

QUANTIFICATION DE L'ARCHITECTURE OSSEUSE PAR MICROTOMOGRAPHIE 3D UTILISANT LE RAYONNEMENT SYNCHROTRON

M. SALOME-PATEYRON^{1, 2}, F. PEYRIN^{1, 2}, G. BORRAS¹, P. CLOETENS^{2,3}, A.M. LAVAL-JEANTET¹

¹ : CREATIS, 502, INSA, 69621 Villeurbanne Cedex, FRANCE

² : European Synchrotron Radiation Facility (ESRF), BP 220, 38043 Grenoble Cedex, FRANCE

³ : EMAT, RUCA, B 2020 Antwerpen, BELGIQUE

contact : francoise.peyrin@creatis.insa-lyon.fr

Résumé

Nous présentons un système de microtomographie 3D par rayonnement synchrotron développé à l'ESRF de Grenoble, en vue de l'analyse de la structure trabéculaire osseuse. Ce système permet d'acquérir de façon non destructive des images 3D d'échantillons osseux, ayant des voxels isotrope de 6.65 μm . Afin de caractériser la structure 3D de l'os, des paramètres quantitatifs sont extraits de ces images. Les paramètres morphologiques et topologiques utilisés en histomorphométrie, sont calculés sur les différentes coupes du volume. La variabilité des paramètres dans l'échantillon et la nécessité d'une analyse réellement tridimensionnelle sont soulignés. L'influence de la résolution spatiale sur l'exactitude des paramètres calculés est également examinée.

I. INTRODUCTION

L'architecture interne de l'os est composée de travées osseuses organisées en un réseau tridimensionnel et anisotrope. L'étude de cette architecture se révèle particulièrement importante pour quantifier et mieux comprendre des maladies telles que l'ostéoporose. L'importance de l'architecture osseuse par rapport au risque de fracture a été souligné par différentes équipes [1]. Celle-ci est classiquement évaluée par histomorphométrie, technique destructive qui consiste à analyser des coupes de biopsies prélevées sur des patients. La tomographie permet de proposer une alternative non destructive pour cette étude. Toutefois, la taille moyenne des travées se situant aux alentours de 100 micromètres, les scanners X conventionnels qui ont une résolution dans le plan de coupe, au mieux, de l'ordre de 350 micromètres, et une résolution inter-coupe de l'ordre du millimètre ne sont pas adaptés à une étude précise. Des systèmes tomographiques spécifiques à l'os ont été proposés dans la littérature [2], [3], [4].

Nous présentons l'étude de l'architecture osseuse grâce à un nouveau système de microtomographie X 3D par rayonnement synchrotron. Le flux très élevé disponible, permet d'obtenir des images haute résolution avec un rapport signal sur bruit élevé.

Abstract

We present a truly 3D synchrotron radiation microtomography system developed at ESRF, specially devoted to bone structure analysis. This system allows to acquire non destructively high resolution 3D images of trabecular bone samples with an isotropic voxel size of 6.65 μm . In order to characterize the 3D structure of bone, quantitative parameters may be extracted from the 3D images. Up to present, morphometric and topologic parameters as used in histomorphometry, are computed on the different slices of the volume. The variability of the parameters within the sample and the need for truly three-dimensional analysis tools is discussed. The influence of spatial resolution on the computed parameters is also investigated.

Nous présentons brièvement le système d'acquisition développé à l'ESRF de Grenoble, qui permet actuellement l'acquisition d'images 3D haute résolution (taille de voxel 6.65 μm). Nous décrivons ensuite les méthodes d'analyse d'images mises en oeuvre afin d'extraire des paramètres quantitatifs de la structure osseuse. Des résultats sont présentés sur une série de 10 échantillons prélevés sur des vertèbres humaines d'âges différents, notamment sur la variabilité des paramètres 2D et l'influence de la résolution spatiale sur les mesures.

II. DESCRIPTION DU SYSTEME

Le rayonnement synchrotron possède des propriétés intéressantes pour la tomographie. Il offre un spectre énergétique continu, qui permet de sélectionner une gamme d'énergie à bande étroite (0.01 %) optimale pour l'échantillon considéré. La monochromaticité du faisceau de rayons X est une hypothèse de base dans les techniques de reconstruction d'images tomographiques : elle permet de s'affranchir des artefacts liés au durcissement de faisceau, et d'obtenir une carte des coefficients d'atténuation relativement précise.

Un système d'acquisition en géométrie parallèle 3D a été développé sur la ligne ID 19 de l'ESRF (ligne Topographie and Diffraction Haute résolution). Cette

ligne est placée à une distance de 150m de l'anneau de stockage afin d'obtenir un faisceau large (quelques cm^2). Un cristal monochromateur transforme ensuite le faisceau blanc en un faisceau de rayons X monochromatiques. L'échantillon, placé dans le faisceau, sur une table équipée de différents mouvements (rotation, translations ...), subit une séquence de rotations. Pour chaque position, une projection 2D de l'échantillon, est acquise, après conversion par un écran scintillateur, grâce à un détecteur CCD 1024x1024 (Caméra FRELON, ESRF Detector Group) [5].

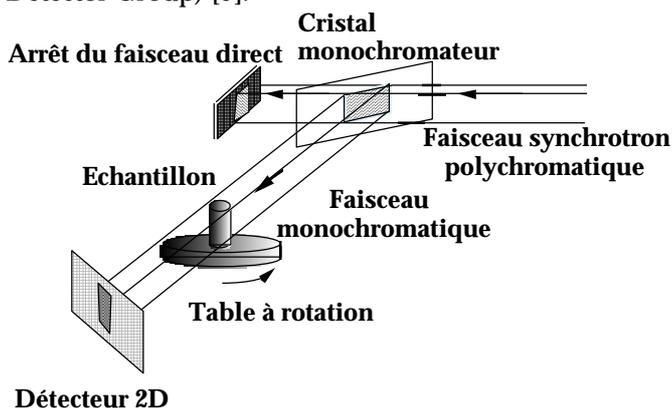


Figure 1 : Schéma du système d'acquisition.

La taille des pixels de 6.65 microns sur la projection, permet de reconstruire une image 3D ayant une taille de voxel isotrope et également de 6.65 microns. Des images de courant d'obscurité et de référence (sans échantillon) sont également acquises pour corriger les mesures. L'image 3D est ensuite reconstruite avec un algorithme de reconstruction par rétroprojection filtrée, étendu à une géométrie parallèle 3D. Afin de gérer le volume de calculs (2 Giga octets de données par échantillon), l'algorithme a été parallélisé sur un réseau de stations de travail en utilisant la bibliothèque PVM.

III. IMAGES 3D D'ÉCHANTILLONS OSSEUX

Onze vertèbres humaines de sujets féminins d'âges différents (de 33 à 82 ans) incluses dans de la résine ont été utilisées. Des échantillons d'os trabéculaires (4 mm x 4 mm x 4 mm), tous approximativement prélevés au même emplacement dans le corps vertébral, ont été imagés en utilisant ce dispositif (900 projections, 25 keV, reconstruction 512^3).

Les images 3D reconstruites sont d'abord segmentées afin de séparer le tissu osseux de la résine dans laquelle il est inclus. Compte tenu du contraste élevé des images, un simple seuillage suffit. Le seuil est le même pour toute la série d'échantillons afin d'obtenir des mesures comparables.

A titre d'exemple, nous présentons les images 3D obtenues à partir de deux échantillons prélevés chez des femmes âgées de 55 et 72 ans. Les surfaces

trabéculaires sont visualisées par lancer de rayons. La complexité et l'anisotropie de la structure trabéculaire sont clairement mises en évidence. On peut également noter la dégradation de la structure avec l'âge.

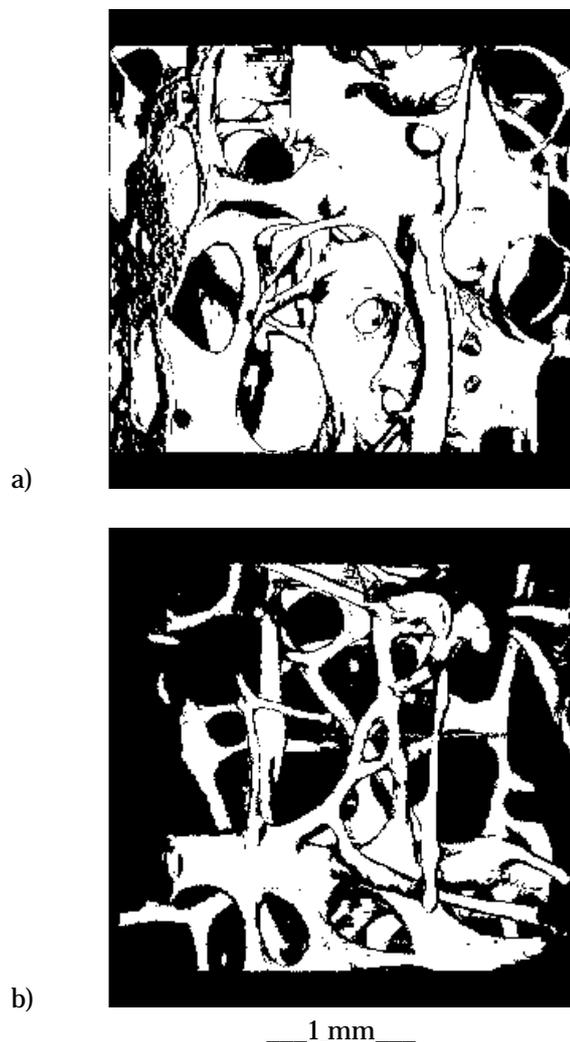


Figure 2 : Reconstructions 3D d'échantillons de vertèbres humaines (4 mm³), a) femme de 55 ans, b) femme de 72 ans

IV. ANALYSE DES IMAGES 3D

a) Paramètres 2D

Après segmentation, des paramètres 2D et 3D sont calculés dans le but de quantifier l'architecture osseuse. Les paramètres morphologiques et topologiques, conventionnellement utilisés en histomorphométrie, ont été implémentés à titre de référence. Ils sont calculés sur les différentes sections du volumes.

Les paramètres morphologiques sont classiquement utilisés afin de donner une estimation des caractéristiques de la structure 3D de l'os, à partir de mesures 2D. Ils reposent sur un modèle de l'os, de type « plaque » [6]. Ils sont tous dérivés à partir de deux mesures : la fraction de pixels appartenant à l'os dans l'image (P_p) et le nombre d'intersections entre

une grille de test et l'interface os/résine ramené à la longueur totale de la grille (P_1). P_p correspond au Le volume trabéculaire osseux (BV/TV), et P_1 à une estimation du périmètre de l'interface os/résine. Le rapport de la surface osseuse sur le volume d'os est défini par $BS/BV = 2 P_1 / P_p$ (en mm^{-1}). L'épaisseur moyenne des travées (en mm) est estimée par $Tb.Th = P_p / P_1$. La densité de travées (en mm^{-1}) est égale à $Tb.N = 2 P_1$. L'espace intertrabéculaire qui représente la dimension moyenne des cavités contenant la moelle osseuse, est donné par $Tb.Sp = (1 - P_p) / P_1$ (en mm).

Les paramètres topologiques sont calculés à partir d'une squelettisation de l'image. La squelettisation a ici été obtenue par des érosions successives des images binaires 2D. A titre d'exemple, la figure 3 présente une image 2D extraite d'un volume osseux à laquelle est superposée le squelette obtenu. Les paramètres dérivés du squelette sont : le nombre de noeuds du squelette (N.Nd), le nombre de terminaisons libres (N.Ep) et la longueur du squelette (Le.Nw) en mm. Ces paramètres sont utilisés pour donner des informations sur la résistance de la structure.

La méthode classique d'estimation des travées, repose comme nous l'avons vu ci-dessus, sur l'utilisation d'un modèle. Une autre méthode de mesure de l'épaisseur trabéculaire moyenne ne faisant pas d'a priori sur le modèle de la structure a été développée. Elle est basée sur l'utilisation du squelette des travées osseuses, et d'une transformation de distance (Carte de Distance Euclidienne). En effet, l'épaisseur moyenne des travées peut dans ce cas être obtenue comme 2 fois la moyenne des pixels de la carte de distance appartenant au squelette.

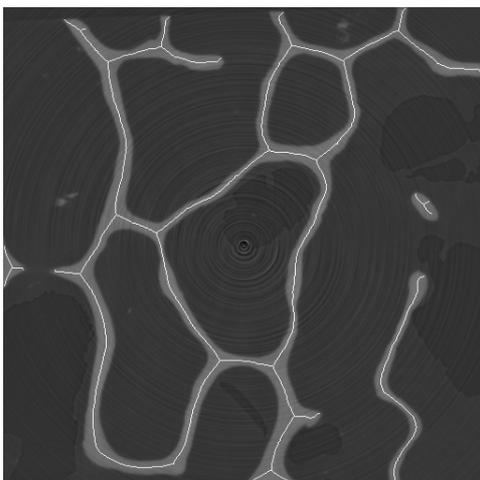


Figure 3 : squelette des travées osseuses superposé à une coupe 2D d'un échantillon de vertèbre humaine.

Nous avons cherché à quantifier la variabilité des paramètres 2D dans l'échantillon. A titre d'exemple, la figure 4 montre les variations du volume trabéculaire

osseux BV/TV en fonction du niveau de coupe dans un échantillon de vertèbre humaine.

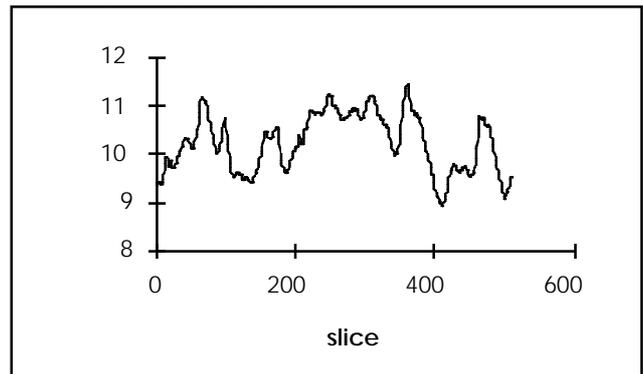


Figure 4 : Variabilité de BV/TV dans un échantillon de vertèbre humaine en fonction du niveau de coupe moyenne = 10.23%, écart type = 0.6.

Sur notre ensemble de données, la variation moyenne des paramètres morphologiques est d'environ 13 %. Elle est plus importante pour les paramètres topologiques et notamment pour les paramètres de connectivité (nombre de noeuds, nombre de terminaisons libres) où elle atteint 39 %. Cette variabilité remet en question la validité des mesures sur des coupes 2D isolées, et montre l'intérêt d'une paramétrisation réellement 3D.

b) Paramètres 3D

Nous travaillons actuellement sur l'extension des paramètres histomorphométriques au 3D. Le volume trabéculaire osseux BV/TV est obtenu sans difficulté. Le rapport surface osseuse sur volume osseux, BS/BV, nécessite une estimation de la surface de la structure.

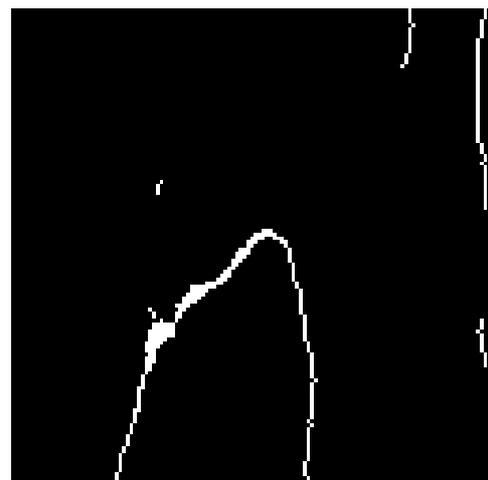


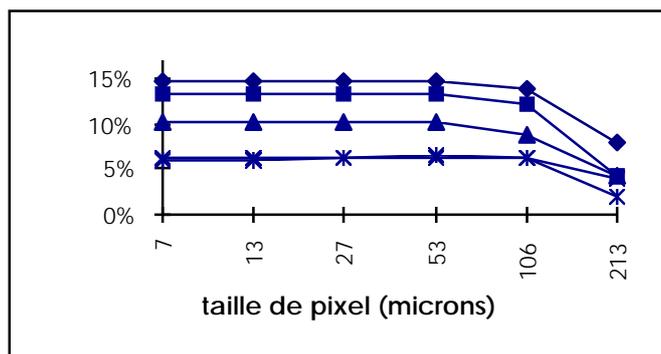
Figure 5 : coupe suivant Ox, du volume auquel a été superposé une pile de squelettes 2D calculés sur les z

Une méthode de squelettisation 3D est nécessaire pour traduire correctement la résistance de la structure, étant donné qu'une pile de squelettes 2D ne représente pas un squelette 3D. A titre d'illustration la figure 5

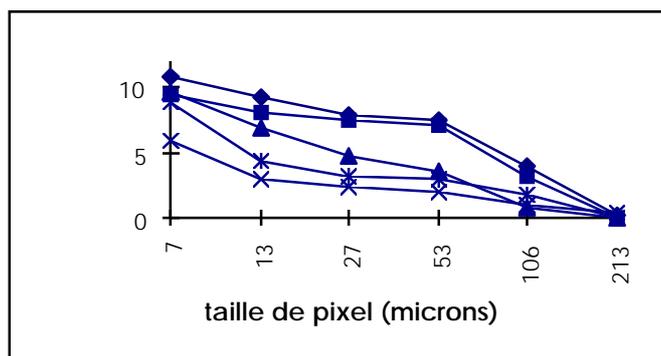
représente une coupe dans la direction Ox d'un volume auquel a été superposé une pile de squelettes calculés coupe par coupe dans la direction Oz. Une méthode de squelettisation basée sur l'utilisation d'une transformation de distance 3D, est en cours de développement. Le squelette 3D permettra de calculer des paramètres de connectivité de la structure 3D. Par ailleurs, la carte de distance 3D permettra d'affiner la mesure de l'épaisseur des travées calculés en 2D.

V. INFLUENCE DE LA RESOLUTION SPATIALE

L'influence de la résolution spatiale sur l'exactitude des paramètres calculés est également examinée afin d'appréhender les erreurs liées au sous-échantillonnage lorsque des scanners conventionnels sont utilisés. En effet, les images obtenues ici sont échantillonnées très finement par rapport aux systèmes usuels, et peuvent donc être utilisés comme des modèles pour analyser certaines dégradations introduites par ces systèmes. Pour cela, les volumes ont été sous-échantillonnés par une technique de pyramide gaussienne 3D. Ceci a permis de générer des volumes dont la taille de voxel varie de 6.65 μm à 212.8 μm .



a)



b)

Figure 6 : Evolution du volume trabéculaire osseux (a), et du nombre de noeuds (b), en fonction de la résolution spatiale, sur des échantillons de vertèbres d'âges différents

Les évolutions du volume trabéculaire osseux et du nombre de noeuds en fonction de la taille de pixels pour 5 échantillons sont présentées sur les figures 6a) et b).

Les paramètres morphologiques et topologiques se révèlent très dépendants de la résolution spatiale. Les paramètres morphologiques sont relativement stables jusqu'à une résolution spatiale d'environ 75 microns. En dessus de ce seuil, on observe une évolution quasi-monotone, ce qui peut permettre de proposer une correction. L'effet d'un manque de résolution sur les paramètres topologiques est plus important, et plus difficilement prévisible. Ceci confirmant qu'une analyse précise de la connectivité requiert des systèmes d'imagerie haute résolution.

VI. CONCLUSION

Nous avons développé un système de tomographie 3D haute résolution bien adapté à l'étude de l'architecture trabéculaire osseuse. Des paramètres quantitatifs sont extraits des images 3D. La variabilité des paramètres 2D classiquement utilisés en histomorphométrie, montre la nécessité d'une paramétrisation 3D. L'évolution des paramètres calculés en fonction de la résolution du système permet d'évaluer la validité des mesures faites avec des scanners plus basse résolution. Par ailleurs, l'utilisation des paramètres développés pourra être utilisé afin de quantifier les effets du vieillissement ou de traitements de l'ostéoporose sur la structure.

REMERCIEMENTS

Nous remercions le groupe détecteur de l'ESRF, et en particulier J. C. Labiche pour son soutien technique.

REFERENCES

- [1] A.M Parfitt, Trabecular bone architecture in the pathogenesis and prevention of fracture, *Am. J. Med.*, vol 82, p 68-72, 1987.
- [2] L.A Feldkamp, S.A Goldstein, A.M. Parfitt, G. Jesion, M. Kleerekoper, The direct examination of three-dimensional bone architecture in vitro by computed tomography, *Journal of Bone and Mineral Research*, vol 4, p 3-11, 1989.
- [3] P. Rügsegger, B. Koller, R. Müller, A microtomographic system for the non destructive evaluation of bone architecture, *Calcif. Tiss. Int.*, vol 58, p 24-29, 1996.
- [4] F. Peyrin, J.P. Houssard, E. Maurincomme, G. Peix, R. Goutte, A.M. Laval-Jeantet, M. Amiel, 3D display of high resolution vertebral structure images, *Comput. Medical Imaging and Graphics*, vol 17, p251-256, 1993.
- [5] J. C. Labiche, J. Segura-Puchades, D. Van Brussel, J. P. Moy, FRELON camera : Fast REadout LOW Noise, *ESRF Newsletter*, n° 25, p 41-43, march 1996.
- [6] A.M Parfitt, C.H.E. Mathews, A.R. Villanueva, M. Kleerekoper, B. Frame, D.S. Rao, Relationships between surface, volume, and thickness of iliac trabecular bone in aging and in osteoporosis, *Journal of Clinical Investigation*, vol 72, p 1396-1409, 1989.