris de l'image qui permet de répartir les niveaux de gris d'une manière équilibrée. Elle est définie par l'équation suivante :

$$s_k = T(r_k) = \sum_{j=0}^k p(r_j) \quad (2.1)$$

$$= \sum_{j=0}^k \frac{n_j}{n} \quad k = 0,1,2,\dots,L-1$$

$$p(r_k) = \frac{n_k}{n}, \quad k = 0,1,2,\dots, L-1 \quad (2.2)$$

Avec $p(r_k)$ la probabilité d'apparition du niveau de gris r_k dans l'image, n_k est le nombre de pixels d'image qui ont une valeur r_k en niveau de gris. L est le nombre total des niveaux de gris possible dans l'image (Gonzalez et Woods, 2002).

2.8 Filtrage spatial

En traitement d'image, le filtrage dans le domaine spatial permet le rehaussement des contours et l'atténuation du bruit qui altère la qualité de l'image (Gonzalez et Woods, 2002).

La procédure du filtrage linéaire est une convolution définie par l'équation suivante :

$$f(x, y) \times h(x, y) = \frac{1}{M \times N} \times \sum_{m=0}^{M-1} \sum_{n=0}^{N-1} f(m, n) \times h(x-m, y-n) \quad (2.3)$$

Il s'agit de parcourir tous les pixels d'une image de base $f(x,y)$ et de taille $M \times N$, par la matrice de convolution $h(x,y)$. Le choix de la matrice de convolution $h(x,y)$ conditionne la nature du filtrage effectué. Il existe deux familles de filtres : filtre passe-haut et filtre passe-bas.

- Filtre passe-bas : filtre gaussien

Ce filtre permet de conserver les arêtes et les contours, tout en atténuant les transitions brusques d'intensité, qu'on appelle du bruit (Gonzalez et Woods, 2002). Le principal avantage de ce filtre est qu'il assure un lissage d'image à peu près égal dans toutes les directions du filtre. L'équation suivante présente le filtre gaussien:

$$h(x) = \sqrt{2\pi\sigma} \quad A e^{-2\pi^2\sigma^2 x^2} \quad (2.4)$$

σ est la déviation standard de la courbe gaussienne.

- Filtre passe-haut : l'opérateur gradient

Ce filtre permet de rehausser les contours présents dans l'image, c'est-à-dire les zones de l'image à haute fréquence (contours) (Gonzalez et Woods, 2002).

Le gradient opère selon les deux axes de l'image, x et y :

$$\nabla f = \begin{bmatrix} G_x \\ G_y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f}{\partial x} \\ \frac{\partial f}{\partial y} \end{bmatrix} \quad (2.5)$$

2.9 Opération morphologique

Le principe de base de la morphologie mathématique est de comparer une image binaire à une structure géométrique connue, qu'on nomme 'élément structurant'. Cette comparaison est calculée à l'aide des transformations simples d'analyse booléenne (Usson, 2009) :

- L'érosion est une transformation qui a le même principe du OU logique et est définie par l'équation suivante :

$$A \ominus B = \left\{ Z \mid (\hat{B})_Z \subseteq A \right\} \quad (2.6)$$

Il s'agit de définir une nouvelle image constituée des pixels de l'image de base A, tel que B l'élément structurant soit inclus dans A (opération ou logique). L'érosion a tendance à réduire la taille de l'objet (Gonzalez et Woods, 2002).

- La dilatation est une transformation qui a le même principe que le ET logique, et est définie par l'équation suivante :

$$A \oplus B = \left\{ Z \mid (\hat{B})_Z \cap A \neq \emptyset \right\} \quad (2.7)$$

Il s'agit de définir une nouvelle image à partir de l'intersection des pixels de l'image de base A et l'élément structurant B. La dilatation est complémentaire à l'érosion (Gonzalez et Woods, 2002).

- L'ouverture et la fermeture ne sont que des combinaisons de la dilatation et de l'érosion (Gonzalez et Woods, 2002). La première est définie par l'équation 2.8 et la deuxième par l'équation 2.9.

$$A \circ B = ((A \ominus B) \oplus B) \quad (2.8)$$

$$A \bullet B = ((A \oplus B) \ominus B) \quad (2.9)$$

2.10 Principe de l'anamorphose, technique de segmentation

L'anamorphose est une nouvelle technique de segmentation et de détection de contours développée au sein du Laboratoire de recherche en Imagerie et Orthopédie (LIO) par Chav et al., (2009). L'objectif général de la technique consiste à réduire l'espace de traitement d'image dans un sous-espace, à partir d'une forme a priori.

Cette technique permet de réduire le nombre de pixels à traiter et d'orienter les contours de la structure d'intérêt dans une seule direction. Le nouvel espace développé est mieux adapté aux différents filtres et classificateurs utilisés en traitement d'image, dont les filtres conventionnels. À l'aide de l'anamorphose, ces derniers génèrent des résultats rapides et similaires à ceux des filtres anisotropiques. En plus, le processus de la segmentation devient plus précis, efficace et rapide.

Comme le montre la figure 2.5, l'anamorphose permet la recherche du contour le plus continu et le plus régulier, partant d'une extrémité à l'autre dans le nouvel espace développé. Elle permet d'extraire la structure d'intérêt et d'interpoler l'information là où les contours sont partiellement inexistantes.

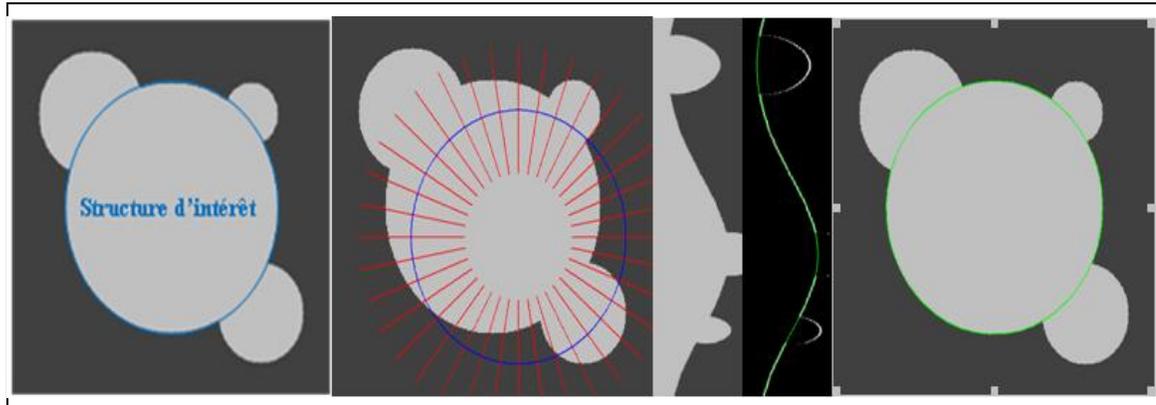


Figure 2.5 Exemple d'interpolation où les contours sont partiellement inexistant
Tirée de (Chav et al., 2009)

Le principe de l'anamorphose commence premièrement par transformer l'image initiale en une image développée (IA) selon la relation suivante $IA = I(T_m)$. I est l'image originale et T_m est la matrice de passage. Elle est nommée ainsi, car elle permet le passage au sous-espace développé. T_m est générée à partir de l'information tirée de la forme a priori de la zone segmentée et suivant l'équation 2.12. Les N_{xi} et N_{yi} sont les composantes du vecteur (P_i) normal à la courbe (ζ) de la forme a priori (Voir équation 2.11), elles sont présentées en rouge dans la figure 2.7_b. Le vecteur \vec{A}_v est un vecteur d'échantillonnage de dimension $(2w/dw+1)\times\pi$, où dw est la résolution de l'image redressée et w est la distance que le vecteur d'échantillonnage couvre de chaque côté de la courbe (ζ). La figure 2.7_b présente en jaune la zone identifiée par le vecteur d'échantillonnage. Les coordonnées de la courbe du contour de la forme a priori (ζ) sont présentées par l'équation 2.10.

$$\zeta = \{\cup P_i(x_i, y_i), i = 1, \dots, n\} \quad (2.10)$$

$$\forall P_i = (x_i, y_i) \in \zeta \quad (2.11)$$

$$T_m(x_i, y_i) = (N_{xi} + \vec{A}_v + x_i, N_{yi} \times \vec{A}_v + y_i) \quad (2.12)$$

$$\vec{N}_i = (N_{xi}, N_{yi})$$

Après la classification des pixels et la détection des contours de la structure d'intérêt, l'anamorphose reporte le contour dans l'image initiale à l'aide de la même matrice de passage T_m (Chav et al., 2009; Lau, 2010).

Ci-dessous on présente un exemple de segmentation par anamorphose. La figure 2.6-a présente une image initiale I qui est un cercle synthétique bruité. L'objectif est de réaliser un prétraitement pour réduire le bruit et rehausser les contours de l'image. Pour cette finalité des filtres conventionnels symétriques sont utilisés directement sur l'image du sous espace développé en anamorphose. La figure 2.6-b présente les résultats sans anamorphose, et 2.7-e avec l'anamorphose.

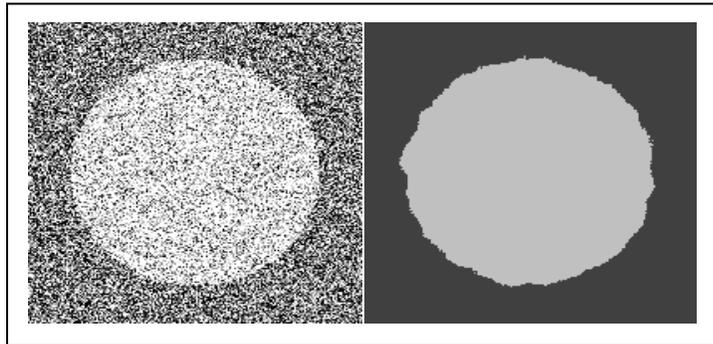


Figure 2.6 a) Image d'un cercle I bruité b) l'image I filtrée avec un filtre conventionnel
Tirée de (Chav et al., 2009)

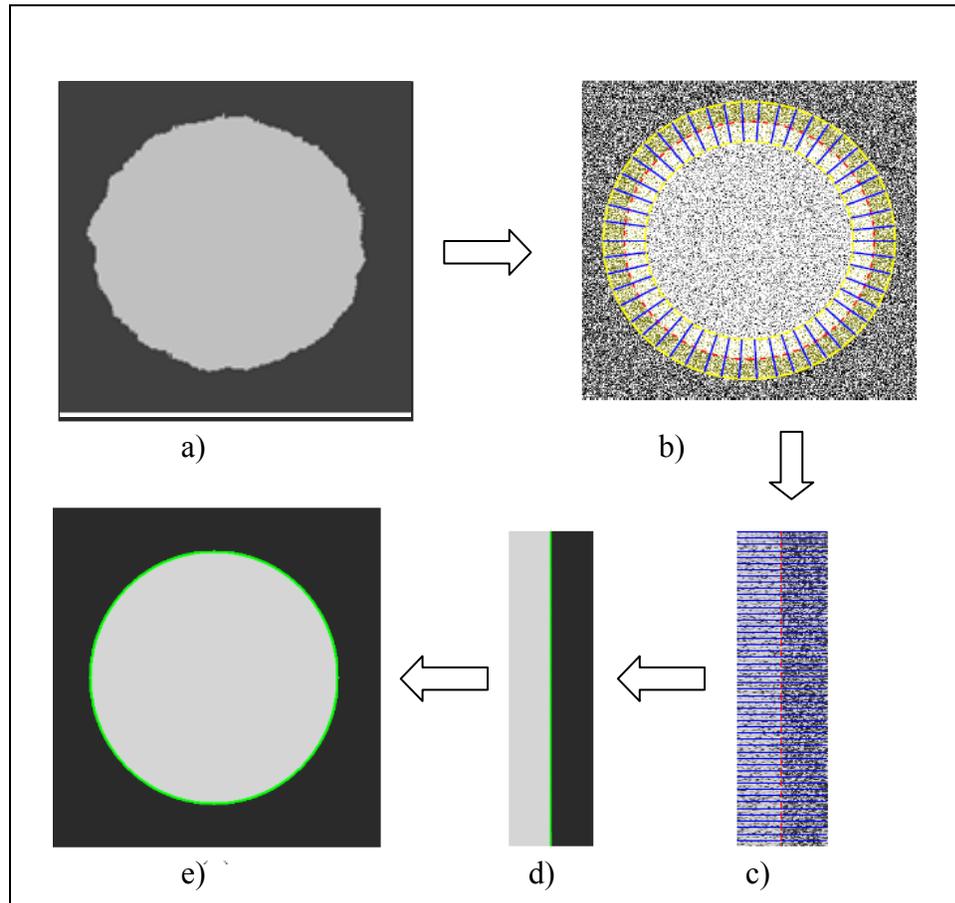


Figure 2.7 a) Une forme a priori de la zone d'intérêt. b) Image initiale I , en rouge la forme a priori et en bleu les vecteurs normaux. La zone jaune est définie par le vecteur d'échantillonnage. c) Image dans le sous espace développé. d) Élimination du bruit et détection des contours dans l'image anamorphosée. e) Image filtrée et contours détectés
Tirée de (Chav et al., 2009)

La figure 2.7 est un exemple de traitement d'image par anamorphose. La figure 2.7_a présente une forme à priori de la zone d'intérêt. La figure 2.7_b présente les vecteurs normaux à la courbe de la forme a priori et le vecteur d'échantillonnage. Ensuite, figure 2.7_c présente l'image dans le sous espace développé, et la figure 2.7_d présente le prétraitement de l'image anamorphosée et la détection des contours. Enfin la figure 2.7_e présente le résultat de la segmentation.

2.11 Algorithme du chemin le plus court

L'algorithme du chemin minimal (Vincent, 1998) permet de détecter les contours linéaires. C'est une solution pour l'extraction des structures linéaires des images en niveaux de gris. Par une programmation dynamique, cette technique permet de détecter le contour le plus continu et le plus régulier d'une extrémité vers une autre.

Le principe de base de cet algorithme consiste à retrouver le chemin à distance minimum qui permet de lier deux points A et B à partir d'une carte de coût. Celle-ci est calculée en définissant les coûts $V(p,q)$ de chaque segment entre deux pixels p et q selon l'équation suivante : $V(p,q) = I(p)+I(q)$. Ensuite pour chaque segment P on calcule le coût du parcours. La carte de coût est alors la somme des coûts minimaux des segments parcourus. Elle est générée en calculant dans un sens vertical.

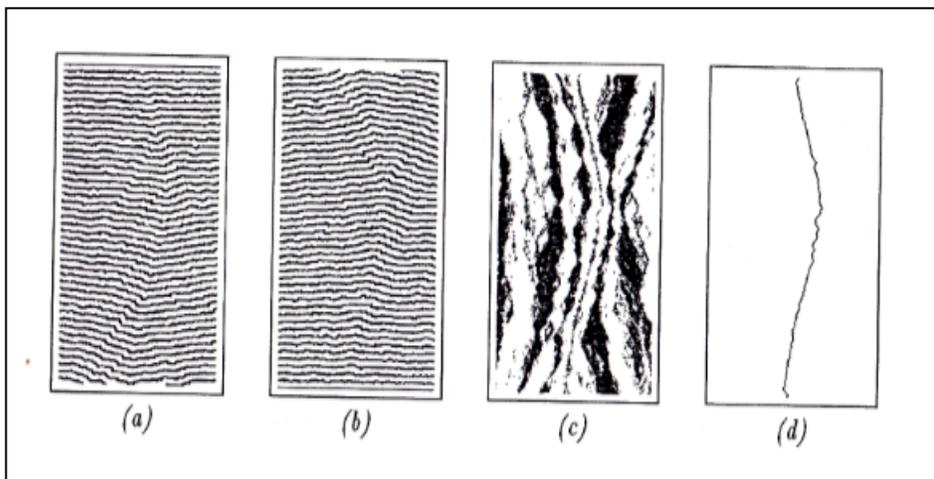


Figure 2.8 a) Carte de distance orientée vers le bas. b) Carte de distance orientée vers le haut. c) Carte de coût. d) Extraction du chemin le plus court à partir de la carte de distance
Tirée de Vincent, (1998)

2.12 Recalage rigide d'image

Le recalage est une technique de traitement d'image qui permet de superposer et d'aligner géométriquement les images traitées. Le principe du recalage se base principalement sur l'information mutuelle des deux images à recaler. En général, le recalage d'image passe par les étapes suivantes (Zitovj et Flusser, 2003):

- Étape de détection : Il s'agit de spécifier les caractéristiques similaires dans les deux images à recaler (des contours, des intersections, ...). Elles sont définies soit manuellement, soit automatiquement.
- Étape d'estimation de la matrice de transformation : Dans cette étape, on calcule la matrice de transformation qui permet l'alignement des deux images. Les mesures de similarité et les relations spatiales entre les points de correspondance sont utilisées pour générer cette matrice, qui est appliquée à tous les pixels de l'image à recaler.

Puisque les coordonnées d'un espace tridimensionnel nécessitent des vecteurs à trois données, la forme générale de la matrice de transformation H est donc une matrice de 3 par 3 ayant 9 coefficients à évaluer (h_{ij}).

$$H = \begin{bmatrix} h_{11} & h_{12} & h_{13} \\ h_{21} & h_{22} & h_{23} \\ h_{31} & h_{32} & h_{33} \end{bmatrix} \quad (2.13)$$

Il existe plusieurs types de matrice de transformation, dépendamment de la nature du recalage visé. Pour apparier les images des coupes histologiques, les matrices de transformation géométrique de translation, de rotation et la symétrie, sont utilisées. C'est ce qu'on appelle un recalage rigide.

La matrice d'une transformation géométrique de translation est présentée par l'équation 2.14. Soit un point M' dans le plan P , tel que M' est l'image de M par translation, ' t_x ' est la composante de la translation suivant x et ' t_y ' est la composante suivant y .

$$T(X) = \begin{bmatrix} 1 & 0 & tx \\ 0 & 1 & ty \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (2.14)$$

Cependant pour une transformation géométrique qui permet une rotation, la matrice s'écrit sous la forme générale de l'équation 2.15. Si tel que 's' est la valeur du segment OM' image de OM par rotation avec un angle θ , 'tx' et 'ty' sont respectivement les composantes de translation suivant x et y.

$$T(X) = \begin{bmatrix} s \times \cos \theta & -s \times \sin \theta & 0 \\ s \times \sin \theta & s \times \cos \theta & 0 \\ tx & ty & 0 \end{bmatrix} \quad (2.15)$$

2.13 Reconstruction par isosurface

La représentation ou la modélisation 3D des artères est de plus en plus utilisée en imagerie vasculaire. Elle fournit l'information sur la morphologie de l'artère, la composition de la plaque d'athérome, et l'évaluation du diamètre de l'artère. Il existe deux approches de rendu de volume pour la reconstruction 3D : une approche appelée « rendu de volume » et une autre appelée « rendu de surface ». La première nécessite plus de mémoire de stockage et beaucoup de temps de traitement, car elle s'intéresse à tout le volume. Par contre pour le rendu de surfaces seules les surfaces sont reconstruites. En conséquence le nombre de données à reconstruire est réduit, l'espace de calcul est restreint et le temps de calcul est plus rapide. Cependant dans ce projet de maîtrise, les volumes 3D sont construits à base du principe de rendu de surface et plus précisément on a utilisé la technique d'isosurface.

Une isosurface est la même chose qu'une courbe de niveau mais en 3D. Son principe repose sur la liaison des points dont les valeurs sont identiques, par des courbes pour créer une surface quand une certaine fonction est constante. Donc une isosurface (équation 2.16) est l'ensemble (x,y,z) quand f est constante et égale à c.

$$\{ (x,y,z) \in \mathbb{R}^3, f(x,y,z) = c \} \quad (2.16)$$

2.14 Travaux antérieurs similaires dans la littérature

Avant de réaliser ce projet, il est essentiel de connaître les méthodes proposées pour la caractérisation histomorphométrique des artères et leur corrélation avec d'autres données. La section ci-dessous présente quelques études trouvées dans la littérature, dont l'objectif ressemble au notre.

L'étude de Taixé et al., (2009) cherche à caractériser en 2D la LEI, la LEE et la lumière. Leur méthodologie de segmentation repose sur le principe des contours actifs : 'snakes' et 'croissance des régions'. Ils commencent par la détection de la LEI en utilisant la technique de croissance de région, avec une initialisation de l'utilisateur et à l'aide des caractéristiques couleurs de l'image. Ces résultats servent comme données d'entrée pour un algorithme de détection de la LEE et de la Lumière qui se base sur le principe des contours actifs 'snakes'. Pour évaluer la précision de la technique et la reproduction des résultats Taixé et al., (2009) se sont basés sur la reproductibilité des aires segmentées. Malheureusement leur algorithme ne considère pas le cas où la morphologie de la LEI diffère de celle de la lumière, c'est à dire quand la plaque d'athérome commence à se former. Lors de la validation, ils ont utilisé les aires des formes segmentées ce qui n'est pas suffisant, car la morphologie des zones segmentées peut changer même si l'aire reste constante.

Une autre étude quantitative des coupes histologiques des artères coronaires, par Holmes III et Robb, (2000) s'est basée sur la caractérisation des composantes cellulaires et des paramètres caractéristiques de la paroi artérielle pour l'analyse du tissu de la paroi vasculaire remodelée. L'objectif de cette étude est de segmenter et de reconstruire les coupes histologiques pour faciliter le diagnostic. Les coupes histologiques sont analysées en isolant et en quantifiant l'élastine, le collagène, les noyaux cellulaires et les cellules musculaires lisses présentes dans la paroi vasculaire des coupes examinées. La segmentation 2D se base principalement sur le principe de seuillage pour la détection des paramètres cibles. La méthodologie suivie dans cette étude dépend beaucoup de l'utilisateur, car le choix du seuil de segmentation de chaque paramètre dans chaque image varie beaucoup avec la variation de la couleur et de la texture de l'image. Cependant, le fait de cibler l'élastine et le collagène dans cette étude est un point fort, car la quantification de ces deux paramètres permet

d'évaluer mécaniquement le tissu. Dans le même contexte, on peut prendre comme exemple une autre étude récente, réalisée dans le même objectif que le nôtre : corrélation de l'histologie et de l'élastographie (Russell et al. 2009)). Lors de l'analyse histomorphométrique de cette étude, les chercheurs ont calculé le pourcentage de la teneur de la paroi vasculaire en collagène et en élastine. Les résultats sont utilisés pour estimer la rigidité de la paroi vasculaire.

Dans le cadre de l'étude de Holmes III et Robb (2000), une reconstruction 3D de la paroi artérielle a été réalisée. Leur algorithme de reconstruction 3D génère un volume 3D à partir des images en niveau de gris. Cependant, le volume contient beaucoup d'artefacts et de discontinuité au sein du segment reconstruit. Ceci rend l'interprétation de cette reconstruction 3D très compliquée. C'est pourquoi, dans le cadre de notre étude, nous avons choisi le rendu d'isosurface pour assurer la cohérence visuelle des reconstructions 3D.

CHAPITRE 3

MÉTHODOLOGIE

Dans ce chapitre on présente la stratégie et les méthodes suivies pour atteindre les 2 objectifs spécifiques du projet, soit premièrement le développement d'un algorithme de segmentation des images histologiques des sections d'artères athérosclérotiques, et, deuxièmement, le développement d'une méthode de reconstruction 3D de ces images pour permettre la production d'un volume 3D des artères athérosclérotiques. Les outils de segmentation et de reconstruction 3D ont été choisis et utilisés afin d'avoir des résultats qui permettent une corrélation avec les résultats de l'élastographie.

L'organigramme suivant définit brièvement chaque étape de la méthodologie, en fonction des objectifs. Il est divisé en deux grandes parties : A gauche sont décrites les étapes de la caractérisation transversale des images (à gauche). A droite les étapes partant de la caractérisation transversale et menant à la reconstruction 3D par le biais du recalage. Tous les algorithmes de la caractérisation transversale et longitudinale sont développés à l'aide du logiciel Matlab.

Les caractéristiques de la base de données des images des coupes histologiques seront présentées avant la description détaillée des différents algorithmes.

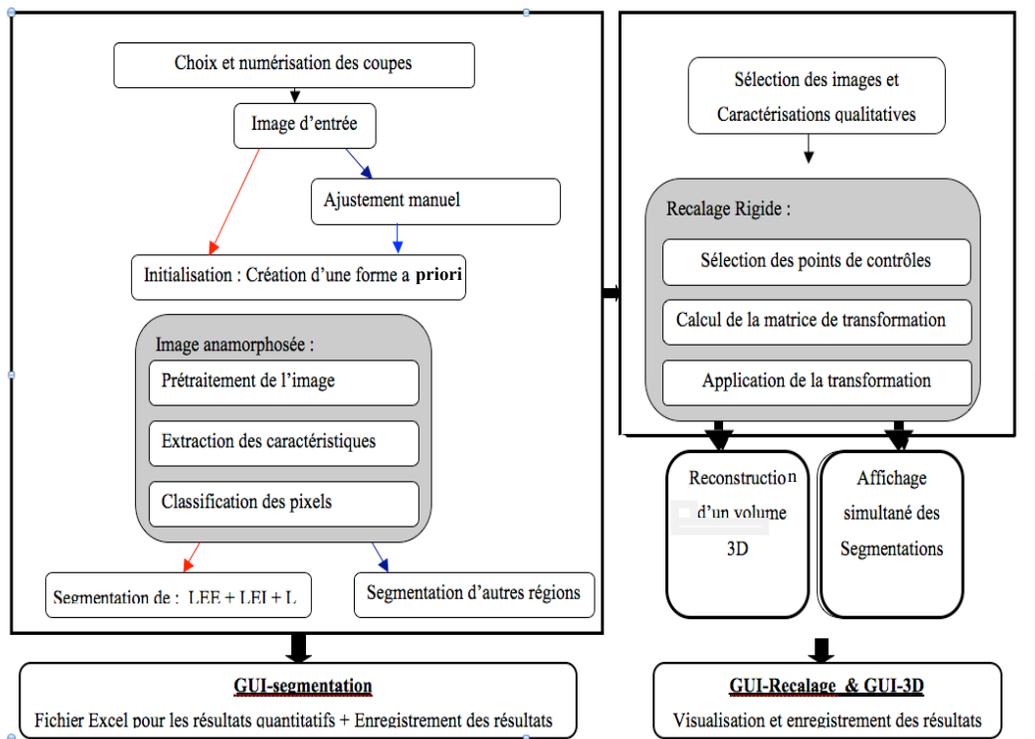


Figure 3.1 Organigramme de la méthodologie du travail en fonction des objectifs du projet

3.1 Acquisition de la base de données des images histologiques

3.1.1 Base de données

Tel que dit précédemment, ce projet s'inscrit dans le cadre d'un essai animal utilisé pour valider la technique d'élastographie au LBUM. À cette fin, plusieurs porcs ont subi un programme d'induction d'athérosclérose consistant en l'induction du diabète, un régime hypercholestérolémique ainsi qu'une ligature partielle des carotides pendant l'élevage. Durant cette période, de l'imagerie NIVE et EVE a été effectuée sur les artères carotides, notamment juste avant sacrifice après 3 à 5 mois.. Les artères, dont les plaques d'athérome sont plus ou moins développées, ont été d'abord fixées sous pression, puis perfusées par une solution saline durant 5min, suivi d'une solution de formaline 10% tamponnés durant 60 minutes. Après cette étape, ces artères ont été prélevées et fixées dans une résine (de la paraffine), pour réaliser des sections transverses de 6 μm tous les 5mm tout le long de l'artère. Les segments intéressants ont été re-sectionnés en série, avec une distance de 400

micromètres entre les coupes. Plusieurs types de coloration ont été effectués (voir plus bas) pour l'identification des paramètres caractéristiques de la paroi vasculaire.

En résumé, la base de données d'images de ce projet se compose de 60 coupes histologiques des carotides droites de 3 porcs (porcs 27, 32 et 24). Elles sont classées en fonction de leurs distances de la bifurcation carotidienne. Ceci est pour faciliter la corrélation avec les résultats de l'élastographie plus tard. Les coupes sériées sont utilisées pour la reconstruction du volume 3D des plaques.

3.1.2 Colorations histologiques

Plusieurs colorations histologiques sont appliquées aux coupes d'artères porcines. On trouve la coloration HPS (hématoxyline-phloxine-safran). Elle colore les noyaux des cellules en bleu foncé, le cytoplasme en rose et le caillot sanguin en rouge. Elle est utilisée dans notre projet comme une coloration de base.

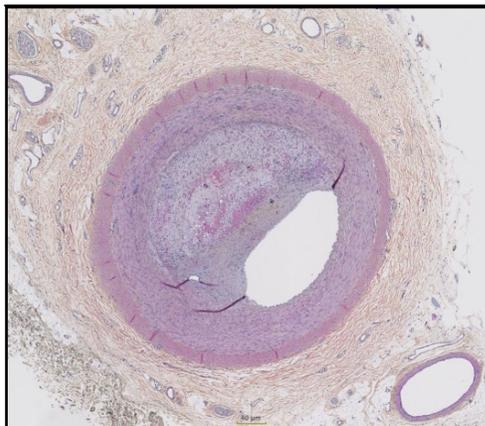


Figure 3.2 Coupe histologique du porc 32 après colorations HPS, un grossissement de 25x

Ensuite, il y a la coloration Von Kossa. Elle met en évidence les calcifications présentes dans le tissu histologique analysé. Les surfaces calcifiées apparaissent comme des tâches sombres (brun-noir) sur la coupe

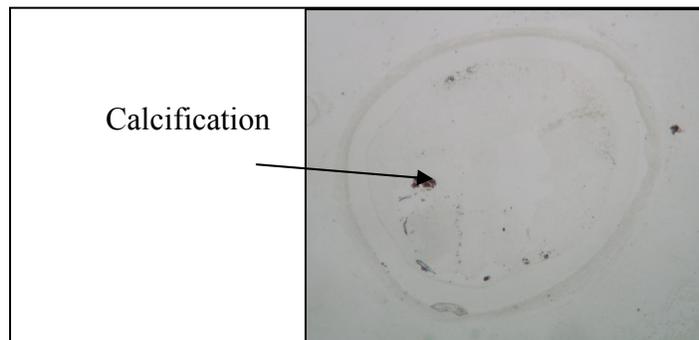


Figure 3.3 Coupe histologique du porc27 après coloration Von Kossa, G = 25x

On trouve encore la coloration Movat (pentachrome de movat). Elle est adéquate à l'identification des zones fibreuses. Elle colore les fibres d'élastine en noir, le collagène en jaune et les cellules en rouge avec un noyau bleu foncé. On a utilisé cette coloration pour caractériser les deux limitantes (limitante élastique interne LEI, la limitante élastique externe LEE) et la lumière.

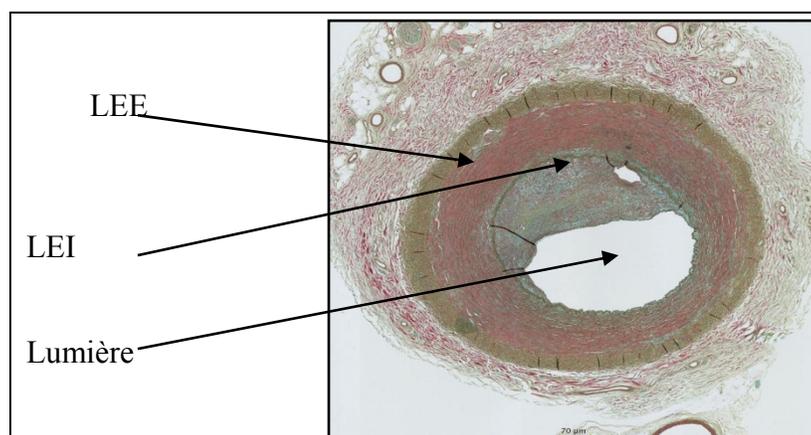


Figure 3.4 Coupe histologique du porc32 après coloration Movat, montrant les LEI, LEE

3.1.3 Numérisation des lames histologiques

La numérisation des lames histologiques est effectuée par le scanneur Hamamatsu NDP Nanozoomer (situé à l'IRIC, Université de Montréal) illustré par la figure 3.5. Cet outil de numérisation permet d'imager les lames histologiques en entier à plusieurs résolutions. Il permet de charger et de numériser jusqu'à 300 lames en même temps (mêmes conditions d'acquisition). Après la numérisation de la lame histologique, la zone d'intérêt peut être enregistrée en plusieurs formats et plusieurs grossissements.

Dans ce mémoire on a choisi d'enregistrer les images de la base de données sous format 'Tiff : Tagged Image File Format'. Ce choix nous permet une compression des données sans perte d'information. On a choisi aussi un grossissement de x 25 (une image d'une taille de 1280x1024) qui permet de voir toute la section de l'artère.



Figure 3.5 Le système digital Nanozoomer
Tirée de America (2010)

3.2 Caractérisation transversale : choix d'une méthodologie semi-automatique

La caractérisation transversale consiste à segmenter les contours de la limitante élastique interne, de la limitante élastique externe, de la lumière du vaisseau et de toute autre zone histologique (zone lipidique, zone calcifiée,...) Cette segmentation ou cette caractérisation qualitative permet la réalisation d'une caractérisation quantitative des mêmes régions analysées.

Au début on visait un processus automatique, mais l'évaluation préliminaire des images a montré que l'intervention de l'utilisateur est très importante. Par exemple, la base de données est formée des coupes histologiques à multiples colorations (figure 3.6). Sauf qu'on trouve que pour la même coloration histologique, le contraste des images est très variable. De plus, les régions d'intérêts présentent généralement des contours très difficiles à limiter automatiquement. Par exemple, à la figure 3.7, on peut observer une section où la limitante élastique interne est très endommagée. Ceci peut être dû soit au développement de l'athérosclérose, soit parfois aux procédures de préparation des coupes.

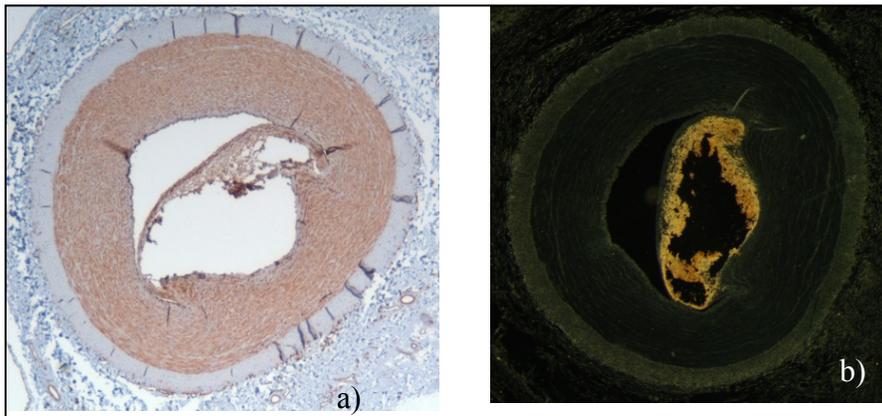


Figure 3.6 Deux colorations de la même coupe histologique
Coloration SiriusRed ,b) Coloration VanKoss

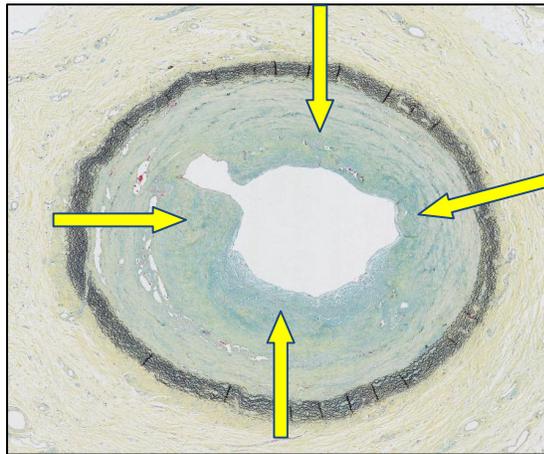


Figure 3.7 Exemple de LEI endommagée est indiquée par des flèches

Dans d'autres cas, on trouve dans la même image deux zones histologiques différentes, mais dont les caractéristiques texture et couleurs sont identiques. La figure 3.8 présente un exemple. La lumière de l'artère et l'endroit des calcifications détachées ont le même aspect (blanc). Un processus automatique détectera les deux zones dont les caractéristiques sont similaires. Cependant, l'intervention d'un utilisateur permet de choisir la vraie zone d'intérêt.

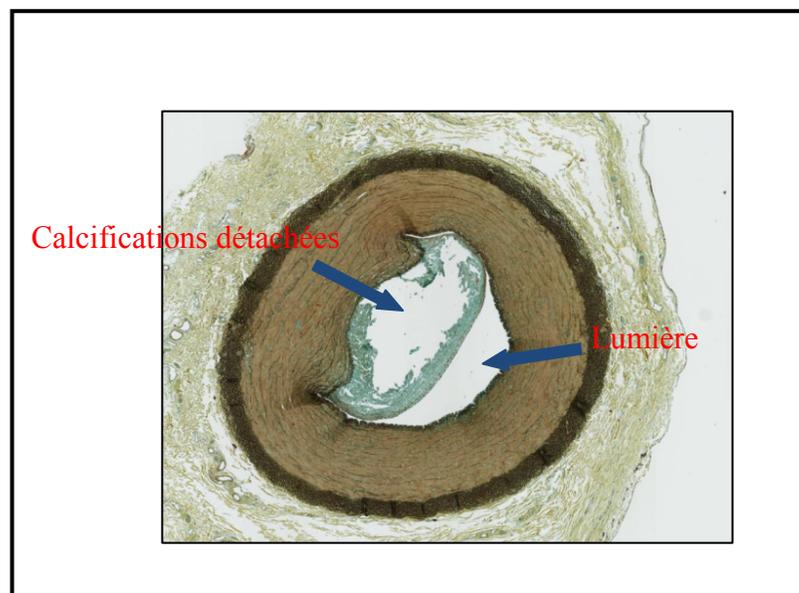


Figure 3.8 Lumière et zones à caractéristiques similaires.

Pour toutes ces raisons, l'intervention de l'utilisateur pour initialiser le programme est devenue nécessaire pour aboutir à des résultats pertinents.

3.3 Caractérisation transversale : segmentation de la LEE, LEI et la lumière

3.3.1 Images d'entrées

Comme déjà mentionnés, les paramètres LEE LEI et Lumière sont caractérisés à partir de la coloration Movat. Les données d'entrée de l'algorithme de segmentation sont des images caractérisées par le couple couleur texture. Il s'agit d'utiliser la composante de luminance et de chrominance de l'espace (L.*a.*b), elles permettent une bonne classification des caractéristiques de texture et de couleur.

La LEI est une région qui présente une morphologie complexe : des plis et une grande variation de couleur. En comparant visuellement la composante de chrominance avec la composante de luminance des images de la base de données. La première composante (chrominance C) permet une meilleure identification des caractéristiques texture et couleur de la région d'intérêt. C'est ce qui est exprimé dans l'équation 3.1. Donc la composante C est utilisée comme image d'entrée pour l'algorithme de segmentation de la LEI.

La LEE et la Lumière sont des régions qui se caractérisent par moins d'irrégularité de texture et de couleur, comme illustré à la figure 3.9. Toujours en suivant la procédure de comparaison visuelle entre les composantes de luminance et de chrominance des images de la base de donnée. La composante de luminance permet une bonne identification des deux zones. En conclusion nous avons choisis cette composante comme image d'entrée pour faire la segmentation de la LEE et la Lumière.

$$C = a^* + j \times b^* \quad (3.1)$$

$$j = 1/2,$$

a* et b* sont les composantes de chrominance de l'espace L.*a.*b

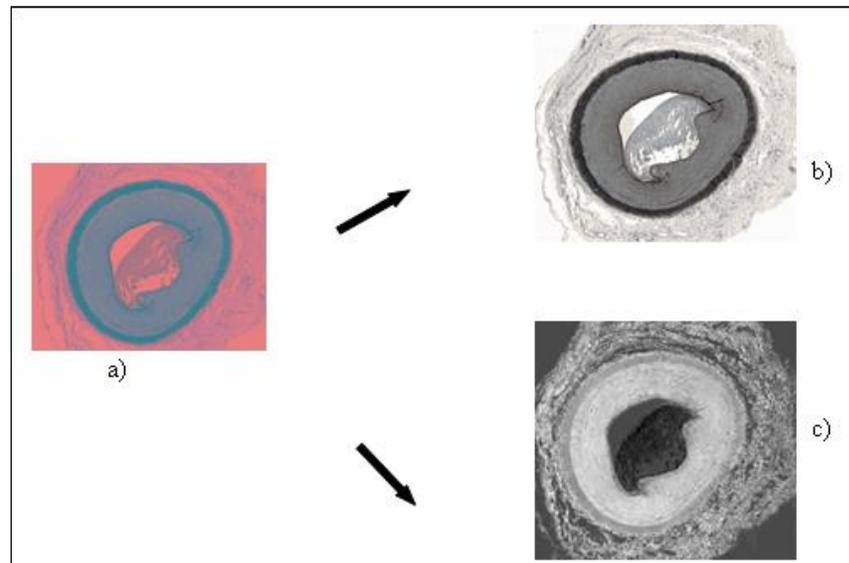


Figure 3.9 a) Image présentée en espace L.*a.*b, b) La composante de luminance de l'espace L.*a.*b, c) La composante de chrominance de l'espace L.*a.*b

Après la présentation de l'image d'entrée en espace L.*a.*b et le choix de la composante qui permet d'identifier les caractéristiques de la zone d'intérêt. La taille de l'image d'entrée est réduite pour accélérer le processus de la segmentation. Car la taille réelle des images traitées est très grande, généralement de (2560 x 1600). L'interpolation bi-cubique est utilisée à cette fin, car elle occupe moins d'espace mémoire. On a utilisé une mise à l'échelle de 1/3.

3.3.2 Initialisation du programme

Comme on vient d'expliquer, l'utilisateur doit initialiser l'algorithme avant de commencer la segmentation. Pour ceci il doit sélectionner quelques points sur les contours de la région à segmenter. Ensuite celles-ci sont interpolées pour générer la forme a priori de la zone d'intérêt. La figure 3.10 présente un exemple de forme a priori (en rouge) créée à partir des points sélectionnés (en bleu).

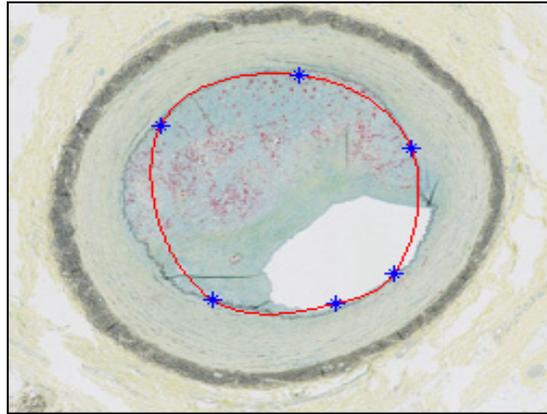


Figure 3.10 Création d'une forme a priori de la zone LEI

3.3.3 Détection des contours des zones d'intérêts

L'algorithme de détection des contours se base principalement sur la technique d'anamorphose. Donc, comme expliqué dans la revue de littérature, à partir de l'information recueillie de la forme a priori, on génère la matrice de passage (T_m). Elle permet de créer le sous-espace développé (IA) à partir de l'image d'entrée (I), tel que $IA = I(T_m)$.

Comme on a défini dans la revue de littérature, pour créer la matrice de passage on doit définir le vecteur d'échantillonnage A_v dont la dimension est égale à $(2w/dw + 1) \times \pi_i$. (π_i) est le nombre de points de la courbe de la forme a priori, ils sont utilisés pour présenter les vecteurs normaux (P_i). (dw) est la résolution de l'image redressée et w est la distance que le vecteur d'échantillonnage couvre de chaque côté de la courbe de la forme a priori. On a accordé une valeur de 1 pixel pour (dw), de 100 points pour (π_i), et de 20 pixels pour (w). Ce choix permet de donner une grande valeur au vecteur d'échantillonnage, ce qui permet de suivre les irrégularités des contours de la zone d'intérêt et les présenter avec une très bonne résolution de l'image anamorphosée.

Ensuite on effectue deux prétraitements suivant l'axe horizontal de l'image anamorphosée. Le premier prétraitement est à l'aide du filtre gaussien pour lisser l'image. Le deuxième prétraitement est à l'aide du filtre gradient pour détecter les contours de la zone d'intérêt.

Après cette étape, on fait appel à l'algorithme du chemin le plus court qui est présenté en revue des outils de traitement d'image. Cet outil permet la détection des contours d'intérêt

d'une façon horizontale. Donc du haut en bas de l'image anamorphosée, ligne par ligne, on calcule le coût de chaque pixel pour obtenir la première carte de coût. On répète le processus dans le sens inverse pour avoir la deuxième carte de coût. Enfin la première carte est additionnée à la deuxième, on utilise le complément de l'image résultats pour extraire les pixels à coût minimum, c'est le chemin le plus court sur l'image anamorphosée dans le sens horizontal. Les résultats de cette étape correspondent aux contours de la zone d'intérêt, présentés dans le sous-espace développé. Pour pouvoir les présenter sur l'image initiale on fait appel à la matrice de passage.

Les figures 3.11 et 3.12 présentent en images les étapes décrites ci-dessus. Elles illustrent l'algorithme de la caractérisation transversale de la LEI comme exemple.

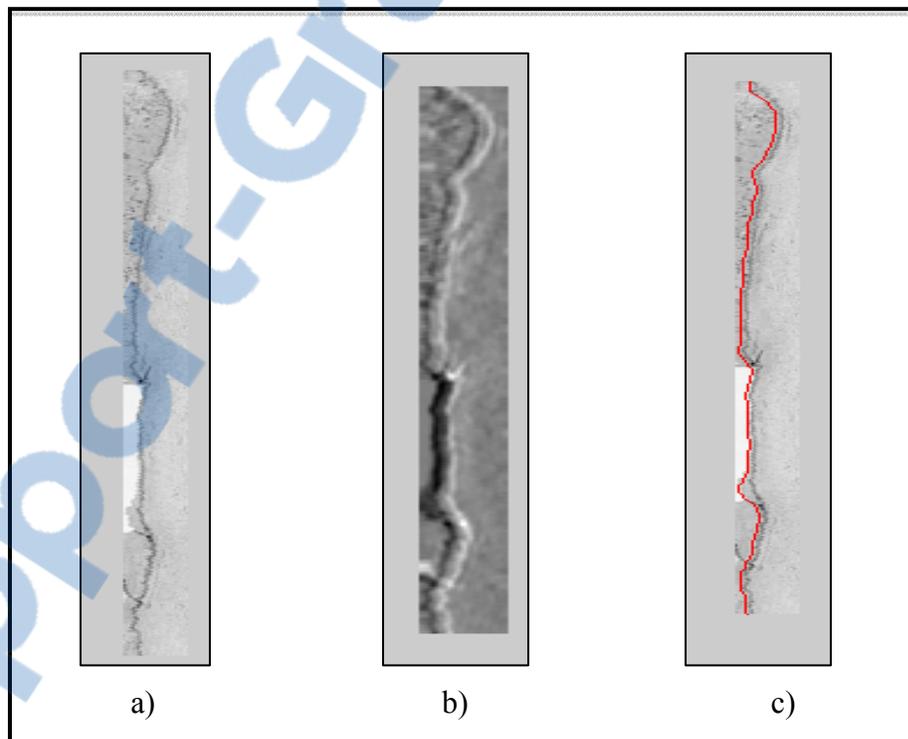


Figure 3.11 a) Image présentée dans l'espace sous-développé,
b) La composante du gradient suivant l'axe x,
c) Détection des contours par l'algorithme du chemin le plus court

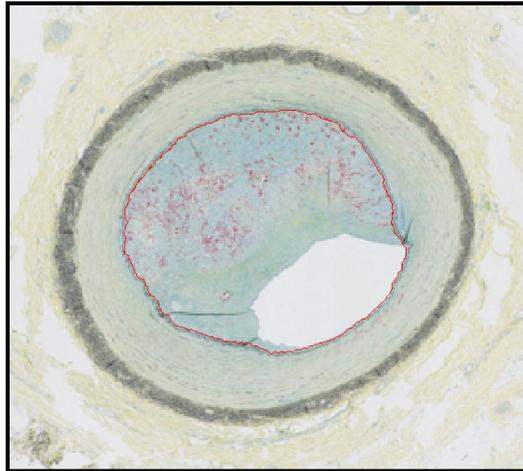


Figure 3.12 Résultat de la segmentation de la LEI (en rouge) après l'anamorphose

3.3.4 Ajustement des segmentations

Pour plus d'interaction avec l'utilisateur, on a utilisé un algorithme qui permet d'ajuster manuellement les résultats des segmentations. Selon le jugement visuel, cet algorithme permet de modifier manuellement les résultats de la segmentation.

Au début de l'exécution du programme, certains points du contour résultat sont choisis comme points contrôles. Ensuite l'utilisateur choisit à l'aide de la souris le point qu'il veut ajuster du contour. Ensuite, il choisit l'endroit où il veut déplacer la segmentation. L'algorithme calcule la distance euclidienne entre les coordonnées des deux points sélectionnées. Cette information est utilisée pour déplacer le point contrôle choisi. Après cette étape on interpole le nouveau point avec le reste des points du contour de la segmentation.

3.4 Caractérisation transversale : segmentation d'autres zones d'intérêt

Tel qu'expliqué en introduction, l'évaluation de la vulnérabilité des plaques d'athérome dépend aussi de l'analyse histomorphométrique d'autres zones histologiques. Par exemple les calcifications, les noyaux lipidiques, les zones fibreuses...etc. Chaque zone est mise en évidence en utilisant une coloration histologique spécifique. Par exemple, la coloration Von-

Kossa permet d'identifier les calcifications. Pour cette raison il y a une grande variation des caractéristiques couleurs et texture dans la base de donnée de cette partie du projet. C'est ainsi que l'algorithme de segmentation des autres zones histologiques nécessite plus d'intervention manuelle. Cependant, il suit les mêmes grandes lignes de celui de l'algorithme de segmentation de la LEE, LEI et Lumière.

Au début de la segmentation, on commence par réduire la taille de l'image initiale de la même manière que pour la segmentation des LEE, LEI et lumière. Ceci permet d'accélérer le processus de l'analyse histomorphométrique. Ensuite on utilise la composante de luminance de l'espace L^*a^*b comme image d'entrée. On demande à l'utilisateur ainsi de modifier le contraste de l'image d'entrée. Il s'agit d'une égalisation manuelle de l'histogramme de l'image de la composante de luminance. L'objectif est la restriction des niveaux de gris de l'histogramme de l'image à ceux qui correspondent à la structure d'intérêt. Cette opération est réalisée à l'aide de l'outil d'ajustement manuel du contraste de Matlab. La figure 3.13 illustre cette interface utilisateur. La figure 3.14 explique en images les étapes de la partie du prétraitement d'images, de l'algorithme de segmentation d'autres zones d'une coupe histologique colorée en Von Kossa décrites ci-dessus.

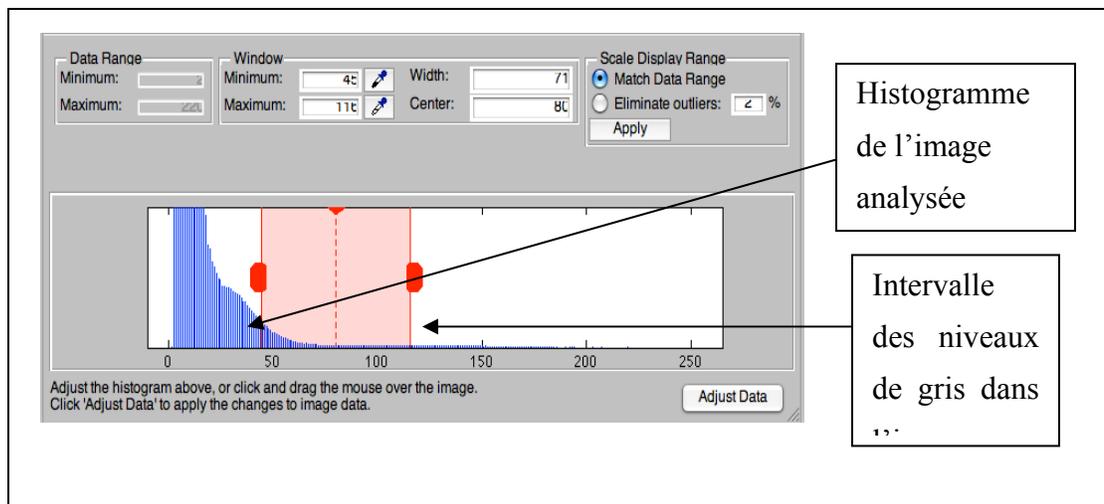


Figure 3.13 Outil Matlab d'ajustement de contraste

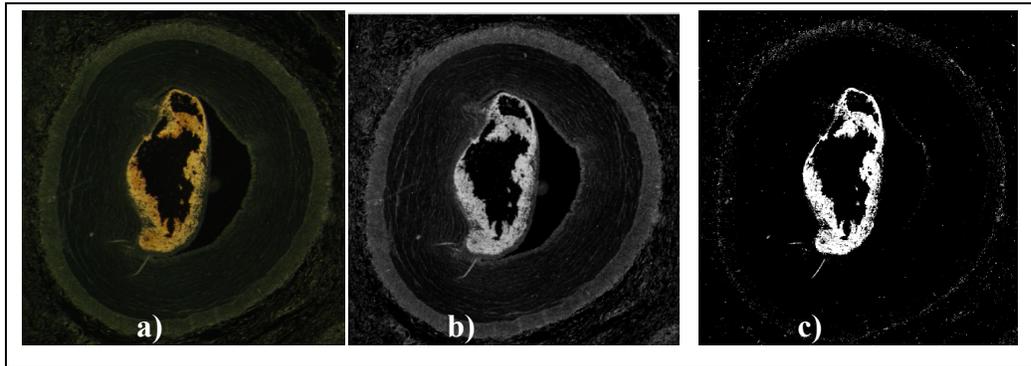


Figure 3.14 a) Coloration Von-Kossa d'une coupe histologique,
 b) Composante de luminance de l'image de a).
 c) Composante de luminance dont les niveaux de gris sont modifiés.

Après le prétraitement d'image, la partie de la segmentation de l'algorithme commence par la création d'une forme a priori. À partir de laquelle on déduit la matrice de passage, pour pouvoir présenter l'image dans l'espace anamorphosé. La détermination des valeurs du vecteur d'échantillonnage qui permet la création de la matrice de passage sont identique à celle définit auparavant lors de la caractérisation des LEE, LEI et lumière. Ensuite on utilise le filtre gaussien pour lisser l'image et le filtre gradient pour rehausser les contours. Ces deux opérations sont effectuées suivant l'axe horizontal. La détection des contours de la région d'intérêt est réalisée à l'aide de l'algorithme du chemin le plus court. Aussi cette opération est identique à celle de la caractérisation précédente. Finalement les contours détectés dans l'image anamorphosée sont reportés dans l'image initiale à l'aide de la matrice de passage. La figure 3.15 illustre ces étapes.

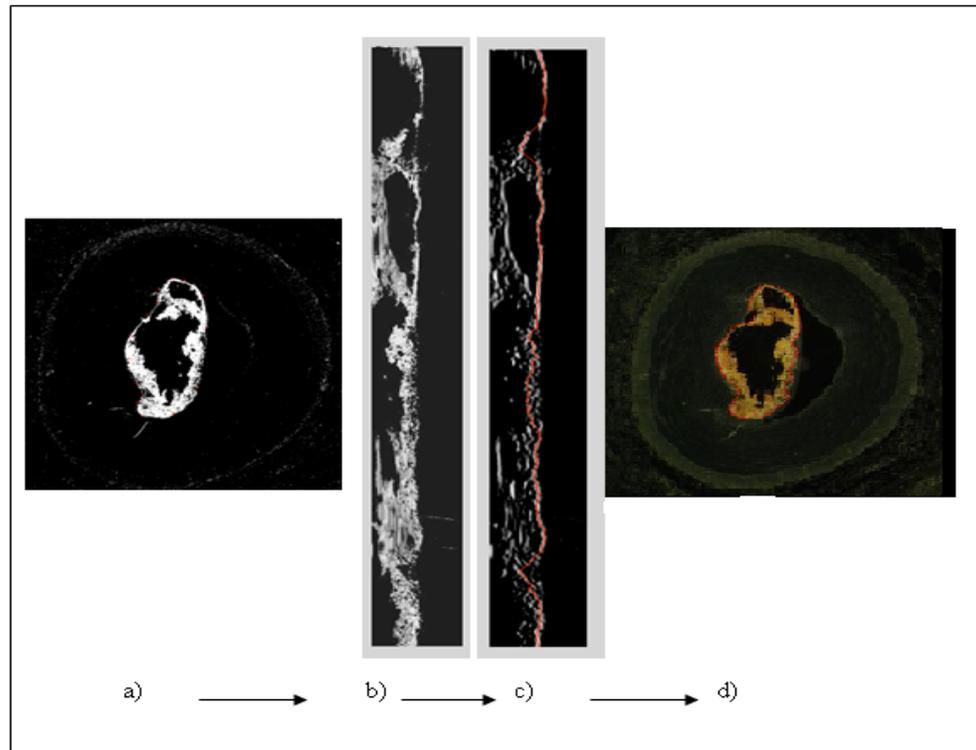


Figure 3.15 Détection des calcifications par anamorphose à partir d'une image à contraste modifié manuellement. a) Image originale
 b) Image anamorphosée. d) Prétraitement de l'image anamorphosée et détection des contours. c) Transfert des contours sur l'image originale

3.5 Caractérisation transversale quantitative

L'analyse histomorphométrique quantitative permet aux pathologistes de suivre le développement de la pathologie d'une manière quantitative. À partir des caractérisations qualitatives (c'est à dire les segmentations) on peut calculer la caractérisation transversale quantitative.

À la fin de la caractérisation transversale d'une zone, les contours de la segmentation sont enregistrés sous forme d'image binaire. Cette image est redimensionnée à la taille réelle de l'image initiale. Donc les résultats sont enregistrés en présentant les pixels objet (zone d'intérêt) en blanc et le fond de l'image en noir. Ensuite, par un simple comptage du nombre de pixels appartenant au masque blanc de l'objet. On peut obtenir la surface de la zone

d'intérêt en nombre de pixel. Cependant pour avoir la taille en unité universelle de surface, on utilise l'équation (3.2). Celle-ci permet de calculer la taille réelle du pixel selon :

$$TPR = 2.54 \text{ cm} / \text{Résolution} \times \text{Grossissement} \quad (3.2)$$

TPR est la taille réelle du pixel suivant X ou Y. G est le grossissement total du microscope. Il est calculé en multipliant le grossissement de l'objectif par le grossissement de l'oculaire. La résolution nous permet de définir la taille réelle de l'image. Elle est présentée en pixel par pouce. Chaque pouce égal à 2.54cm. L'équation 3.3 est l'équation du calcul de l'aire d'une surface d'un paramètre histomorphométrique.

$$A = \sum P_i \times TPR_x \times TPR_y \quad (3.3)$$

Tel que TPRx est la taille du pixel suivant X et TPRy est la taille du pixel suivant Y. $\sum P_i$ est le nombre total des pixels dans l'image.

Dans notre projet notre algorithme permet de calculer des aires de la LEI, LEE, Lumière et des autres zones d'intérêt, et aussi de deux autres paramètres essentiels. Ils sont le rétrécissement intra-luminal et la surface relative de la média.

a) Le rétrécissement intra-luminal présenté par l'équation 3.4 est une caractérisation histologique quantitative. Elle permet une mesure relative de la sténose selon le principe de l'ECST (Trivedi, Gillard et Kirkpatrick, 2008).

b) La surface relative de la média présentée par l'équation 3.5 est une autre caractérisation histologique quantitative, elle permet d'évaluer l'évolution de la pathologie au niveaux de la media du vaisseaux sanguin (Russell et al., 2009).

$$\begin{aligned} \text{Le rétrécissement Intra-luminal} = & \quad (3.4) \\ (\text{Aire de la LEI} - \text{Aire de la Lumière}) / (\text{Aire de la LEI}) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{La surface relative de la media} = & \quad (3.5) \\ (\text{Aire de la LEE} - \text{Aire de la LEI}) / (\text{Aire de la LEE}) \end{aligned}$$

3.6 Recalage rigide

L'algorithme du recalage rigide est utilisé dans la caractérisation histomorphométrique transversale et longitudinale. Dans le premier cas (caractérisation transversale) il permet l'affichage simultané de différentes caractérisations provenant de différentes colorations, c'est-à-dire une fusion des caractérisations transversales. Dans le second cas il permet la reconstruction 3D des coupes sériées.

En effet l'algorithme de recalage fait appel à des opérations de translations, de rotations et de symétries (transformations affines). Car notre objectif est d'aligner les images sans modifier l'information histologique. L'absence de points de contrôle naturels sur les images histologiques a rendu l'automatisation du processus très difficile. Pour ceci l'algorithme demande à l'utilisateur de choisir manuellement des points contrôles. Une interface graphique de Matlab présentée à la figure 3.16 est utilisée pour cet objectif. Elle permet à l'utilisateur de sélectionner deux couples de points sur les deux images qu'on veut aligner. Le premier et le deuxième point du couple désignent la continuité d'une zone histologique de la première image à la seconde.

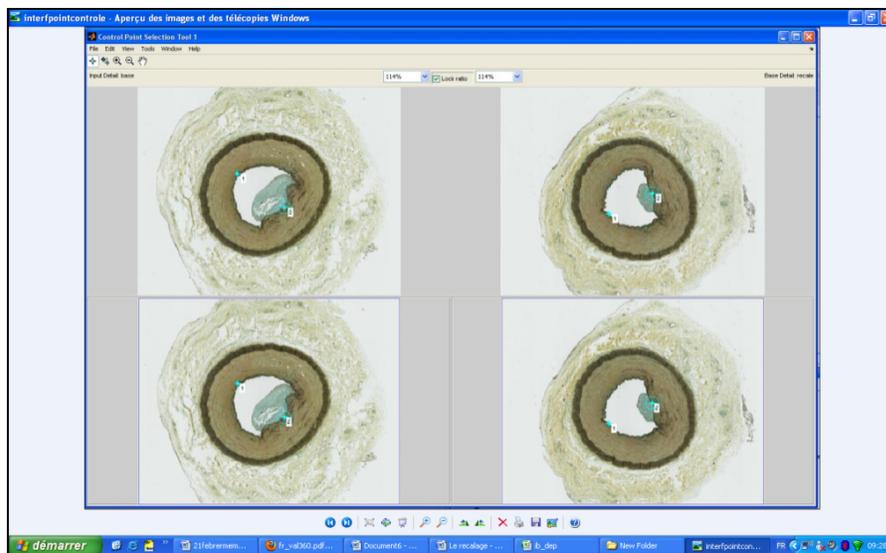


Figure 3.16 Interface Matlab de sélection des points de contrôle. À droite l'image de base et à gauche l'image à recalier.

Une fois les deux couples de points sont choisis, on commence le calcul les transformations affines. Elle se base sur la transformé de rotation, de translation et de symétrie.

Le programme commence alors par calculer la transformation de rotation. En calculant l'angle de rotation entre les deux droites (D1 et D2), qui passent par les points des deux couples de points sélectionnés. L'équation 3.6 est l'équation utilisée pour calculer l'angle de rotation, tel que m_1 et m_2 sont les pentes des droites D1 et D2. Les deux premiers points des deux couples de points anatomiques appartiennent à la droite D1. Et les seconds points sur la seconde image appartiennent à la droite D2.

Ensuite l'algorithme calcule la matrice de transformation de translation suivant X et Y. Dans cette étape les barycentres des LEE des deux images sont choisis comme des points de contrôle. La LEE a souvent une forme ronde dans toutes les images. Le programme calcule la différence des coordonnées suivant x et y, et calcule la matrice de transformation de la translation (équation 3.7).

$$Tg(\alpha) = \text{abs}((m_2 - m_1) / (1 + m_1 \cdot m_2)) \quad (3.6)$$

$$T(X) = \begin{bmatrix} 1 & 0 & tx \\ 0 & 1 & ty \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (3.7)$$

Lors de la réalisation des coupes histologiques, certaines coupes sont déposées d'une manière non symétrique par rapport au reste des coupes histologiques. Pour la symétrie axiale, elle est effectuée selon le choix de l'utilisateur, comme montre la figure 3.17. Pour ceci le programme calcule, l'image de chaque pixel par rapport à l'axe des y ou des x jusqu'à ce qu'il parcoure les pixels de toute l'image.

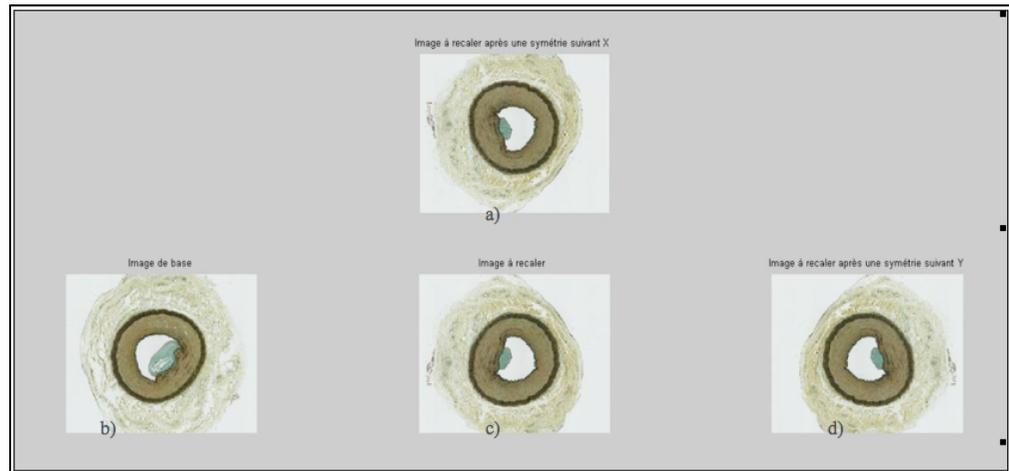


Figure 3.17 a) Affichage de l'image de base, b) l'image à recaler c) symétrie de l'image à recaler selon X, d) symétrie de l'image à recaler selon Y.

3.7 Caractérisation longitudinale : la reconstruction 3D des images recalées

Pour pouvoir visualiser longitudinalement la paroi vasculaire, nous avons utilisé la reconstruction 3D des segmentations sériées. Plus spécifiquement on a utilisé la technique du rendu d'iso-surface pour cette finalité. Les segmentations qu'on veut présenter en 3D, sont d'abord alignées à l'aide de l'algorithme de recalage.

L'algorithme de reconstruction 3D commence premièrement par organiser toutes les images binaires résultantes de la segmentation, et qui sont déjà recalées dans une matrice $(M \times N \times P)$. $M \times N$ est la taille des images et P est le nombre des images à reconstruire en 3D. Tandis que l'ordre du classement en Z est en fonction de la distance de chaque image de la bifurcation carotidienne. Un filtre 3D gaussien est appliqué pour lisser le volume. Cette opération est requise pour ne pas avoir des déformations géométriques et obtenir un volume 3D isotrope. Enfin, on effectue les correspondances par triangulation entre les points dont les valeurs d'intensité sont égales. La figure 3.18 présente un schéma explicatif de l'organisation des images recalées à reconstruire en 3D et le résultat de la triangulation entre les LEI de toutes ces images pour créer le volume 3D.

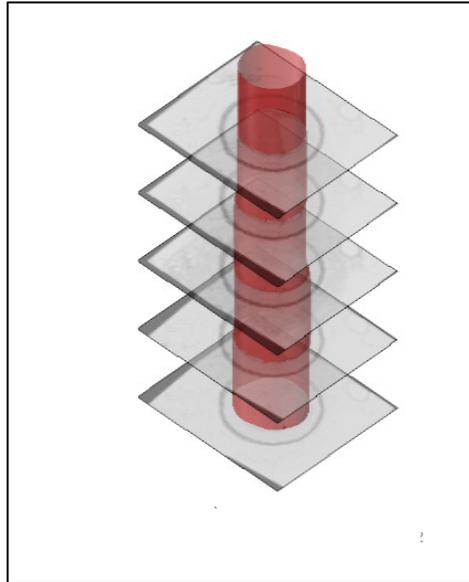


Figure 3.18 Reconstruction 3D de la LEI d'une série d'images du porc 27

3.8 Création d'interfaces utilisateurs

Pour faciliter l'interaction entre l'utilisateur et les programmes, des interfaces utilisateurs sont développées à l'aide de GUI-Matlab. Notre objectif est qu'elles soient faciles à utiliser, que toutes les analyses histomorphométriques soient accessibles et que les résultats puissent être enregistrés. Trois interfaces principales sont réalisées. La première permet de segmenter les coupes histologiques 2D sélectionnées par l'utilisateur. La seconde permet de faire le recalage des images. La dernière permet de créer et visualiser les volumes 3D. Ces interfaces sont indépendantes et leur utilisation dépend de l'objectif de l'utilisateur. Cependant le lien entre les trois interfaces est toujours réalisable car les résultats de chaque interface s'enregistrent automatiquement à la fin de la caractérisation. Nous présentons plus en détail chaque interface dans la partie résultat.

3.9 Protocole de validation des résultats

3.9.1 Validation intra utilisateur

Cette opération permet de vérifier la fiabilité de l'algorithme à produire la même caractérisation par le même utilisateur plusieurs fois. L'évaluation se repose sur la comparaison de la morphologie des résultats, en calculant la moyenne des distances euclidiennes (l'erreur locale), c'est-à-dire la moyenne des distances entre les points du premier contour et leurs correspondants dans le deuxième, dans la direction normale.

Pour l'évaluation de l'algorithme de la caractérisation transversale, le même utilisateur a segmenté deux fois la même région d'intérêt. L'opération est répétée pour plusieurs zones d'intérêt dont la morphologie est très variable. L'erreur locale est calculée pour les résultats de la segmentation de chaque zone d'intérêt.

Pour l'évaluation de l'algorithme du recalage, on a évalué la fiabilité du programme à avoir les mêmes résultats du même recalage effectué plusieurs fois par le même utilisateur. Ensuite l'erreur locale est calculée entre les segmentations du premier et deuxième recalage.

3.9.2 Validation inter utilisateur

Cette opération permet de valider la fiabilité de l'algorithme à produire les mêmes résultats par différents utilisateurs. En effet, on leur demande d'effectuer la même tâche et on compare la morphologie des résultats. De la même manière que pour la validation intra-utilisateur on calcule l'erreur locale entre les résultats à l'aide de la distance euclidienne.

Pour la caractérisation transversale, l'erreur locale est calculée entre les segmentations de la même zone d'intérêt réalisée par deux utilisateurs. Alors que pour le recalage, les utilisateurs recalent les mêmes couples d'images, les résultats sont comparés à l'aide de l'erreur locale.

3.9.3 Validation qualitative visuelle

Dans le but d'évaluer qualitativement les algorithmes de ce projet, on a choisi de valider visuellement la précision des segmentations par un pathologiste. Pour la caractérisation transversale, les segmentations de différentes zones histologiques sont classées par un pathologiste suivant trois catégories. Ces catégories indiquent le degré de correction qu'on doit apporter à une segmentation pour qu'elle épouse exactement les contours de la région d'intérêt. Il s'agit soit des segmentations nécessitant des corrections majeures, mineures ou pas de correction.

Cependant, il nous a été difficile d'évaluer la caractérisation longitudinale. En effet, pour évaluer le réalisme d'un volume 3D on doit disposer d'une modélisation 3D référence, ou d'un gold standard du volume, ce qui n'est pas le cas dans ce projet.

CHAPITRE 4

RÉSULTATS

Ce chapitre présente tout d'abord les résultats de la caractérisation transversale et longitudinale des artères analysées. Ensuite les résultats de la validation intra-utilisateur et inter-utilisateur de ces algorithmes sont présentés. Enfin, on présente les interfaces pour l'interaction avec les algorithmes développées.

La base de données de ce projet contient 55 images de coupes histologiques. Ces coupes proviennent des carotides droites des porcs 23, 24 et 27. On considère que ces coupes histologiques sont réalisées de façon non sériée quand elles sont prélevées tous les 4,5 millimètres (zone1) comme présenté dans la figure 4.1, et qu'elles sont réalisées de façon sériée lorsqu'elles sont prélevées tous les 400 micromètres (zone 2), voir figure 4.1. Le point d'origine de ces coupes histologiques est la bifurcation carotidienne ($Z=0$).

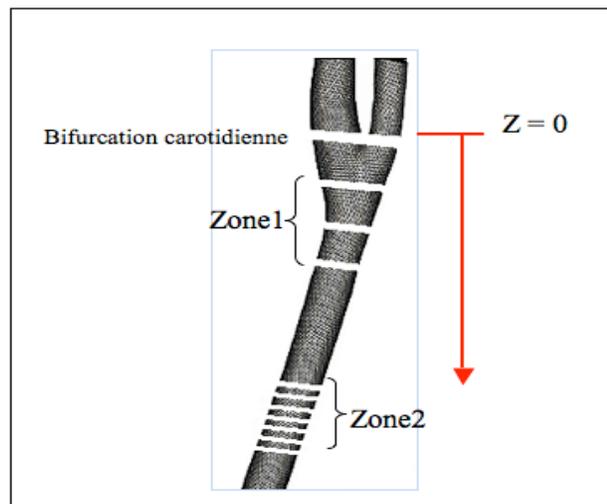


Figure 4.1 Schéma de la réalisation des coupes histologiques

Les coupes histologiques obtenues à partir des carotides porcines sont très variées. Il y a des coupes normales où on peut distinguer parfaitement la media, l'intima et l'adventice, comme le présente la figure 4.2.

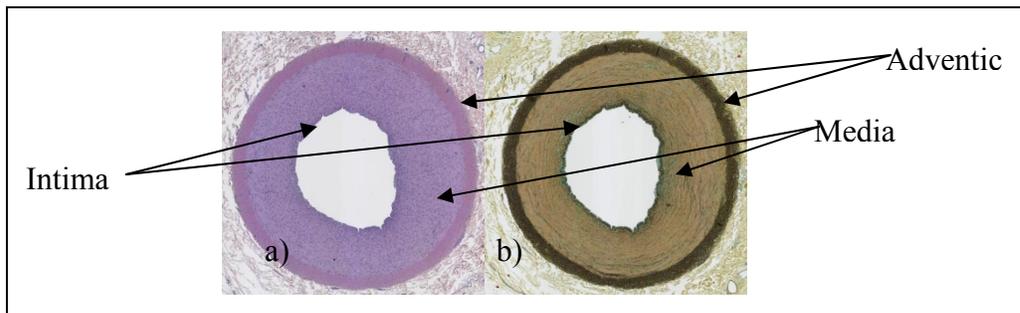


Figure 4.2 Même coupe histologique avec deux colorations différentes
a) Coloration HPS et b) Coloration Movat

Cependant il existe d'autres coupes histologiques où c'est compliqué de déterminer les contours des zones d'intérêts. Ceci est dû à une altération sévère du tissu vasculaire, dont la figure 4.3 présente deux exemples. La figure 4.3-a) présente un cas où c'est difficile d'identifier la lumière du vaisseau à cause des plis dans le tissu de la néo-intima. La figure 4.3-b) présente un cas où la media est très endommagée à cause d'un fil de suture. Il était placé au début de l'élevage des pores pour créer une sténose artificielle locale, et aussi pour générer une plaque d'athérome.

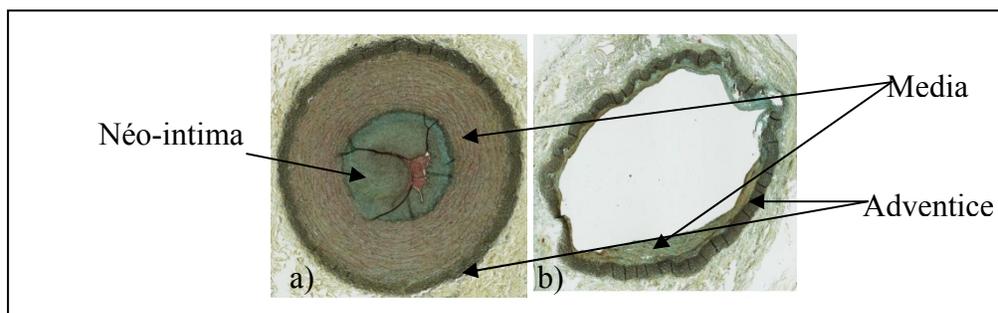


Figure 4.3 Coupes histologiques dont les paramètres sont endommagés.
a) Une néointima très importante au niveau de la media. b) Une media très endommagé à cause d'un fil de suture.

Les coupes histologiques très endommagées sont exclues de la base de données pour la validation des résultats. Car l'objectif est la validation de tous les algorithmes de la caractérisation développés dans ce projet.

4.1 Résultats de la caractérisation transversale

4.1.1 Résultats de la segmentation

Ci-dessous, on présente quelques résultats typiques de chaque partie de l'algorithme de segmentation. Ces résultats de segmentation ne sont pas ajustés à la main par l'utilisateur. Les deux figures 4.4 et 4.5 présentent une segmentation des LEE, LEI et de la lumière de deux coupes histologiques différentes. La différence est au niveau de la morphologie de la paroi vasculaire et du contraste de la coloration. Ce sont deux coupes histologiques colorées Movat des carotides droites des porcs 23 et 27.

On remarque que malgré la différence des formes des zones d'intérêts, l'algorithme permet une très bonne segmentation de celles-ci.

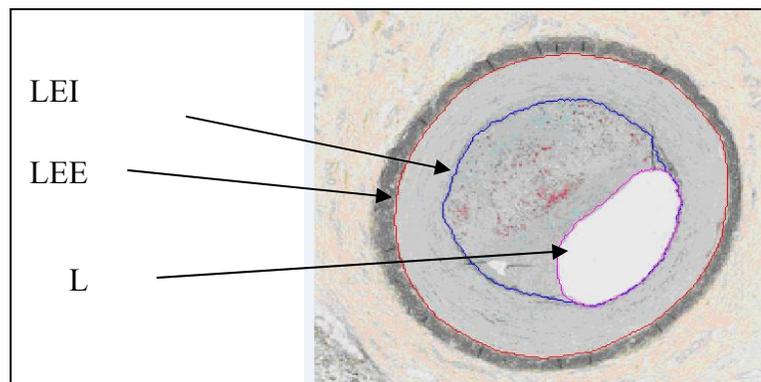


Figure 4.4 Segmentation des paramètres histologiques d'une coupe histologique du porc23

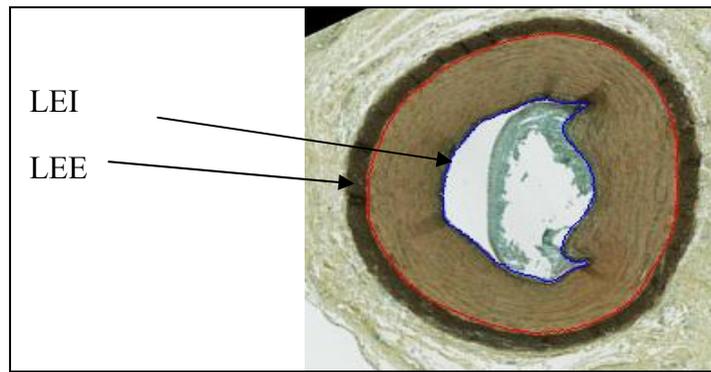


Figure 4.5 Segmentation des paramètres histologiques d'une coupe histologique du porc27

La figure 4.6 présente les résultats de la segmentation du tissu calcifiés avec l'algorithme de caractérisation d'autres régions. C'est une coupe histologique de la carotide droite du porc 27, colorée en Von-Kossa. Comme déjà mentionné, dans notre projet on a utilisé cette coloration pour détecter les dépôts calcifiés dans la néo-intima.

Aussi l'algorithme est capable de suivre toutes les variations du contour de la zone d'intérêt et fournit des résultats très satisfaisants.

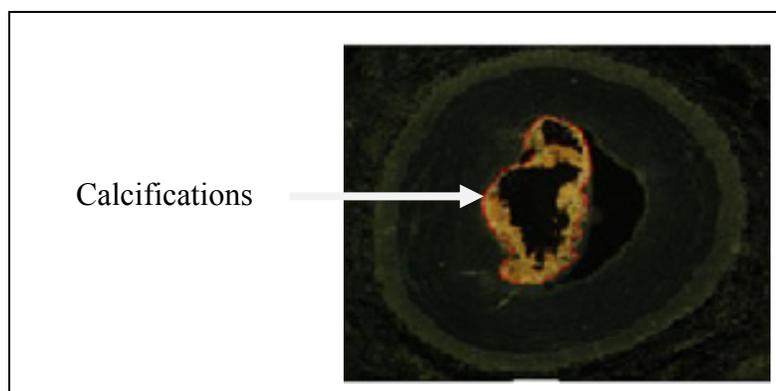


Figure 4.6 Caractérisations des calcifications sur une coupe histologique de la carotide droite du porc 27

4.1.2 Résultats du recalage pour un affichage simultané

L'algorithme de recalage d'images permet de visualiser les différentes segmentations d'une coupe histologique avec multiples colorations sur une seule image. C'est ce qu'on appelle la fusion des caractérisations transversales provenant de plusieurs colorations histologiques.

La figure 4.7 présente en même temps les résultats de caractérisation d'une coupe histologique colorée Von Kossa et Movat. Les caractérisations des LEI, LEE et lumière sont présentées sur l'image Movat et la caractérisation des calcifications sur l'image Von Kossa.

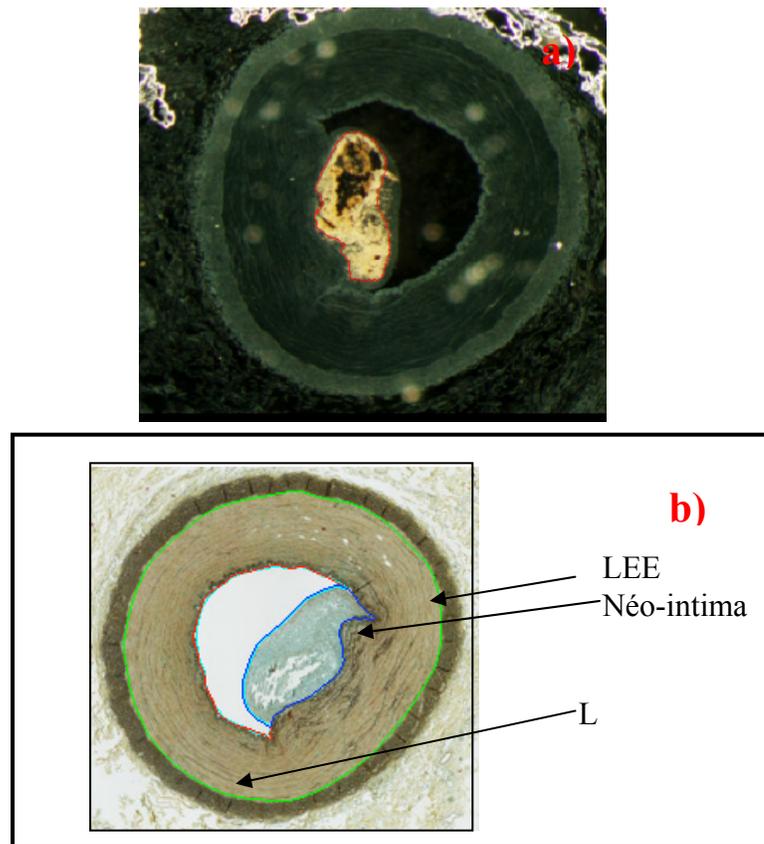


Figure 4.7 a) Caractérisation des calcifications et b) caractérisations des LEE, LEI, L de la même coupe histologique du porc27

La figure 4.8 présente un affichage simultané (fusion des caractérisations) des caractérisations présentées dans la figure ci-dessus.

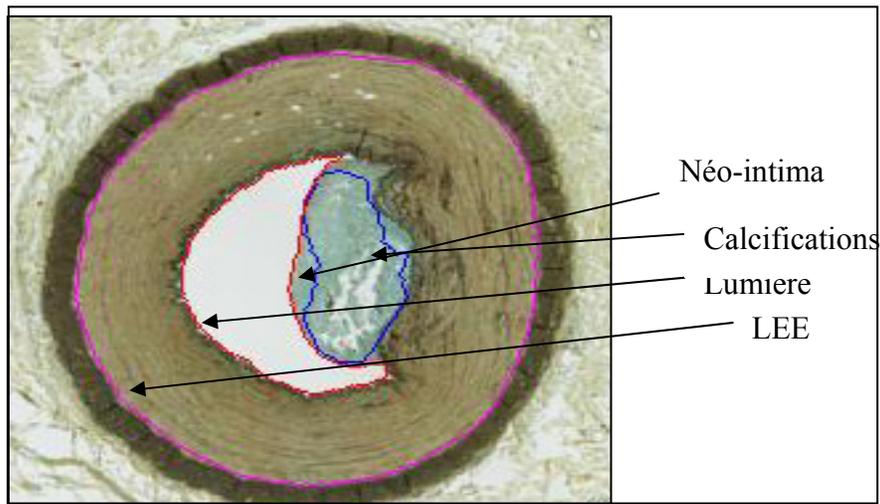


Figure 4.8 Fusion des caractérisations
de la figure 4.7 et la figure 4.8

4.2 Résultats du recalage et de la caractérisation longitudinale

L'algorithme de caractérisation longitudinale permet de reconstruire en 3D toutes les caractérisations transversales recalées. Il permet également d'afficher un ou plusieurs volumes à la fois. La figure 4.9 présente les résultats du recalage de deux images sériées successives.

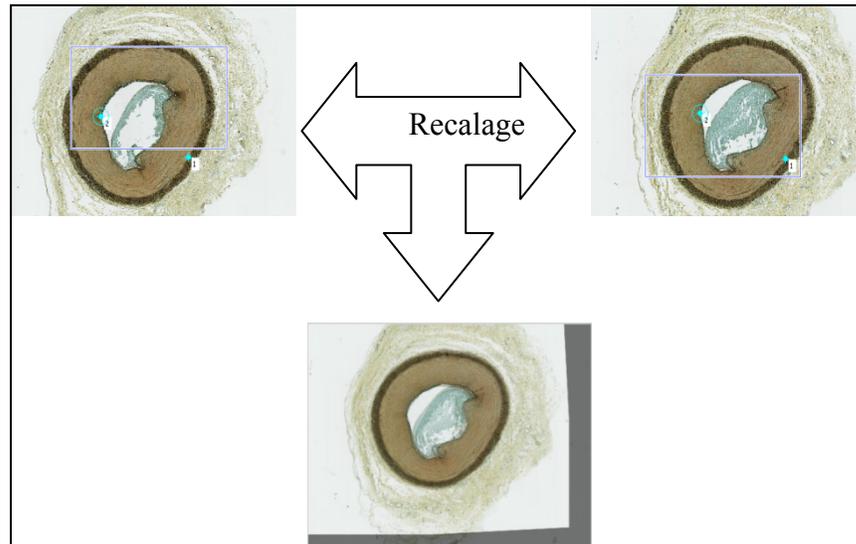


Figure 4.9 Recalage de deux images séries

Le volume de la figure 4.10 présente la paroi vasculaire du porc 27 avec la néo-intima en utilisant l'algorithme de caractérisation longitudinal. L'utilisateur a choisi de construire en magenta la LEE, et la LEI est composée de la lumière (en rose) et de la néo-intima (en vert). Le volume en jaune correspond aux calcifications au sein de la plaque d'athérome.

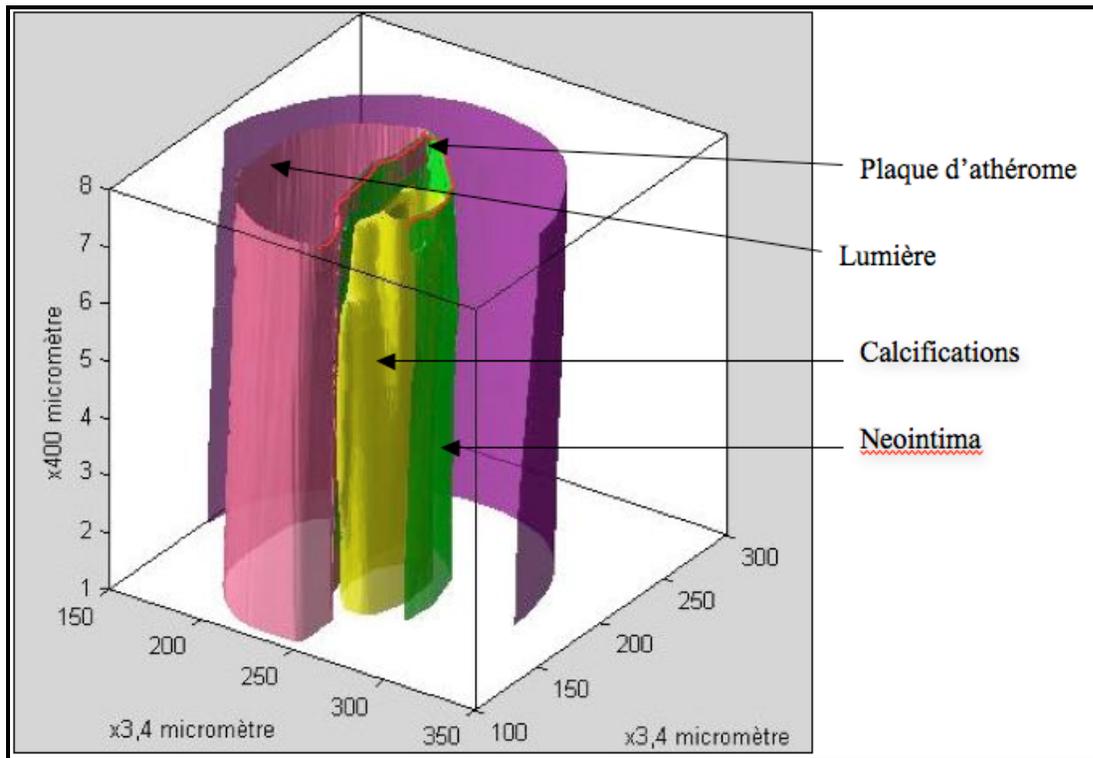


Figure 4.10 Reconstruction longitudinale de la paroi vasculaire d'un segment de la carotide du porc 27

4.3 Résultats de la caractérisation quantitative

À la fin de la caractérisation transversale des coupes histologiques du porc 27, l'algorithme génère un fichier Excel. Celui-ci contient toutes les informations de l'identification des coupes caractérisées. Les résultats de la quantification des aires des régions segmentées, c'est à dire les caractérisations quantitatives des LEE, LEI, lumières et toutes autres zones d'intérêts segmentées. À partir de ces données on calcule le rétrécissement intraluminal (RIL) et la surface relative de la média (SRM).

Le fichier Excel du porc 27 est mis en annexe I comme exemple. Les graphes de la figure 4.12 et 4.13 sont tirés du même fichier Excel, ils permettent d'analyser la variation du rétrécissement intra-luminal et de la surface relative de la média le long de l'artère étudiée.

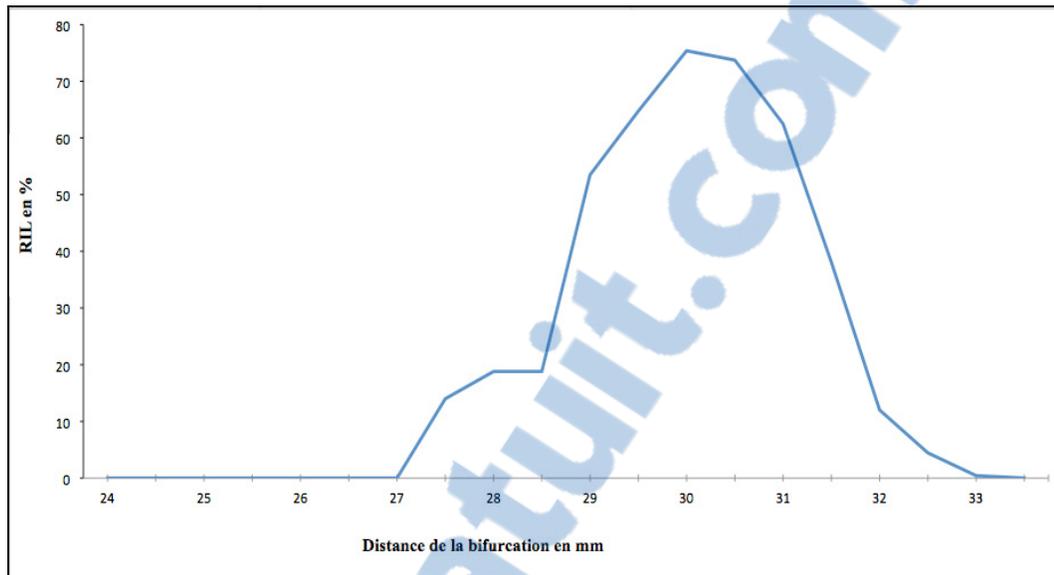


Figure 4.11 Rétrécissement intra luminal en fonction de la distance de la bifurcation carotidienne pour le porc 27.

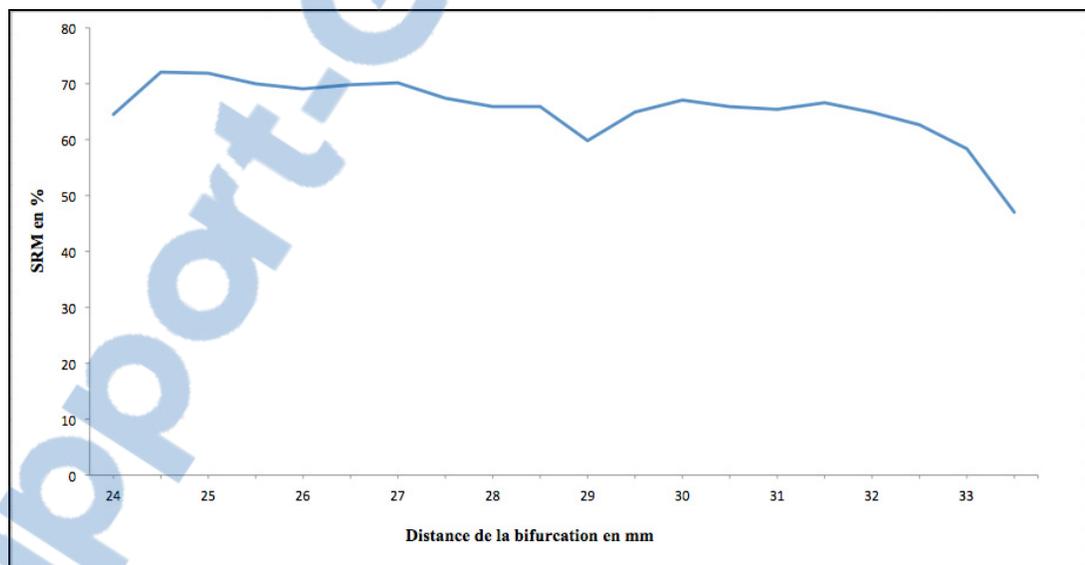


Figure 4.12 Surface relative de la media en fonction de la distance de la bifurcation carotidienne pour le porc 27.

4.4 Résultats de la validation

4.4.1 Validation de l'algorithme de caractérisation transversale

Pour évaluer l'algorithme par le même utilisateur (intra-utilisateur) et par deux utilisateurs (inter-utilisateur), on se base sur la comparaison de la morphologie des segmentations de chaque image. Le protocole est expliqué dans la partie méthodologie. Les graphes des figures 4.13 et 4.14 présentent l'erreur locale en fonction des images utilisées pour la validation. Elles sont numérotées pour faciliter la présentation. On a choisi d'évaluer l'algorithme pour la caractérisation de la LEE, LEI et la lumière de la paroi vasculaire puisqu'on a une base de données très variée. Le premier graphe de la figure 4.14 présente la validation intra-utilisateur et le deuxième la validation inter-utilisateur.

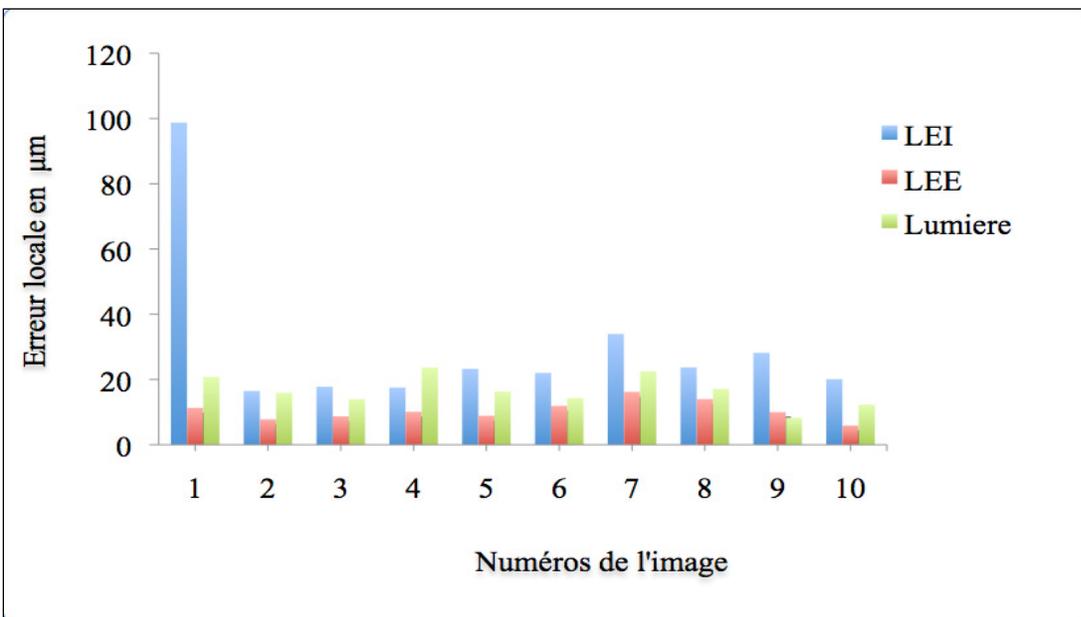


Figure 4.13 Évaluation de la validation intra-utilisateur de l'algorithme de caractérisation transversale

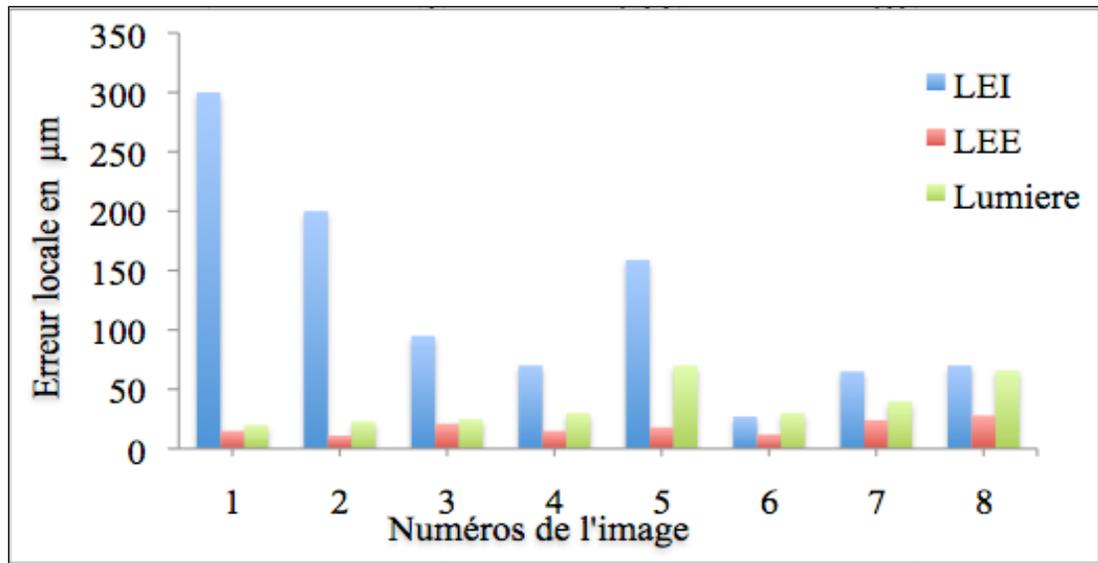


Figure 4.14 Évaluation de la validation inter-utilisateur de l'algorithme de caractérisation transversale

La validation intra-utilisateur et la validation inter-utilisateur des caractérisations histologiques présentées dans les figures 4.13 et 4.14, montrent que généralement la caractérisation de la LEI, présente l'erreur locale la plus élevée par rapport aux autres caractérisations.

Plus spécifiquement, la validation intra utilisateur de la LEI de la première image présente une erreur locale maximale ($98,7\mu\text{m}$) avec un écart type de ($6,4\mu\text{m}$), ceci prouve que les deux segmentations comparées ont une morphologie très différente. De même pour la validation inter utilisateur l'erreur locale maximale de la caractérisation de la LEI est de ($300\mu\text{m}$) avec un écart type de ($17,6\mu\text{m}$). Aussi ces résultats démontrent qu'il y a une grande variation entre les formes des segmentations de la LEI de la première image.

En effet la LEI est une zone qui subit plusieurs changements depuis l'apparition de l'athérosclérose et la formation de la plaque d'athérome jusqu'à la préparation des coupes histologiques. C'est pourquoi c'est une zone généralement avec une morphologie compliquée. De plus, l'interprétation visuelle des contours de la région d'intérêt diffère d'un utilisateur à l'autre. Ce qui explique les résultats obtenus.

Pour les autres zones, la LEE et la lumière, l'erreur locale de la validation inter et intra utilisateurs n'est pas très grande. Car leurs morphologies sont généralement moins complexes.

Tableau 4.1 Évaluation qualitative visuelle de l'algorithme de caractérisation transversale

Segmentation Corrections	Lumière	LEI	LEE
mineures	15%	40%	10%
majeures	7%	20%	2%
Pas de correction	78%	40%	88%

Le tableau 4.1 présente les résultats de l'évaluation qualitative visuelle de l'algorithme de caractérisation transversale par un pathologiste en pourcentage du nombre total des caractérisations. Les segmentations sont réalisées et enregistrées sans aucune modification. Ensuite ils sont classés suivant une échelle de correction manuelle des segmentations (mineures, majeures et pas de correction).

On remarque que d'une manière générale l'algorithme de segmentation de la LEE et de la lumière permet une bonne détection des zones d'intérêt. Cependant, la caractérisation de la LEI a souvent besoin de quelques corrections, généralement mineures, à cause des irrégularités morphologiques.

4.4.2 Validation de l'algorithme du recalage

Comme pour la caractérisation transversale la validation de l'algorithme du recalage est réalisée par le biais de la validation inter-utilisateur et intra-utilisateur. Le graphe de la figure 4.15 présente les résultats de la validation intra-utilisateur et de la validation inter-utilisateurs.

L'erreur locale entre les caractérisations longitudinales est présentée en fonction des couples d'images recalées. On remarque que l'erreur locale de la validation inter-utilisateur est plus grande par rapport à celle de la validation intra utilisateur. Car le jugement visuel de l'emplacement des points anatomiques pour faire le recalage est très variable d'un utilisateur à l'autre. D'après les deux validations inter et intra utilisateur les erreurs locales entre les caractérisations du premier et deuxième recalage sont généralement importantes.

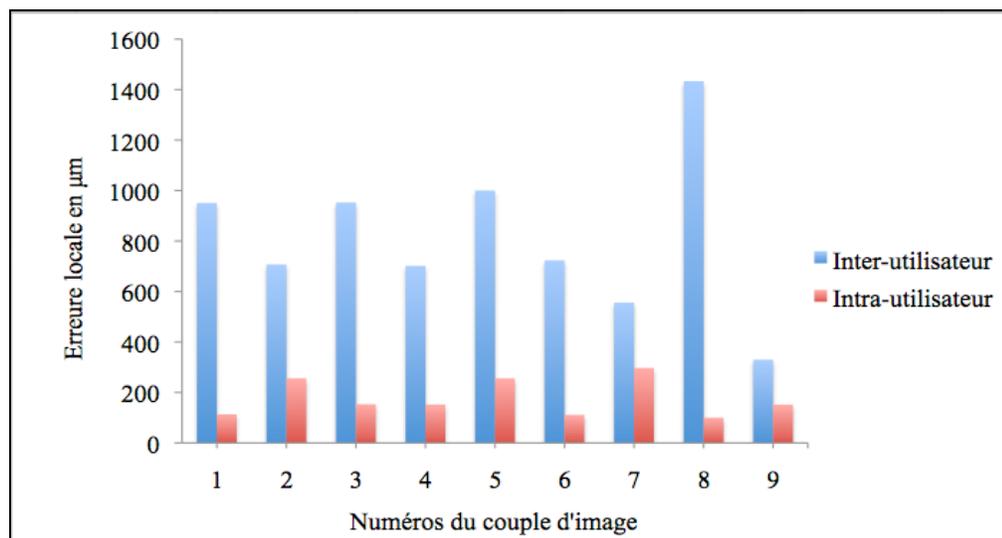


Figure 4.15 Évaluation de la validation inter-utilisateur et intra-utilisateur de l'algorithme de caractérisation longitudinale

4.5 Interface graphique

4.5.1 Interface de caractérisation transversale

Cette interface (figure4.16) permet à l'utilisateur de segmenter les différents paramètres histologiques de la paroi vasculaire d'une manière interactive.

L'interface permet à l'utilisateur de nommer et de créer le document Excel où les résultats sont organisés (zone1). Les informations de l'identification sont : la taille de chaque pixel, la coloration de la coupe, la distance de la bifurcation et le nom du porc (zone2). L'interface permet aussi de choisir entre les différentes caractérisations transversales (zone3). L'initialisation de celle-ci et les résultats sont présentés successivement dans la même fenêtre

d'affichage (zone4). En plus dans le même onglet on peut ajuster manuellement les résultats et enregistrer.

4.5.2 Interface de recalage

L'interface de recalage (figure 4.17) permet d'aligner une série d'images. Elle est conçue pour faire le recalage des images en niveau de gris et leurs caractérisations. Ceci permet de faire une reconstruction 3D des segmentations et d'afficher plusieurs segmentations sur la même image.

Au début, le couple d'images et ses caractérisations sont chargés. Ensuite le reste des caractérisations de ces images sont chargées à l'aide du deuxième bouton poussoir.

À l'exécution du bouton 'recalage' l'algorithme du recalage est lancé. L'utilisateur doit spécifier ainsi les points de contrôle sur chaque image. L'interface permet toujours de visualiser les résultats du recalage même si c'est une série d'images. Dans le cas où l'utilisateur préfère refaire un recalage à partir d'une image, sans avoir à parcourir toute la série au complet, il n'a qu'à exécuter le bouton dédié pour cet objectif. Pour finir, tous les résultats sont enregistrés avant de quitter l'application

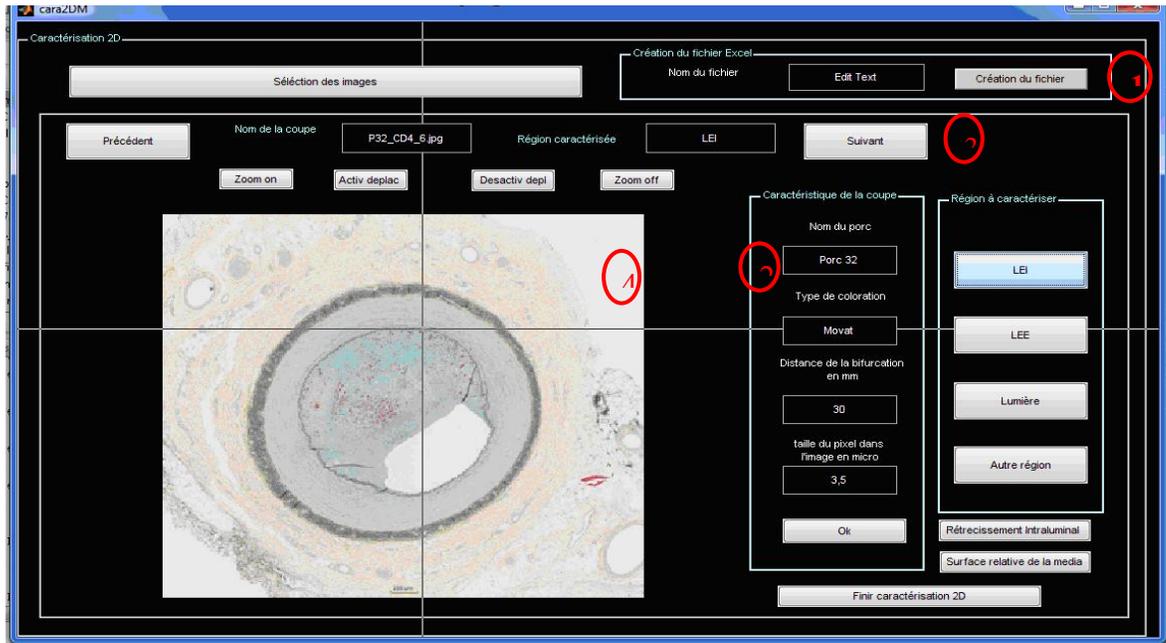


Figure 4.16 Interface utilisateur de la caractérisation transversale

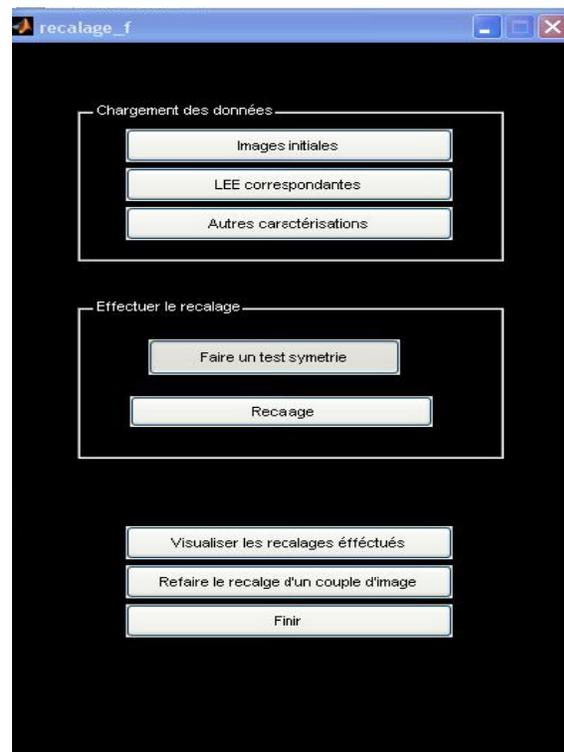


Figure 4.17 Interface utilisateur recalage

4.5.3 Interface de reconstruction 3D

Cette interface permet de générer un volume 3D des caractérisations sélectionnées. L'utilisateur charge les segmentations à reconstruire et choisit la couleur du volume de la reconstruction 3D. Le volume s'affiche complètement, cependant à l'aide du curseur l'utilisateur peut explorer l'intérieur du volume. S'il s'agit de plusieurs volumes à afficher simultanément, les caractérisations de chaque volume sont chargées successivement et la couleur du volume peut être changée d'un volume à l'autre. Tous les volumes seront affichés simultanément avec les couleurs spécifiées.

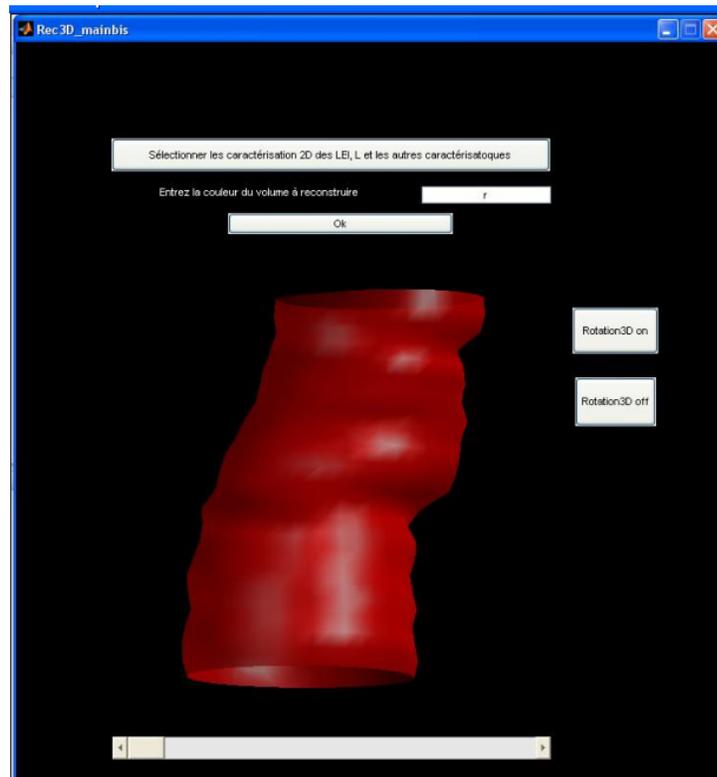


Figure 4.18 Interface utilisateur de reconstruction 3D

4.6 Corrélation histologie et élastographie

4.6.1 Corrélation des données avec les données d'élastographie transverse

Afin d'évaluer la possibilité de corréler les résultats de la caractérisation histomorphométrique obtenus et les données d'élastographie endovasculaire, nous avons étudié le cas du porc 27, qui avait une plaque d'athérome intéressante. La figure 4.19 présente un graphe résumant les patrons de déformation le long d'un segment de l'artère, obtenu par élastographie. La figure 4.20 présente les résultats de la caractérisation histomorphométrique quantitative, obtenus dans la zone de la plaque, soit le rétrécissement intra-luminal. En dehors de cette plaque, le rétrécissement intra-luminal est presque nul.

L'analyse élastographique détecte une plaque très importante (figure 4.19) avec des patrons de déformation très grands vers 30mm de la bifurcation carotidienne du porc 27.

En comparant l'emplacement de la plaque d'athérome entre histologie et élastographie par rapport à la bifurcation carotidienne, on voit cependant que la distance n'est pas exactement la même dans les 2 cas. Ceci est probablement à cause que l'histologie permet une précision au micromètre près par contre l'élastographie est au millimètre près.

Aussi pour plus de précision sur la quantification des différentes régions histologiques présentes dans la paroi vasculaire en fonction de la distance, on suggère de voir le fichier Excel en Annexe I.

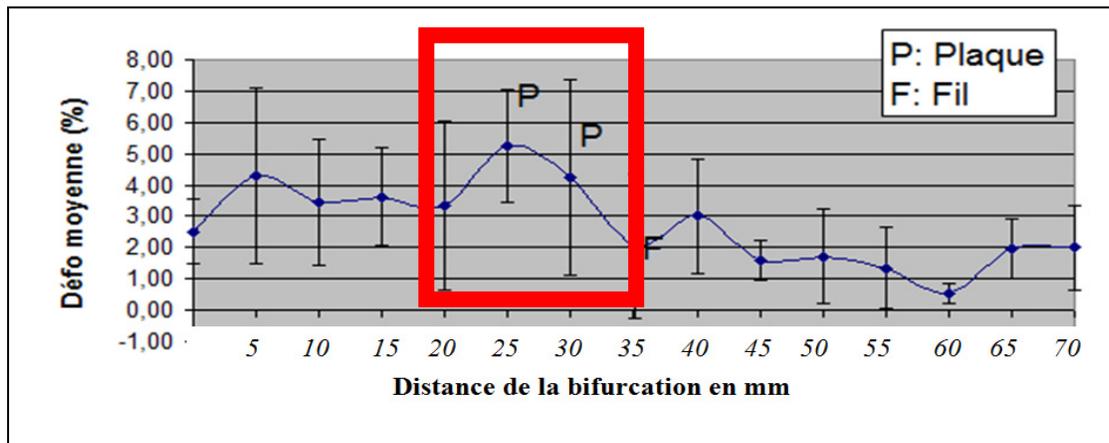


Figure 4.19 Graphe présentant le patron de déformation d'un segment de la carotide droite du porc 27.

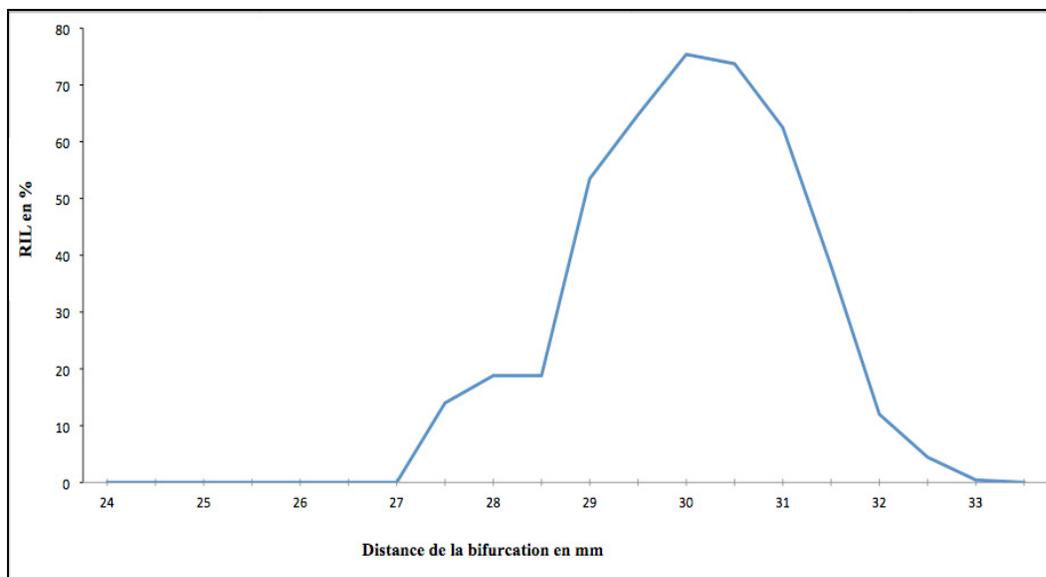


Figure 4.20 Pourcentage de rétrécissement intra luminale en fonction de la distance à la bifurcation pour la carotide droite du porc 27.

Notre algorithme de caractérisation histomorphométrique transversale permet la visualisation des segmentations réalisées. Ceci permet à l'utilisateur de vérifier la composition histologique des différents tissus existant dans la plaque d'athérome en fonction de la distance de la bifurcation. La figure 4.21 présente des images échographiques et les élastogrammes correspondants de la plaque d'athérome du porc 27. Ensuite la même figure présente la caractérisation histomorphométrique transversale d'une coupe histologique au

niveau du sommet du rétrécissement intra-luminal (29,7mm de la bifurcation). Elle montre que la plaque est constituée d'une mince chape fibreuse recouvrant une zone à la fois calcifiée et lipidique. De plus, on peut déduire les pourcentages des zones calcifiées et lipidiques dans la plaque d'athérome sur chaque coupe.

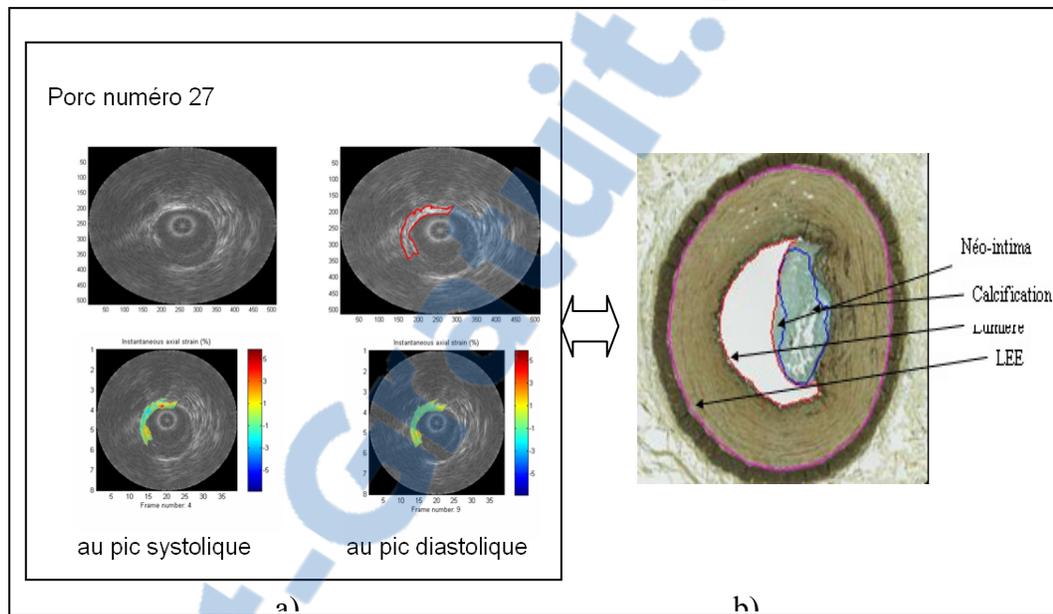


Figure 4.21 a) Caractérisation par élastographie.
b) Caractérisation histomorphométrique transversale

4.6.2 Corrélation des données avec les données d'élastographie non invasive

Pour corrélérer avec la NIVE, l'utilisateur peut explorer longitudinalement et qualitativement les tissus de la paroi vasculaire. La figure 4.22 présente premièrement la caractérisation par élastographie NIVE et ensuite de la caractérisation histomorphométrique longitudinale du même segment de la carotide droite du porc 27. Il s'agit de la plaque d'athérome (présentée en vert), la lumière du vaisseau et la LEE.

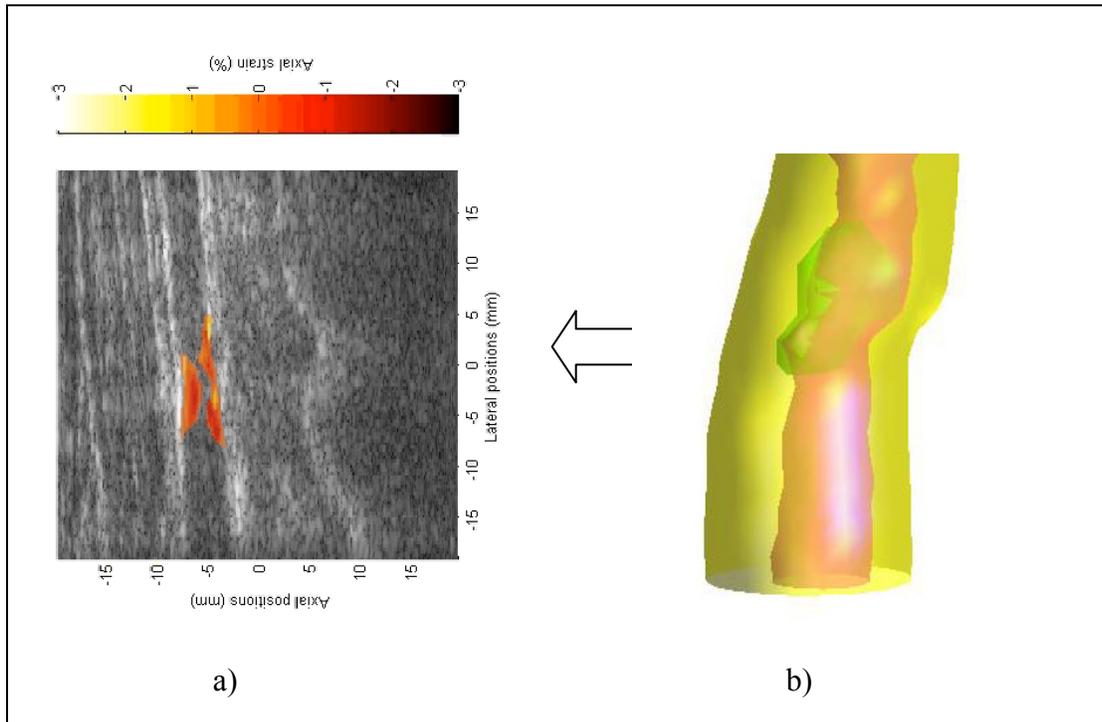


Figure 4.22 a) Présentation d'un élastogramme NIVE de la carotide droite du porc 27 b) Caractérisation longitudinale de la même artère

CHAPITRE 5

DISCUSSION

Ce mémoire de maîtrise s'inscrit dans le cadre de la validation de l'élastographie vasculaire ultrasonore, une nouvelle technique d'imagerie qui permet la caractérisation mécanique de la paroi vasculaire et des plaques d'athérome. Plus précisément, ce mémoire a pour but le développement des méthodes de segmentation et de reconstruction 3D des images de coupes histologiques de vaisseaux sanguins. Les résultats vont permettre une corrélation entre l'histologie et l'élastographie, et ainsi pouvoir valider cette nouvelle technique d'élastographie. Nous disposons pour cette finalité des coupes histologiques transverses de vaisseaux de porcs Sinclair, où l'athérosclérose et le diabète sont induits par une diète riche en cholestérol. Les plaques d'athérome obtenues sont très variées, allant du type II au type V, d'après la classification de l'American Heart Association Committee on Vascular Lesions.

Les principaux objectifs de ce projet se divisent en deux parties. Une partie qui se repose sur la segmentation et la caractérisation histomorphométrique de coupes transverses, pour la corrélation avec l'EVE. L'autre partie se repose sur la reconstruction 3D des données histologiques transverses afin de faire une corrélation avec la NIVE.

5.1 Segmentation et caractérisation histomorphométrique de coupes transverses

Le principe de l'élastographie est de caractériser les régions tissulaires ayant des propriétés mécaniques différentes. Pour ceci, on a développé une méthode de caractérisation histologique transversale qui permet de segmenter les régions ayant des caractéristiques histologiques différentes. La méthode de segmentation des coupes histologiques est semi-automatique puisqu'une segmentation totalement automatique s'est avérée irréaliste, car parfois les coupes sont très endommagées. La technique requiert donc une initialisation sous forme d'une information à priori donnée par l'utilisateur. Celui-ci délimite la région d'intérêt en sélectionnant des points du contour de la zone. Ensuite l'algorithme continue la segmentation d'une manière automatique en utilisant l'information couleur et texture de l'image.

À partir d'une coloration Movat de la coupe histologique, l'algorithme de la caractérisation transversale permet de segmenter la LEE qui délimite la média et l'adventice, ainsi que la LEI qui sépare la média de l'intima et la lumière du vaisseau sanguin. L'application permet également la quantification des aires des régions segmentées, et ainsi le calcul d'autres paramètres de la caractérisation histologique, comme le pourcentage de la réduction intraluminale. Celui-ci est un critère important pour l'analyse de la sévérité des plaques et des sténoses. Pour faciliter l'interaction de l'utilisateur avec les algorithmes, on a développé une interface utilisateur. Elle facilite la caractérisation histomorphométrique en assurant une manipulation très aisée. Aussi elle permet d'obtenir et d'enregistrer les contours et les aires des régions d'intérêt, ainsi que le pourcentage de la réduction intra-luminale et l'épaisseur relative de la média de façon la plus automatisée possible. Outre la LEE, la LEI et la lumière, l'application permet la caractérisation d'autres zones d'intérêt à partir d'autres colorations histologiques que la coloration Movat, comme les zones lipidiques, les zones calcifiées et le tissu fibreux. Ceci est un point très important, car les travaux de recherche montrent que l'évaluation mécanique de la vulnérabilité des plaques est liée à l'analyse des différents composants tissulaires. Vu la diversité des couleurs et des textures de la base de données à cette étape, l'algorithme demande plus d'intervention de l'utilisateur en comparaison à la segmentation des LEE, LEI et Lumière.

Cette interface peut être très utile pour les pathologistes lors des caractérisations histologiques. Outre son utilité pour la validation de l'élastographie, elle pourrait être utilisée pour d'autres projets d'analyse histologique des vaisseaux sanguins. Elle permet d'archiver toutes les caractérisations, qu'elles soient qualitatives ou quantitatives. Ces dernières sont enregistrées dans un fichier Excel qui présente toutes les informations reliées aux coupes histologiques caractérisées avec les résultats des analyses histomorphométriques quantitatives. L'algorithme de segmentation à base de la technique d'anamorphose est très robuste pour la détection des formes avec plusieurs irrégularités. Puisque généralement les zones d'intérêt d'origine histologique ont une morphologie très compliquée, à cause de la pathologie ou du processus de la préparation des coupes histologiques. L'algorithme permet aussi d'effectuer les analyses histologiques dans des délais très courts, car il restreint la zone de travail à partir de l'information a priori. Dans la partie résultats on a présenté sa robustesse à produire et à répéter les mêmes segmentations de la LEE et lumière par un ou plusieurs

utilisateurs. Cependant on considère que l'évaluation de reproductibilité des résultats pour le programme de segmentation de la LEI est bonne, car les erreurs détectées sont à cause de la nature de la zone d'intérêt qui est parfois difficile à limiter même à l'œil nu. De plus l'interface de segmentation et à l'aide de l'interface de recalage permet de réaliser un affichage simultané des différentes régions segmentées. C'est à dire fusionner l'affichage des différentes segmentations provenant de différentes coupes histologiques et les présenter sur la même image pour une interprétation visuelle plus facile.

Malgré la satisfaction des résultats du programme, il reste toujours plusieurs points à améliorer. Une chose à améliorer serait de permettre la segmentation automatiquement de régions d'intérêt non connectées. En effet, certaines zones histologiques (fibreuse, calcifiées...) peuvent se trouver à plusieurs endroits éparses dans la paroi vasculaire. Pour l'instant, on propose une segmentation manuelle pour ces cas-là, mais ceci n'est pas optimal et une segmentation semi-automatique permettrait de faciliter la tâche du pathologiste et réduire le temps du traitement. De plus, il serait bien de permettre une meilleure différenciation des zones ayant des caractéristiques tissulaires différentes, notamment de mieux segmenter les zones fibreuses, lipidiques ou inflammatoires. Cette limite est cependant davantage liée aux limites des colorations histologiques qu'à notre projet proprement dit. Enfin il serait intéressant d'avoir une plus grande base de données histologiques. L'amélioration de ces deux points permettrait une évaluation mécanique plus précise de la plaque, et une corrélation avec l'élastographie plus rigoureuse.

5.2 Reconstruction 3D et caractérisation histomorphométrique longitudinale

L'élastographie non invasive (NIVE) est le deuxième type d'élastographie vasculaire étudié au LBUM. Obtenue à l'aide d'une sonde externe, elle permet de discriminer les différentes régions histologiques de la paroi d'une manière longitudinale. Pour pouvoir faire une corrélation entre les résultats de la NIVE et ceux de l'histologie, on a développé une méthode de modélisation 3D de la paroi vasculaire. Il s'agit d'une application pour la reconstruction 3D des différentes zones de la paroi artérielles déjà caractérisées transversalement.

Lors de la réalisation des sections histologiques que les coupes subissent des translations, des rotations et des symétries. C'est pourquoi on a développé un algorithme de recalage rigide, pour aligner les images sans modifier l'information histologique initiale. Afin de faciliter l'interaction entre l'utilisateur et l'algorithme, on a conçu une interface utilisateur dédiée spécifiquement au recalage. Celle-ci est utilisée pour la fusion de l'affichage de différentes segmentations (présentées plus en haut) lors de la caractérisation transversale, ainsi que pour effectuer une reconstruction 3D. Les images de ce projet ne disposant pas de points contrôles naturels, l'interface propose alors un outil de sélection manuel de ces points. L'information tirée de cette étape, en plus des données naturelles des images, sont utilisées pour calculer les transformations affines (rotation, translation, symétrie axiale) du recalage rigide. L'application permet de recalibrer les images initiales et leurs segmentations 2D réalisées lors des caractérisations transversales. Pour évaluer la validité du recalage, une fonction a été créée permettant à l'utilisateur d'aligner une série d'image dans une seule opération de recalage, afin de revoir les résultats au cours du processus, et de refaire certains recalages qui ne seraient pas satisfaisants.

L'algorithme rendu de volume permet de créer des volumes des tissus histologiques à base de la technique isosurface. Aussi une interface pour la modélisation 3D a été conçue. Elle permet de présenter en 3D chaque région histologique séparément et ensuite d'afficher tous les volumes ensemble. Le volume résultats permet une évaluation visuelle qualitative de la paroi vasculaire d'une manière longitudinale.

Cependant, il y a plusieurs points à améliorer pour la caractérisation histomorphométrique longitudinale. Premièrement il serait utile d'avoir un 'Gold standard' pour la validation de la reconstruction 3D. Il permettra d'évaluer la précision de la technique et sa fiabilité à présenter la réalité. Cette référence peut être générée avant la réalisation des coupes histologiques à l'aide d'une autre technique d'imagerie comme le TDM, c'est-à-dire de scanner la paroi vasculaire avant de commencer à sectionner l'artère. De plus, les résultats de la validation du recalage montrent la grande sensibilité du programme au choix des points anatomiques par l'utilisateur. Étant donné le caractère arbitraire de sélection manuel des points de contrôle, l'algorithme de recalage constitue la principale limite de ce travail. Nous avons essayé d'exploiter au maximum l'information naturelle et anatomique de chaque

image comme les caractéristiques similaires sur les coupes histologiques, pour rendre l'initialisation de l'algorithme à cent pour cent automatique. Mais étant donné qu'il y a plusieurs facteurs qui agissent indépendamment sur chaque coupe histologique (pathologie, processus de réalisation des coupes histologiques, techniques de coloration...) les informations cibles changent d'une image à l'autre. Ceci dit, il y a eu une tentative pour la création des points de références par encre de chine, avant la création des coupes, mais l'expérience n'a pas réussi. Donc il faut penser à d'autres techniques plus résistantes et permanentes pour marquer les points anatomiques sur les images et assurer un recalage plus robuste. Aussi on a pensé à une minimisation des résultats du recalage pour plus de précision. Enfin, la reconstruction 3D ne fournit pour l'instant pas de données quantitatives. Pour permettre une véritable corrélation avec l'élastographie longitudinale, il faudrait penser à avoir une méthode de quantification longitudinale des tissus histologique. Ceci reste un des points forts à améliorer dans ce projet.

CONCLUSION

L'athérosclérose est une maladie cardiovasculaire inflammatoire dont les conséquences sont très graves. Elle est à l'origine du développement des plaques d'athérome au niveau de la paroi artérielle. Selon la composition histologique de cette plaque, on peut évaluer sa stabilité mécanique et identifier celles qui sont vulnérables, c'est-à-dire celles qui peuvent se détacher et causer plusieurs complications. Par exemple causer des infarctus, des AVC, des occlusions soudaines, des thrombus

Plusieurs techniques d'imagerie sont développées ou en cours de développement pour la détection de ces plaques vulnérables. Comme l'élastographie endovasculaire (EVE) et l'élastographie vasculaire non invasive (NIVE), qui sont en cours de validation à LBUM. Ces deux techniques sont particulièrement intéressantes, puisqu'elles permettent d'estimer les propriétés mécaniques des plaques, en cartographiant les modules de déformations et les modules de cisaillements pendant le cycle cardiaque.

Dans ce mémoire on a présenté une nouvelle technique de caractérisations histomorphométrique des coupes histologiques en 2D et 3D des artères athérosclérotiques. En vue de permettre une corrélation entre les résultats de caractérisation par histologie et par élastographie. Des interfaces utilisateurs sont développées pour permettre une meilleure manipulation des algorithmes et une organisation efficace des résultats. L'algorithme de segmentation est semi-automatique et se base principalement sur la technique de segmentation par anamorphose. Il permet une caractérisation de différentes zones histologiques d'une manière quantitative et qualitative. Tous les résultats sont enregistrés à la fin et un fichier Excel est généré pour présenter les résultats quantitatifs. L'algorithme de recalage permet d'aligner les images et leurs segmentations à base des transformations affines pour conserver l'information histologique. Il nécessite une initialisation manuelle pour spécifier les repères anatomiques sur les images. Cet algorithme est utilisé pour un affichage simultané des segmentations de diverses images. Aussi pour la caractérisation longitudinale. L'algorithme de reconstruction 3D se base sur la technique d'isosurface, il permet de créer un volume à partir des segmentations recalées de la

caractérisation transversale. Il permet de présenter les différents paramètres de la paroi vasculaire en 3D.

La validation des algorithmes s'est effectuée en évaluant la reproductibilité des résultats des caractérisations histomorphométriques par un ou plusieurs utilisateurs. Ces résultats s'avèrent satisfaisants pour la caractérisation des coupes transverses et permettent une corrélation qualitative et quantitative de l'histologie avec l'EVE. Quant à la reconstruction 3D, elle permet une évaluation qualitative et une présentation des différentes zones du volume de la paroi vasculaire. Cependant, beaucoup de chemin reste à parcourir en ce qui concerne l'algorithme de la reconstruction 3D, sa validation et sa corrélation avec la NIVE. Pour cela, il est essentiel de trouver un moyen efficace pour créer des repères anatomiques sur les images, ou de développer un algorithme de minimisation pour l'algorithme de recalage, afin de s'assurer de sa reproductibilité et de sa validité. De même, avoir un référence 3D pour vérifier la précision de l'algorithme de reconstruction 3D, permettra une validation plus efficace.

ANNEXE I

EXEMPLE : FICHER EXCEL DE LA CARACTÉRISATION TRANSVERSALE

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Nom du poic	Nom de la coupe	Type de coloration	Distance de la bifurcation en mm carré	La taille d'un pixel en micromètre	Lumière en mm carré	Limitante Élastique Interne en mm carré	Limitante Élastique Externe en mm carré	Rétrécissement Intra Luminal %	Surface Relative de la média %
2	P27	C07_0.jpg	Movat	24	3,5	20407,7	20006,6	70270,2	0	64,52153862
3	P27	C07_1.jpg	Movat	24,4	3,5	21563	21583,8	77282,1	0	72,0714111
4	P27	C07_2.jpg	Movat	24,8	3,5	20659,8	20671,2	76218,3	0	71,87576425
5	P27	C07_3.jpg	Movat	25,2	3,5	19471,2	19475,1	73561,5	0	69,98567586
6	P27	C07_4.jpg	Movat	25,6	3,5	18587,2	18581,4	71971,2	0	69,08430283
7	P27	C07_5.jpg	Movat	26	3,5	17629,9	17636,4	71587,8	0	69,81099116
8	P27	C07_6.jpg	Movat	26,5	3,5	17107,2	17107,2	71323,2	0	70,15337316
9	P27	C07_7.jpg	Movat	27	3,5	13697,1	16715,7	68812,2	13,98540912	67,41082346
10	P27	C07_8.jpg	Movat	27,5	3,5	11431,8	15489,9	66428,1	18,8016012	65,91202879
11	P27	C07_9.jpg	Movat	28	3,5	11431,9	15489,10	66428,2	18,8016012	65,91202879
12	P27	C08_0.jpg	Movat	28,8	3,5	3604,5	15149,7	61376,4	53,49011759	59,81553296
13	P27	C08_1.jpg	Movat	29,24	3,5	4733,1	18705,6	68879,7	64,73605204	64,92331342
14	P27	C08_2.jpg	Movat	29,7	3,5	3901,5	20717,7	72009,0	75,38153615	67,07542885
15	P27	C08_3.jpg	Movat	30,12	3,5	5124,6	21038,4	71963,1	73,73029772	65,89456032
16	P27	C08_4.jpg	Movat	30,6	3,5	6987,6	20474,1	71028,9	62,48436327	65,41592426
17	P27	C08_5.jpg	Movat	31	3,5	10181,7	18400,5	69870,6	38,07853892	66,60028648
18	P27	C08_6.jpg	Movat	31,44	3,5	13551,3	16143,3	66285,0	12,00900676	64,88138909
19	P27	C08_7.jpg	Movat	31,9	3,5	14615,1	15573,6	63992,7	4,440830623	62,6524124
20	P27	C08_8.jpg	Movat	32,34	3,5	13845,6	13937,4	59040,9	0,425318989	58,36215631
21	P27	C08_9.jpg	Movat	32,8	3,5	19772,1	19772,1	56111,4	0	47,02162597

Figure I.1

Fichier Excel généré par l'interface de segmentation

LISTE DES RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- America Olympus. 2010. « *Microscopes & Imaging Systems-Virtual Microscopy* ». In Le site d'Olympus. En ligne <http://www.olympusamerica.com/seg_section/seg_vm.asp>. Consulté le 22 janvier 2010.
- Broisat, A, et al. 2005. « *Physiopathologie de la plaque d'athérome vulnérable* ». Médecine nucléaire vol. 29 n° 4, p. 198-202.
- Canu, S. 2000. « *Interpolation polynomiale* ». Note de cours .Rouen :INSA.
- Chafik, A. 2008. « *Introduction au traitement et analyse d'image* ». [Note du cours ELE747 Analyse et traitement d'image] .Montréal :École de technologie supérieure.
- Cloutier, G. 2006. « *Méthode et système d'élastographie vasculaire : Élastographie vasculaire non-instrusive (NIVE et Micro-NIVE)* ». Univalor. En ligne. <http://www.univalor.ca/components/com_mtree/attachment.php?link_id=41&cf_id=28>.
- Cloutier, G. 2006. « *Système et méthode pour l'élastographie vasculaire : Application endovasculaire ultrasonore (EVE)* ». Univalor. En ligne. <http://www.lbum-crchum.com/fr_val360.pdf>.
- Cohen, A.1997. *Cardiologie et pathologie vasculaire*. Estem. 1113 p.
- Corvol, P. 2007-2008. *L'Apéline*. [Note du cours Médecine expérimentale].In le site du Collège de France. En ligne < http://www.college-de-france.fr/media/med_exp/UPL61441_Pierre_Corvol_cours_0708.pdf >. Paris : Collège de france . Consulté le 8 avril 2009.
- Daget, N. 2006. «*Rapport technique : Présentation des différentes interpolations horizontales*». In Le site du Centre Européen de Recherche et de Formation Avancée en Calcul Scientifique(CERFACS).En ligne<http://www.cerfacs.fr/~daget/TECHREP ORT/TR_CMGC_06_18_html/node9.htm> . Consulté le 3 mars 2010.
- Drulhe, S. et M, Hue. 2004. « *Segmentation des images couleurs : méthode d'Ohlander, Price et Reddy. Introduction à la segmentation par classification* ». En ligne <<http://www.tsi.enst.fr/tsi/enseignement/ressources/mti/OPR/index.php>>. Consulté le 8 juin 2008.
- Eramian M, et D Mould. 2005 «*Histogram Equalization using Neighborhood Metrics* ». In Proceedings of the 2nd Canadian conference on Computer and Robot Vision.(Victoria, May 9-11 2005), p. 397-404.

- Erling, F. 2006. « *Pathogenesis of atherosclerosis* ». J Am Coll Cardiol, vol. 47, n° 8, p. C7-12.
- Gonzalez, R. et Woods, R. 2002. *Digital image processing*, second edition. New Jersey: Prentice Hall, 793 p.
- Hamdan, A. et al. 2007. « *Imaging of vulnerable coronary artery plaques* ». Catheter Cardiovasc Interv, vol. 70, n° 1 (Jul 1), p. 65-74.
- Hartley, R. et Zisserman, A. 2004. *Multiple view geometry in computer vision*, deuxième édition. Cambridge University Press, p. 672
- Holmes, D. et Robb, R. 2000. « *Quantitative image analysis of histological sections of coronary arteries* ». SPIE, vol. 3979, p. 1303 -1308.
- Yodak, S. 2009. « *Coronary artery disease* ». In Shanghai YODAK Cardio-Thoracic Hospital. En ligne <<http://www.yodak.net/en/coronary-artery-disease/>>. Consulté le 5 avril 2010.
- Ibanez, B, et al. 2009. « *Diagnosis of atherosclerosis by imaging* ». Am J Med, vol. 122, n° 1 Suppl (Jan), p. S15-25.
- Lau, J. et al. 2004. *Vulnerable Plaques: A Brief Review of the Concept and Proposed Approaches to Diagnosis and Treatment*. Rockville: Agency for Healthcare Research and Quality.
- Lau, C. 2010. << *Suivi d'un microguide sur images fluoroscopiques en intervention neuroradiologue* >>, Mémoire de maîtrise, Montréal, École de technologie Supérieure, 101 p.
- Léoni, J. 2001. « *Physiopathologie de l'athérosclérose - Mécanismes et prévention de l'athérombose* ». Thèse de doctorat en ligne. Besançon Université de Franche-Comté. En ligne <<http://www.123bio.net/revues/jleoni/index.html>>.
- Lombry, T. 2006. « *Projet LUXORION* ». In le site du Projet LUXORION, en ligne <<http://www.astrosurf.com/luxorion/Physique/palette-munsell.jpg>>.
- Lopez, J. A. 2003. « *Morphologie mathématique et indexation d'images couleur : application à la microscopie en biomédecine* ». Thèse de doctorat en morphologie mathématique. Paris, École Nationale Supérieure des Mines, 359 p. En ligne <<http://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00007524/en/>>.
- Marieb, E. 2005. « *Anatomie et physiologie humaines* ». 3ème édition, Québec ERPI. 1288 p.

- Maurice, R. L. et al. 2005. « *On the potential of the Lagrangian speckle model estimator to characterize atherosclerotic plaques in endovascular elastography: in vitro experiments using an excised human carotid artery* ». *Ultrasound Med Biol*, vol. 31, n° 1 (Jan), p. 85-91.
- Mercure, E. 2006. « *Évaluation et dépendance angulaire de l'estimateur lagrangien en elastographie vasculaire non-intrusive* ». Mémoire de maîtrise, Montréal, Faculté de médecine, 93 p.
- Mirmehdi, M. et Petrou, M. 2000. « *Segmentation of Color Textures* ». *IEEE Trans Inf Technol Biomed*, vol. 22 n° 2, p. 142-149.
- Mitra, AK. et al. 2004. « *Vulnerable plaques"--ticking of the time bomb* ». *Can J Physiol Pharmacol*, vol. 82, n° 10 (Oct), p. 860-71.
- Morin, F. 2009. « *Recalage automatique de séquences vidéo infrarouge et visible basé sur les trajectoires des objets en mouvement* ». Mémoire de maîtrise, Montréal, École polytechnique de Montréal, 155 p.
- Naghavi, M. et al. 2003. *From Vulnerable Plaque to Vulnerable Patient: A Call for New Definitions and Risk Assessment Strategies: Part I*. *Circulation*.108.1664-1672.
- National Institutes of Health. *National heart, lung, and blood Institutes. What Is Atherosclerosis? 2009*. In le site du National Institutes of health. En ligne. <http://www.nhlbi.nih.gov/health/dci/Diseases/Atherosclerosis/Atherosclerosis_What_Is.html>. Consulté Décembre 2009.
- Nurzyńska, K. 2009. « *3D Object Reconstruction from Parallel Cross-Sections* ». *Lecture Notes in Computer Science*, vol. 5337/2009, n° 111-122.
- Ophir, J. et al. 1999. « *Elastography: ultrasonic estimation and imaging of the elastic properties of tissues* ». *Proc Inst Mech Eng H*, vol. 213, n° 3, p. 203-33.
- Paschos, G. 2001. « *Perceptually uniform color spaces for color texture analysis : An empirical evaluation* ». *IEEE transactions on image processing*, vol. 10, n° 6, p. 932-937.
- Paschos, G. 1998. « *Chromatic Correlation Features for Texture Recognition* ». *Pattern Recognition Letters* vol. 19 n° 8, p. 643-650.
- Qazi I. et al. 2009. « *Détermination d'un espace couleur pertinent pour la caractérisation de textures couleur* ». *I-Revue*, GRETSI, Groupe d'Etudes du Traitement du Signal et des Images.

- Chav, R. et al. 2009. « *Method for fast and accurate segmentation processing from prior shape: application to femoral head segmentation on X-Ray images* ». Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers, vol. 10 no 2.
- Russell, B. et al. 2009. « *ARFI Imaging for Noninvasive Material Characterization of Atherosclerosis Part II: Toward In Vivo Characterization* ». Ultrasound in Medicine & Biology vol. 32, n° 2, p. 278-295
- Shape society. 2009. « *Vulnerable Plaque, the Time Bomb* ». Houston, TX <http://www.shapesociety.org/vulnerable_plaque_the_time_bomb/>.
- Schmitt, C. 2005. « *Élastographie vasculaire non-intrusive vers un outil complémentaire pour la caractérisation de l'athérosclérose carotidienne* ». Mémoire de maîtrise, Université de Montréal, Institut de génie biomédical, 237 p.
- Schmitt, C. et al. 2007. « *Noninvasive vascular elastography: toward a complementary characterization tool of atherosclerosis in carotid arteries* ». Ultrasound in Medecine & Biology, vol. 33, n° 12, p. 1841-1858.
- Stary, HC. et al. 1995. « *A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on atherosclerosis, American Heart Association* ». Circulation, vol. 92, n° 5, p. 1355-74.
- Subodh, V. 2004, « *Athérosclérose, inflammation et événements cliniques* ». L'Athérosclérose en soins primaires-Health care communications, En ligne, http://www.stacommunications.com/athero/zzz_PDFs/2004/April/04.pdf, Consulté le août 2008
- Taixé, L. et al. 2009. « *Automatic Segmentation of Arteries in Multi-stain Histology Images* ». IFMBE Proceedings, vol. 24, p. 2000-2003.
- Toussaint, J-F. et al. 2003. *L'athérosclérose - Physiologie, diagnostics, thérapeutiques*. Paris : Masson. 776 p.
- Trivedi, R.A. et al. 2008. « *Modern methods for imaging carotid atheroma* ». Br J Neurosurg, vol. 22, n° 3 (Jun), p. 350-9.
- Usson, Y. 2006. « *Cours d'analyse d'images numériques en microscopie* », La Tronche: Institut d'Ingénierie et d'Information de Santé (IN3S).En ligne. 9p. <http://membres-timc.imag.fr/Yves.Usson/COURS/Analyse-Image-2-2006.pdf>, Consulté le 7 mars 2010.

Virmani, R. et al. 2006. « *Histopathology of carotid atherosclerotic disease* ». *Neurosurgery*, vol. 59, n° 5 Suppl 3 (Nov), p. S219-27; discussion S3-13.

Zitovi, B. et Flusser, J. 2003. « *Image registration methods : a survey* ». *Image and vision computing*, vol. 21, p. 977-1000.