

# Restauration 3D en imagerie fluorescente par feuille de lumière avec implantation sur GPU

François DE VIEILLEVILLE<sup>1</sup>, Pierre WEISS<sup>2</sup>, Valérie LOBJOIS<sup>3</sup>, Denis KOUAMÉ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université de Toulouse, IRIT  
Université Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne, F-31062 TOULOUSE, France

<sup>2</sup>Université de Toulouse, IMT  
Université Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne, F-31062 TOULOUSE, France

<sup>3</sup>Université de Toulouse, ITAV  
Centre Pierre Potier, 1 Place Pierre Potier, Cancéropôle entrée B, BP 50624, 31106 TOULOUSE, France  
devieill@irit.fr, pierre.armand.weiss@gmail.com,  
valerie.lobjois@itav-recherche.fr, kouame@irit.fr

**Résumé** – L'imagerie microscopique à feuille de lumière est une technologie très récente et prometteuse permettant une illumination sélective des échantillons biologiques étudiés. Pour cette technique nous proposons l'implantation sur GPU d'un algorithme de déconvolution rapide, complétant des méthodes par fusion. L'algorithme proposé permet en pratique de déconvoluer des images de taille  $1000 \times 1000 \times 100$  en des temps inférieurs à 5 minutes.

**Abstract** – Light sheet fluorescence microscopy is a recent and promising technology which allows a selective illumination of biologic samples. For this modality we propose to use a GPU-implanted fast deconvolution algorithm, to be used with fusion methods. The proposed algorithm can deblur an image with  $1000 \times 1000 \times 100$  voxels in less than 5 minutes.

## 1 Introduction

L'imagerie microscopique à feuille de lumière est une technologie très récente et prometteuse permettant une illumination sélective des échantillons biologiques étudiés, contrairement à des microscopes plus conventionnels de type confocal. Cette illumination est obtenue en déformant un laser Gaussien en une feuille de lumière de très faible épaisseur (de l'ordre de quelques micromètres). Cette technique implique une exposition moindre et, par conséquent, une réduction du photoblanchiment et de la phototoxicité [7] tout en permettant une imagerie en profondeur. Ainsi, de larges spécimens vivants peuvent être imagés à des résolutions fines en 3D+t [8, 12]. Sur ceux-ci, les dégradations observées sont multiples et proviennent des éléments optiques, du bruit d'acquisition de la caméra CCD, des effets d'atténuation laser et de diffusions, et des raies d'atténuation. Les techniques existantes de restauration réduisent ces dégradations en multipliant les angles de vues. Aussi, des approches de type déconvolution multi-vues [12], ou de fusion des vues avec recalage affine [8] ont été suggérées. Nous proposons ici l'enchaînement d'une étape de déconvolution puis d'une étape de fusion afin de corriger les dégradations optiques. L'étape de déconvolution est indispensable car l'épaisseur

de la feuille de lumière est 8 fois supérieure à la taille d'un pixel. L'originalité de ce travail réside dans le développement d'un algorithme de déconvolution 3D non linéaire, robuste et rapide, adapté à la programmation sur GPU. En pratique, il permet de traiter des images de grande taille, de l'ordre de 100 millions de voxels, en des temps inférieurs à 5 minutes.

## 2 Modèle de formation d'image

En considérant les éléments optiques (lentille, objectifs, forme de la feuille de lumière) ainsi que le bruit d'acquisition de la caméra CCD pour des intensités laser faibles, nous obtenons :

$$m = \mathcal{P}(h \otimes x), \quad \text{ou encore} \quad m = \mathcal{P}(Hx), \quad (1)$$

où  $m$  est l'image observée,  $h$  la réponse impulsionnelle du système optique,  $\otimes$  l'opérateur de convolution,  $H$  la matrice de flou associée à  $h$ ,  $\mathcal{P}(\cdot)$  le bruit de Poisson et  $x$  est l'inconnue. Dans ce travail, la réponse impulsionnelle est déterminée expérimentalement en moyennant les réponses de billes fluorescentes fixées dans l'agarose autour de l'échantillon. Afin que leurs images représentent directement la réponse impulsionnelle, ces billes sont de faible diamètre.

Le modèle de formation d'image est classique en microscopie à fluorescence, notamment en microscopie confocale (voir entre autres [2, 3, 5, 11]). Nous noterons  $\hat{x}$  l'estimée de  $x$ . Classiquement, l'évaluation de  $\hat{x}$  est obtenue par le principe du maximum *a posteriori*. Ces approches utilisent un *a priori* sur  $x$ , dont les plus classiques sont de types entropiques ou Gaussien [11]. Plus récemment, des *a priori* non lisses ont été introduits en microscopie confocale, notamment la variation totale [4] ou d'autres critères reposant sur des ondelettes [2]. Les approches par variation totale permettent de favoriser des fonctions régulières par morceaux et d'utiliser efficacement les cartes graphiques. Sous ces hypothèses, notre problème se ramène à une optimisation non contrainte formulée comme suit :

$$\hat{x} = \underset{x \in \mathbb{R}^n}{\operatorname{argmin}} Hx - m \log(Hx) + \alpha TV(x), \quad (2)$$

avec  $TV(x) = \|\nabla x\|_1$ .

### 3 Méthode Numérique et Implantation

De nombreux schémas numériques existent pour résoudre notre problème. Cependant, notre objectif principal est une implantation sur GPU permettant d'exploiter au mieux les coeurs et la bande passante de la carte graphique. Suivant cette idée, nous préférons utiliser au maximum des fonctions de bibliothèques propriétaires optimisées comme la transformée de Fourier rapide en CUDA, au lieu de méthodes de types différences finies plus techniques à implanter efficacement en 3D. Parmi les approches récentes d'optimisation rapides, notons les méthodes de premier ordre de type Forward-Backward splitting [5], primales-duales [1] ou encore les techniques de type Douglas-Rachford [9] ou la méthode des directions alternées (ADMM) [10]. Les deux premières techniques appliquées à notre problème ne demandent que le calcul de produits matrice-vecteur. Les deux autres nécessitent en revanche la résolution de systèmes linéaires. Ainsi, pour des architectures standards, le deuxième type d'approche est moins indiqué. Dans notre cas, comme les opérateurs sont diagonalisés par la transformée de Fourier, ces approches prennent tout leur sens sur GPU.

Nous avons opté ici pour la méthode ADMM qui permet de résoudre les problèmes s'écrivant sous la forme :

$$\underset{s.t. Bx+Cy=b}{\operatorname{argmin}} f_1(x) + f_2(y), \quad \text{avec } x \in \mathbb{R}^n, y \in \mathbb{R}^m, \quad (3)$$

$B \in \mathbb{R}^{l \times n}, C \in \mathbb{R}^{l \times m}, b \in \mathbb{R}^l$ ,

où  $f_1, f_2$  sont des fonctions convexes fermées. En notant  $\mathcal{L}(x, y, \lambda)$  le lagrangien augmenté, le schéma itératif consiste à répéter les étapes suivantes jusqu'à validation d'une

condition d'arrêt :

$$\begin{aligned} 1) \quad x_{k+1} &= \underset{x \in \mathbb{R}^n}{\operatorname{argmin}} \mathcal{L}(x, y_k, \lambda_k), \\ 2) \quad y_{k+1} &= \underset{y \in \mathbb{R}^m}{\operatorname{argmin}} \mathcal{L}(x_{k+1}, y, \lambda_k), \\ 3) \quad \lambda_{k+1} &= \lambda_k + \beta(Bx_{k+1} + Cy_{k+1} - b). \end{aligned}$$

Notre problème de minimisation peut-être formulé dans le cadre de la méthode des directions alternées en choisissant :

- $f_1(x) = 0, x \in \mathbb{R}^n, y = (w, z) \in \mathbb{R}^n \times \mathbb{R}^{3n}, f_2(y) = \langle 1_{\mathbb{R}^n}, w \rangle - \langle m, \log w \rangle + \alpha \|z\|_1,$
- $B = \begin{pmatrix} H \\ \nabla \end{pmatrix}, C = -Id_{\mathbb{R}^{4n}}, b = 0,$

où  $\langle \cdot, \cdot \rangle$  désigne le produit scalaire usuel. Le lagrangien augmenté s'écrit :

$$\begin{aligned} \mathcal{L}(x, y, \lambda) &= \langle 1, w \rangle - \langle y, \log(w) \rangle + \alpha \|z\|_1 \\ &\quad + \langle \lambda, Bx - Cy \rangle + \frac{\beta}{2} \|Bx - Cy\|_2^2, \quad (4) \end{aligned}$$

avec  $\lambda = (\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3, \lambda_4) \in \mathbb{R}^{4n}$  et  $\beta \in \mathbb{R}$ .

Explicitons maintenant les deux premières étapes :

#### Étape 1 :

En choisissant des conditions de bord circulaires, les matrices  $H, \nabla_x, \nabla_y$  et  $\nabla_z$  sont circulantes et  $x_{k+1}$  peut-être calculé par transformée de Fourier. En notant  $\mathcal{F}(\cdot)$  la transformée de Fourier et la division étant éléments par éléments dans le domaine spectral, il vient :

$$x_{k+1} = \mathcal{F}^{-1} \left( \frac{\mathcal{F} \left( H^T \left( w_k - \frac{\lambda_{1,k}}{\beta} \right) \right) + A}{\mathcal{F} (H^T H + \nabla^T \nabla)} \right), \quad (5)$$

$$\text{avec } A = \mathcal{F} \left( \nabla^T \left( z_k - \frac{(\lambda_{2,k}, \lambda_{3,k}, \lambda_{4,k})}{\beta} \right) \right).$$

#### Étape 2 :

$$w_{k+1} = \frac{q - \frac{1}{\beta}}{2} + \frac{1}{2} \sqrt{\left( \frac{1}{\beta} - q \right)^2 + \frac{4m}{\beta}}, \quad (6)$$

$$\text{avec } q = Hx_{k+1} + \frac{\lambda_{1,k}}{\beta}.$$

$$z_{k+1} = \operatorname{soft}_{\frac{\alpha}{\beta}} \left( \nabla x_{k+1} + \frac{(\lambda_{2,k}, \lambda_{3,k}, \lambda_{4,k})}{\beta} \right), \quad (7)$$

$$\text{avec } \operatorname{soft}_{\gamma}(u)(i) \equiv \frac{u(i)}{\|u(i)\|_1} \max(\|u(i)\|_1 - \gamma, 0).$$

Le critère d'arrêt retenu est un nombre fixé d'itérations (assurant un temps d'exécution constant). Une autre possibilité est d'évaluer le saut de dualité. En pratique, l'étape 1) consiste en la résolution d'un système linéaire et requiert 5 transformées de Fourier. L'étape 2) requiert 3 transformées de Fourier. Concrètement, ces transformées

prennent entre 10 et 15% du temps de calcul total et les autres opérations sont point à point (additions, divisions, multiplications, seuillage doux). Étant données les dimensions des images, il est très complexe d’effectuer les accès nécessaires aux calculs des différences finies en des temps optimaux par rapport à la bande passante, entre la mémoire de la carte graphique et les coeurs (accès à des segments non contigus de mémoire).

L’algorithme implanté nécessite 18 copies de l’image de type **complex**. La mémoire sur carte graphique variant de 500 mégas-octet (e.g. FX2700M) à 4.5 gigas-octet (e.g. TESLA C1060), il est impossible de traiter directement une très grande image. En pratique, on découpe l’image en blocs (de taille  $128^3$  ou  $256^3$ ) qui se recouvrent avant traitement [6]. On applique l’algorithme précédant sur chaque bloc et on recompose l’image lorsque tous les blocs ont été traités.

## 4 Résultats et Discussion

Avant de nous intéresser à des données réelles, montrons les résultats de la méthode sur une image synthétique. Cette image est constituée de juxtapositions du fantôme Shepp-Logan ayant une dynamique codée sur 255 niveaux de gris; le tout formant une image de  $128 \times 128 \times 128$  voxels. La réponse impulsionnelle considérée est une gaussienne 3D isotrope d’écart-type égal à 2 voxels. Les résultats qualitatifs sont illustrés sur la figure 1, en particulier, on observe une bonne reconstruction de l’image originale.

Les données réelles considérées dans la suite des expériences sont issues d’un jeu de données publiques<sup>1</sup> d’images microscopiques à feuille de lumière, représentant un embryon de drosophile. Les résultats sont présentés sur la Figure 2, les paramètres expérimentaux déterminés expérimentalement sont  $\alpha = 0.001$  et  $\beta = 0.002$ . En utilisant un préconditionnement, seulement 50 itérations sont nécessaires. On montre expérimentalement en 2D que 30 itérations suffisent à diminuer d’un facteur 1000 la différence entre la fonction coût en  $x_k$  et en  $x_N$ , avec  $N$  très grand. Sur portable modeste avec un GPU de type FX2700M (48 coeurs), le temps mesuré est de 9 minutes et 22 secondes pour une image de taille  $953 \times 543 \times 81$ , soit approximativement 42 millions de voxels. Sur un GPU de type TESLA C1060, on observe en revanche un temps de calcul au moins quatre fois moindre.

## 5 Conclusion

Nous avons présenté un algorithme permettant de ramener le temps de calcul de la déconvolution de larges images tridimensionnelles à des temps raisonnables. Cette approche, vue comme un pré-traitement permet l’utilisation

<sup>1</sup>Voir [http://pacific.mpi-cbg.de/wiki/index.php/SPIM\\_Registration\\_Method](http://pacific.mpi-cbg.de/wiki/index.php/SPIM_Registration_Method) et [8]

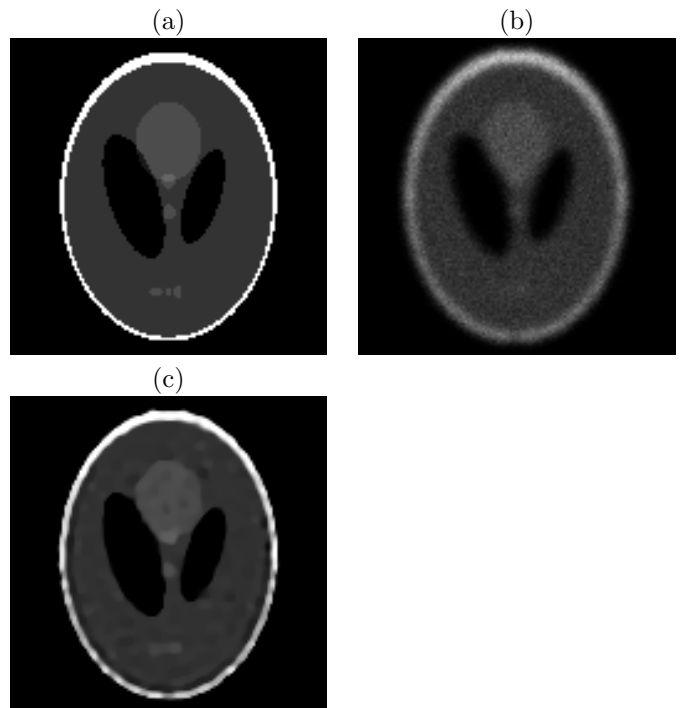


Figure 1: (a) Coupe dans le plan  $(Oxy)$  pour  $z$  égal à 40 d’une image 3D du fantôme Shepp-Logan. (b) Coupe dans le plan  $(Oxy)$  pour  $z$  égal à 40 d’une image 3D du fantôme Shepp-Logan, convoluée et dégradée par un bruit de Poisson. Le PSNR vis-à-vis de l’image originale est de 17,49 *dB*. (c) Coupe dans le plan  $(Oxy)$  pour  $z$  égal à 40 de l’image déconvoluée obtenue, le PSNR est de 23,08 *dB*. Les paramètres de l’algorithme étant  $\alpha = 0.004$  et  $\beta = 0.001$  pour 50 itérations avec un préconditionnement.

de méthodes reposant sur la fusion des vues par un recalage affine et ainsi d’augmenter la qualité des images reconstruites.

## References

- [1] A. Chambolle and T. Pock. A first-order primal-dual algorithm for convex problems with applications to imaging. 2010.
- [2] C. Chaux, L. Blanc-Feraud, and J. Zerubia. Wavelet based restoration methods: Application to 3d confocal microscopic images. In *SPIE conference Wavelets XII, Proceedings of SPIE*, volume 701, 2007.
- [3] N. Dey, L. Blanc-Feraud, C. Zimmer, Z. Kam, J.-C. Olivo-Marin, and J. Zerubia. A deconvolution method for confocal microscopy with total variation regularization. In *IEEE ISBI*, volume 2, pages 1223–1226, avril 2004.

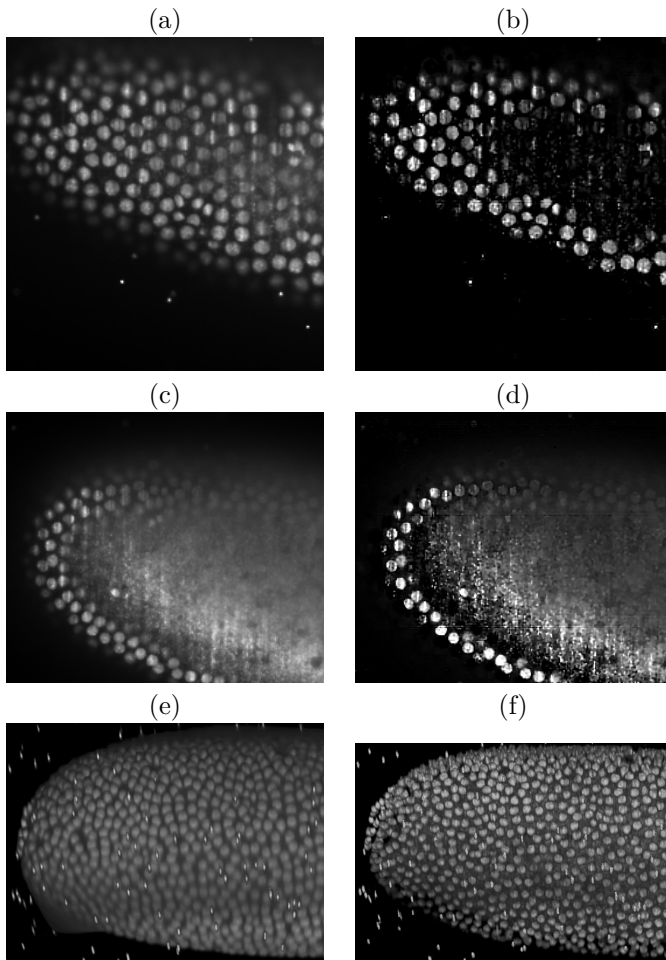


Figure 2: (a) et (c) Coupes partielles dans le plan focal de l'image originale tridimensionnelle, (b) et (d) coupes correspondantes sur l'image déconvoluée, les paramètres de l'algorithme étant  $\alpha = 0.001$ ,  $\beta = 0.002$  pour 50 itérations. (e) Résultat de l'algorithme de fusion sur deux images (angle de vue à 0 et 45 degrés) sans déconvolution, (f) résultat de l'algorithme de fusion sur les deux mêmes images préalablement déconvoluées avec notre algorithme.

- [4] N. Dey, L. Blanc-Feraud, C. Zimmer, P. Roux, Z. Kam, J.-C. Olivo-Marin, and J. Zerubia. Richardson-lucy algorithm with total variation regularization for 3d confocal microscope deconvolution. *Microscopy Research and Technique*, 69:260–266, 2006.
- [5] F.-X. Dupé, M. Fadili, and J.-L. Starck. A proximal iteration for deconvolving poisson noisy images using sparse representations. *IEEE Transactions on Image Processing*, 18:310–321, June 2009.
- [6] M. Fornasier, A. Langer, and C.-B. Schönlieb. A convergent overlapping domain decomposition method for total variation minimization. *Numerische Mathematik*, 116(4):645 – 685, 2010.
- [7] J. Huisken and D. Stainier. Selective plane illumination microscopy techniques in developmental biology. *Development (Cambridge, England)*, 136:1963–75, June 2009.
- [8] S. Preibisch, S. Saalfeld, J. Schindelin, and P. Tomancak. Software for bead-based registration of selective plane illumination microscopy data. *Nature Methods*, 7(6):418–419, 2010.
- [9] N. Pustelnik, C. Chaux, and J.-C. Pesquet. Hybrid regularization for data restoration in the presence of poisson noise. In *European Signal Processing Conference (EUSIPCO), Glasgow, Scotland, 2009*.
- [10] S. Setzer, G. Steidl, and T. Teuber. Deblurring poissonian images by split bregman techniques. *Journal of Visual Communication and Image Representation*, 21:193 – 199, 2010.
- [11] P. Verveer and T. Jovin. Efficient superresolution restoration algorithms using maximum a posteriori estimations with application to fluorescence microscopy. *Journal of Optical Society of America*, 14(8), August 1997.
- [12] P. Verveer, J. Swoger, F. Pampaloni, K. Greger, M. Marcello, and E. Stelzer. High-resolution three-dimensional imaging of large specimens with light sheet-based microscopy. *Nature Methods*, 4:307–8, April 2007.