

COMPARAISON DE DIFFERENTES METHODES D'ESTIMATION DU FLOT OPTIQUE DE CELLULES MIGRATOIRES

Anne REMOLU et Noël BONNET

Unité INSERM 314, Université de Reims
21, rue Clément Ader, 51100 REIMS, France

RÉSUMÉ

ABSTRACT

Trois méthodes d'estimation du vecteur déplacement d'objets (noyaux de cellules migratoires en vidéo-microscopie de fluorescence) sont comparées. La méthode de phase s'avère plus précise et plus robuste que les méthodes différentielles vis à vis du bruit et de différents problèmes expérimentaux (intensité de fluorescence, contraste...) pourvu que les dérivées spatio-temporelles soient suffisamment régularisées. Ceci est réalisé à l'aide de filtres récursifs de type exponentiel.

Three methods for estimating the displacement vectors of objects (cell nuclei observed by fluorescence video-microscopy) are compared. The phase method appears to be more precise and more robust against noise and several experimental problems (fluorescence intensity, contrast ...), provided the spatio-temporal derivatives are enough regularized. This is obtained with exponential-type recursive filters.

1. INTRODUCTION

La vitesse de déplacement de cellules en culture peut être estimée à partir d'enregistrements vidéo-microscopiques d'images de fluorescence des noyaux.

Parmi les différentes approches possibles, nous nous intéressons dans ce travail aux méthodes de flot optique, qui estiment le vecteur vitesse instantanée en tout point de l'image, sans référence à des primitives spécifiques des objets.

Différentes approches du flot optique ont été proposées: les méthodes de corrélation, les méthodes différentielles et les méthodes de phase. Mais peu d'études comparatives ont été menées, en dehors de celle de Barron et al.(1994)

Dans ce travail, nous avons cherché à comparer les performances de plusieurs de ces méthodes pour notre application spécifique:

- les méthodes différentielles du second ordre avec résolution du type "moindres carrés" (Jahne, 1993)
- les méthodes différentielles du second ordre avec résolution du type "contraintes multiples" (Tistarelli, 1994)
- la méthode de phase (Fleet and Jepson (1990), Weng (1993)). Cette méthode récente est supposée être

beaucoup plus robuste que toutes les méthodes basées sur les intensités (niveaux de gris).

2. METHODES DIFFERENTIELLES

Les méthodes différentielles du premier ordre sont basées sur la seule conservation de l'intensité et ne permettent donc pas d'estimer mieux que la composante du vecteur déplacement normale aux contours spatiaux:

$$D_n = \frac{dI/dt}{|\nabla I|} \quad (1)$$

Les méthodes différentielles du second ordre supposent la conservation du gradient d'intensité lors du déplacement des objets. Quand les deux hypothèses de conservation sont combinées, on aboutit à un système sur-déterminé de trois équations à deux inconnues (les deux composantes du déplacement bidimensionnel):

$$\begin{vmatrix} dI/dx & dI/dy \\ d^2I/dx^2 & d^2I/dydx \\ d^2I/dydx & d^2I/dy^2 \end{vmatrix} \begin{vmatrix} dx/dt \\ dy/dt \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} d^2I/dt^2 \\ d^2I/dtdx \\ d^2I/dtdy \end{vmatrix} \quad (2)$$

Ce système peut être résolu de deux manières différentes:



- par l'approche classique de résolution de type "moindres carrés":

$$A \cdot X = B \Rightarrow X = (A' \cdot A)^{-1} \cdot A' \cdot B \quad (3)$$

- par l'approche proposée par Tistarelli (1994) où le système est décomposé en trois sous-systèmes de deux équations à deux inconnues. Chacun des sous-systèmes est étudié séparément et le système le mieux conditionné est retenu pour fournir la solution, étant entendu que le "meilleur" système dépend des configurations locales de niveau de gris.

3. METHODE DE PHASE

Le flot optique a été approché très tôt par des méthodes de mise en correspondance par corrélation, éventuellement après filtrage passe-bande. Cette approche basée sur les variations d'intensité (spatiales et temporelles) s'est avérée très sensible à différents problèmes rencontrés au niveau expérimental.

C'est pourquoi la prise en compte de l'importance de la phase dans les signaux a conduit ces dernières années à tenter de l'utiliser dans tous les problèmes de mise en correspondance automatique à partir de plusieurs images (stéréographie, flot optique) (Fleet et Jepson(1990), Weng (1993)). Cette approche est assez naturelle dans la mesure où le déphasage est intimement

lié au déplacement local (ou à la parallaxe en vision stéréoscopique).

Plus précisément, on peut montrer que les composantes du déplacement peuvent être estimées à partir des expressions:

$$Dx = -\frac{d\varphi_x / dt}{d\varphi_x / dx} \quad \therefore \quad Dy = -\frac{d\varphi_y / dt}{d\varphi_y / dy} \quad (4)$$

où φ_x et φ_y représentent les composantes de la phase suivant les directions horizontales et verticales.

En pratique, ces composantes de phase peuvent être obtenues à partir des sorties (complexes) de filtres passe-bande possédant une bonne localisation spatiale et une bonne localisation fréquentielle.

4. MISE EN OEUVRE

Dans tous les cas, les dérivées spatio-temporelles sont calculées par une approche de type filtrage récursif (filtres de Deriche (1990) et de Shen et Castan (1992) légèrement modifiés pour pouvoir combiner les dérivées d'ordre 0, 1 et 2). Cette approche permet une mise en oeuvre efficace de la régularisation de l'estimation des dérivées, efficacité qui conditionne très fortement la qualité des résultats.

Le schéma d'implantation de la méthode de phase est donné en figure 1.

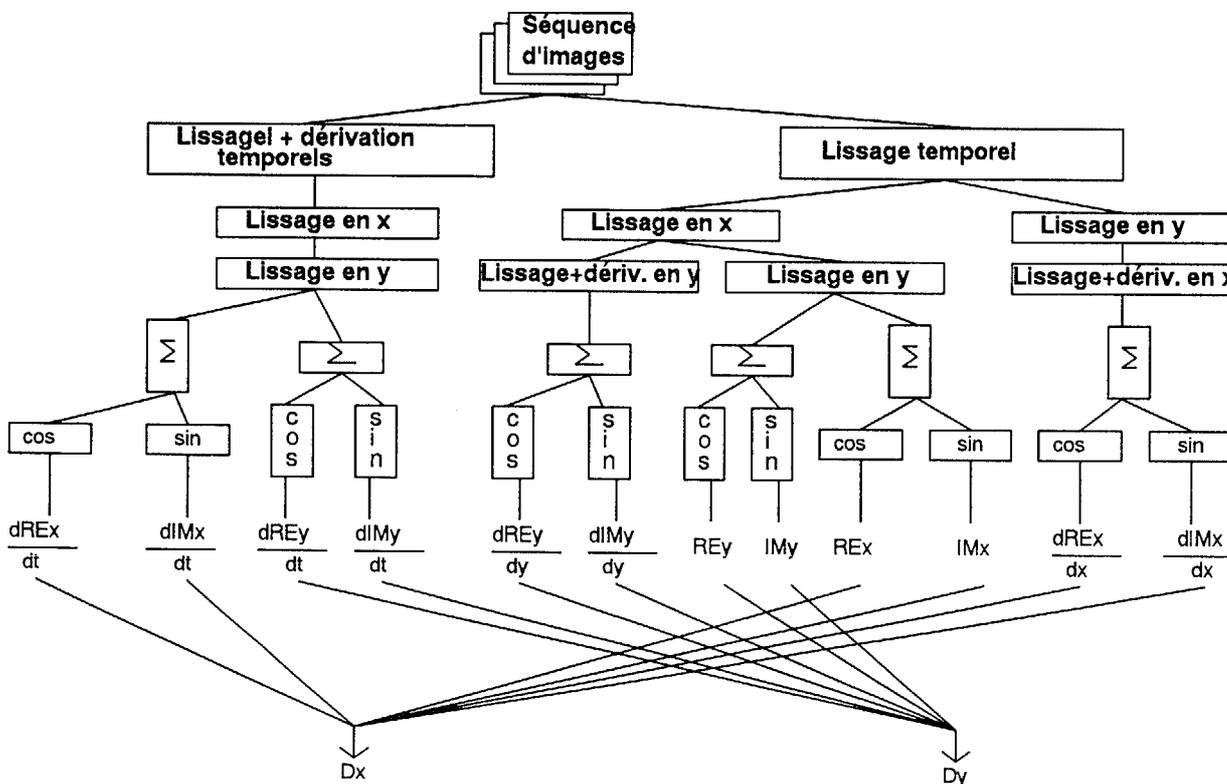


Figure 1: Schéma de réalisation de la méthode de phase.

En pratique, il est intéressant d'éviter le calcul direct de la phase, à cause des problèmes de déroulement de phase qui en résultent. Ceci est rendu possible grâce à la transformation des formules (3) en:

$$\begin{aligned}
 Dx &= - \frac{\frac{d Im_x}{dt} \cdot Re_x - Im_x \cdot \frac{d Re_x}{dt}}{\frac{d Im_x}{dx} \cdot Re_x - Im_x \cdot \frac{d Re_x}{dx}} \\
 Dy &= - \frac{\frac{d Im_y}{dt} \cdot Re_y - Im_y \cdot \frac{d Re_y}{dt}}{\frac{d Im_y}{dy} \cdot Re_y - Im_y \cdot \frac{d Re_y}{dy}}
 \end{aligned} \quad (5)$$

où Re_x , Im_x , Re_y et Im_y sont les sorties des filtres de réponse impulsionnelle $\cos(2\pi u.x)$, $\sin(2\pi u.x)$, $\cos(2\pi u.y)$ et $\sin(2\pi u.y)$ respectivement, sur un support rectangulaire.

5. EXPERIMENTATION

Les performances des différentes méthodes ont été évaluées sur des simulations ainsi que sur des séries d'images issues de séquences temporelles en vidéo-microscopie. Ces séquences concernent l'étude de la migration cellulaire au cours des phénomènes de croissance de cultures cellulaires et de cicatrisation après lésion de cultures cellulaires mono-couche (Zahm et al. (1995)). La figure 2 présente deux images consécutives (fig. 2a,b) issues d'une séquence temporelle de six images, ainsi que les phases correspondantes dans la direction verticale (fig. 2c,d). La figure 3 montre les résultats de calcul du module du vecteur déplacement correspondant à la figure 2a, pour les méthodes différentielles (les résultats obtenus par les deux variantes ne diffèrent pas significativement) (fig. 3a) et par la méthode de phase (fig. 3b). On peut voir que pour les méthodes différentielles, le résultat est concentré au voisinage des contours de cellules. Pour la méthode de phase, le résultat est réparti de manière plus homogène sur l'ensemble de la cellule et même en dehors (un masque binaire correspondant à la cellule doit être appliqué pour obtenir le vecteur déplacement moyen).

La robustesse des différentes méthodes a aussi été évaluée par rapport à différents "artefacts" expérimentaux rencontrés lors de l'application concrète de la méthode: bruit statistique, contraste différent pour différentes cellules à suivre, variation d'intensité au cours de la séquence, changement de taille des objets (consécutif à un rapprochement ou à un éloignement des cellules de l'objectif).

Dans tous les cas, la méthode de phase s'est avérée plus robuste que les méthodes différentielles. De plus, elle s'est avérée moins sensible au choix des paramètres, notamment au choix des seuils pour lesquels les vecteurs déplacement ne sont pas évalués (à cause d'une valeur insuffisante du gradient spatial).

6. CONCLUSION

Cette étude confirme la supériorité de la méthode de phase par rapport aux méthodes différentielles, pour l'étude de déplacements ou de déformations d'objets par la méthode du flot optique. La robustesse par rapport au bruit, aux fluctuations d'intensité ou de taille n'est cependant obtenue que si une régularisation du calcul des dérivées spatio-temporelles est effectuée, ce qui se traduit par un temps de calcul assez important, malgré l'utilisation de filtres récursifs.

REFERENCES

- Barron J.L., Fleet D.J., Beauchemin S.S. *Int. J. Comp. Vis.* (1994) 12, 43.
- Jahne B. *Spatio-temporal image processing*, Lectures Notes Computer Science 751 (1993).
- Tistarelli M. *Lectures Notes Computer Vision* (1994) 800, 61.
- Fleet D.J., Jepson A.D. *Int. J. Computer Vision* (1990) 5, 77.
- Weng J. *Int. J. Computer Vision* (1993) 11, 211.
- Deriche R. *IEEE Trans. PAMI* (1990) 12, 78.
- Shen J., Castan S. *CVGIP: Graphical Models and Image Processing* (1992) 54, 112.
- Zahm J.M., Kaplan H., Pierrot D., Hérard A.L., Sommelette P., Puchelle E. *J. Microsc. Spectrosc. Electron.* (1995) in press.

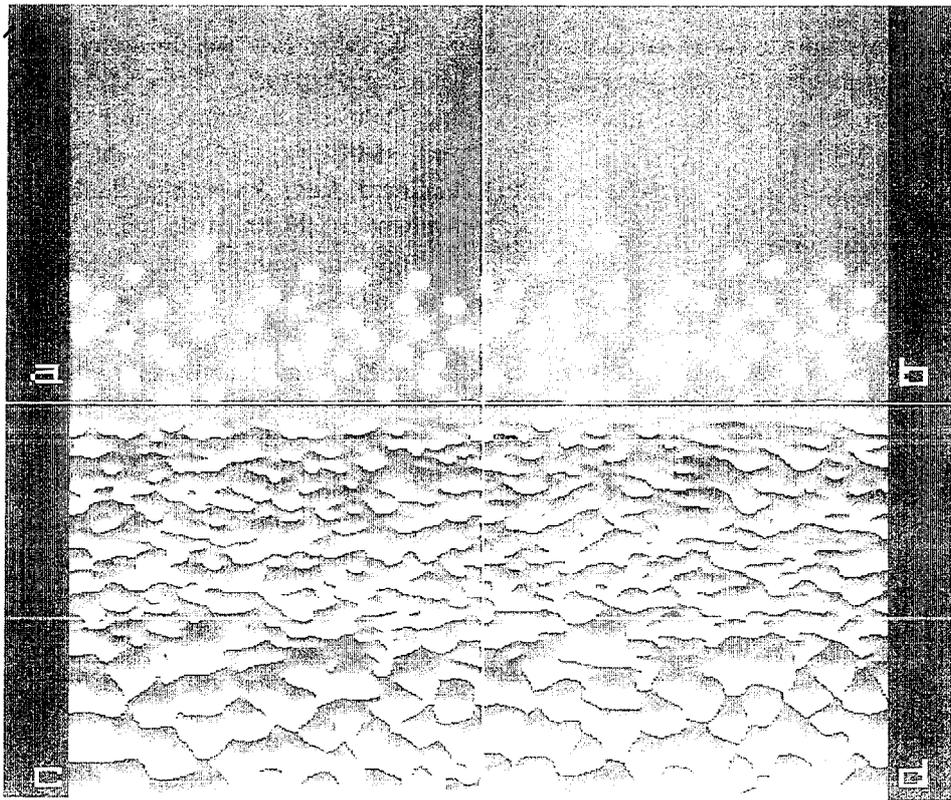


Figure 2: a,b) Deux images successives d'une séquence temporelle (noyaux cellulaires en video-microscopie de fluorescence) c,d) Images de phase (selon y) correspondantes.

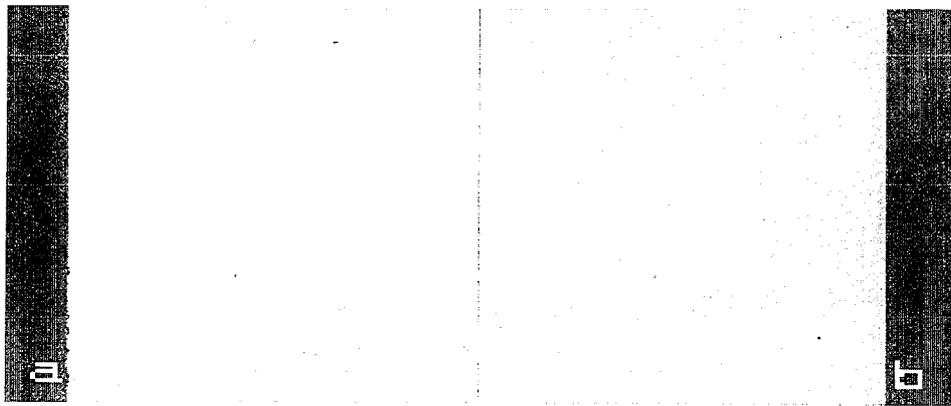


Figure 3: Module du vecteur déplacement correspondant à la figure 2a. a) Méthodes différentielles du second ordre b) Méthode de phase.