

# Analyse en échelles pour l’optimisation du paramètre de reconstruction en tomographie X de phase; Application à l’imagerie du cerveau du petit animal.

Hugo ROSITI, Carole FRINDEL, Marlène WIART, Max LANGER,  
Cecile OLIVIER, Françoise PEYRIN, David ROUSSEAU,

Université de Lyon, Laboratoire CREATIS; CNRS, UMR5220; INSERM, U1044;  
Université Lyon 1; INSA-Lyon, 69621 Villeurbanne, France.

nom.prenom@creatis.insa-lyon.fr

**Résumé** – L’ajustement de paramètres de reconstruction de la phase en tomographie X de phase sur des tissus biologiques hétérogènes est usuellement réalisé empiriquement par visualisation ou via des hypothèses physiques sur la composition des tissus. Nous considérons la transformation qui vise à reconstruire la phase comme un filtre passe-bas non linéaire dans le domaine de Fourier. Le paramétrage de reconstruction de la phase devient alors un moyen d’ajuster la bande passante de ce filtre. Nous montrons, avec des images de cerveau de petit animal acquises au synchrotron de l’ESRF Grenoble, qu’à l’hétérogénéité de constitution des tissus s’ajoute une hétérogénéité des fréquences spatiales. Celle-ci se traduit par une invariance de comportement à travers les échelles fréquentielles qui offre une voie pour l’ajustement de la bande passante du filtre. L’approche offre un cadre général pour optimiser la qualité de ces images sur un plan anatomique où la composition à travers les échelles de fréquences spatiales des tissus importe davantage que leur composition physique.

**Abstract** – Optimization of the reconstruction parameters in X-ray in-line phase tomography applied to heterogeneous biological tissues is usually realized empirically by visualization or via hypothesis of the physical composition of the tissues. We consider in this communication the phase reconstruction transformation in an image processing perspective as a nonlinear low-pass filter in the Fourier domain. The tuning of the phase reconstruction parameter then becomes a way to control the bandpass of this nonlinear filter. We find, with images of brains of mice acquired at the ESRF synchrotron-Grenoble, that the heterogeneity of constitution of the tissues is also associated to an heterogeneity of spatial frequencies. However, we demonstrate an organization invariant through scales of these spatial frequencies and show that this offer the possibility of a tuning strategy for the bandpass of the filter. This approach provides a general framework for the optimization of the anatomical quality of images in which the frequential behavior of the structures is more important than their physical composition.

## 1 Introduction

En tomographie de phase par rayons X, la réfraction d’un faisceau de rayons X partiellement cohérent par un objet modifie légèrement le front d’onde de l’onde incidente. Ces variations se traduisent par des modifications locales d’intensité de l’onde transmise qui contiennent des informations quantitatives sur le déphasage induit par l’objet. En raison de sa meilleure sensibilité par rapport à la tomographie de contraste d’atténuation, la tomographie de phase par rayons X est actuellement très intéressante pour les tissus mous rencontrés en médecine et en biologie. Il existe diverses techniques pour reconstruire la phase en optique cohérente dans le domaine des rayons X [1]. Dans cette communication, nous nous concentrons sur l’une des plus populaires [2] pour sa commodité d’utilisation puisqu’elle ne nécessite qu’une seule acquisition par projection. Dans la méthode dite de Paganin [2], que nous rappelons brièvement, une étape de reconstruction de phase est réalisée pour chaque projection à partir d’une seule image d’intensité  $I_\omega(x, y, z = \Delta)$  acquise à la distance  $\Delta$  de la surface de sortie de l’objet. Dans les conditions de champ proche, la

phase de l’onde  $\psi_\omega(x, y, z)$  en sortie de l’objet  $z = 0$  peut être reconstruite selon

$$\psi_\omega(x, y, 0) = -\frac{\delta_\omega}{2\beta_\omega} \ln \left( \mathfrak{F}^{-1} \left[ \frac{\mathfrak{F}[I_\omega(x, y, \Delta)]/I_{in}}{1 + (\pi\Delta\lambda\delta_\omega/\beta_\omega)(k^2)} \right] \right), \quad (1)$$

où  $\mathfrak{F}^{-1}$  et  $\mathfrak{F}$  sont les transformées de Fourier inverse et directe,  $k^2 = k_x^2 + k_y^2$  avec  $k_x$  et  $k_y$  les pulsations spatiales dans l’espace réciproque de  $(x, y)$ ,  $I_{in}$  est l’image d’intensité acquise en l’absence d’échantillon,  $\omega$  la pulsation de l’onde X considérée comme cohérente et l’indice de réfraction  $n = 1 - \delta_\omega + i\beta_\omega$ , qui dépend de  $\omega$  et de la composition matérielle de l’objet. Comme on peut le voir dans l’Éq. (1), le calcul de la phase requiert la connaissance du ratio  $\delta_\omega/\beta_\omega$  de l’objet, celui-ci étant supposé homogène, c’est à dire constitué d’un seul matériau connu [3]. Les tissus biologiques sont en général hétérogènes, et la composition exacte ne peut être utilisée comme a priori. Ainsi la sélection du  $\delta_\omega/\beta_\omega$  dans la méthode de Paganin pour des objets biologiques hétérogènes est un problème ouvert. Nous l’abandonons, avec une approche Signal-Image, en considérant notamment une analyse fréquentielle multi-échelles.

## 2 Approche mono-échelle

Pour le traitement d'images, la transformation de l'Éq. (1) dans la méthode de reconstruction de Paganin est équivalente à un filtre passe-bas dans le domaine des fréquences spatiales appliqué à l'image d'intensité suivi d'un opérateur logarithmique. Comme l'illustre la Fig. 1, un  $\delta_\omega/\beta_\omega$  faible donne une image riche en hautes fréquences alors qu'un  $\delta_\omega/\beta_\omega$  élevé donne une image floue. Selon cette lecture, la sélection du paramètre  $\delta_\omega/\beta_\omega$  de l'Éq. (1) nécessite de connaître la gamme de fréquences spatiales attendues dans l'image à reconstruire plutôt que d'une connaissance physique de la constitution de l'échantillon. Ainsi, lorsque la forme des objets à visualiser est connue, la gamme de fréquences spatiales correspondant à ces objets peut être considérée comme connue. Par exemple, pour des structures circulaires la signature en fréquence spatiale suit une fonction de Bessel du premier ordre. Si on considère la valeur correspondant au premier zéro de cette fonction de Bessel comme fréquence de coupure, on obtient dans les conditions expérimentales des images de la Fig. 1 ( $\Delta = 1$  m et  $\lambda = 0.7$  nm)  $\delta_\omega/\beta_\omega = 1$  comme dans la Fig. 1A pour des structures tubulaires de  $8 \mu\text{m}$  de rayon telles les fibres de myélines que l'on rencontre dans le cerveau de souris et  $\delta_\omega/\beta_\omega = 3000$  comme dans la Fig. 1D pour l'ensemble de la coupe de cerveau de souris approximée telle une structure circulaire de rayon 1 cm. Cette approche se distingue radicalement de celle du physicien métrologue, qui, pour faire ressortir une structure particulière, considère des a priori de constitution physique du matériau afin d'obtenir des niveaux de gris qui soient les plus proches de la phase réelle de l'onde [4]. Par exemple, sur la Fig. 1, des particules de fer de taille de quelques micromètres de diamètre ont été injectées dans le cerveau de la souris. Les abaques d'indices de réfraction du fer à la longueur d'onde considérée dicte une valeur de  $\delta_\omega/\beta_\omega = 321$  comme sur la Fig. 1C. Notons que cette valeur serait inchangée si le matériau de fer changeait de taille (pour faire 1 cm par exemple) contrairement à ce qui se produit avec cette approche mono-échelle.

Les représentations des Figs. 1A et 1D sont satisfaisantes pour faire ressortir une échelle particulière. Si on souhaite observer l'ensemble des échelles spatiales qui constituent l'échantillon, une approche multi-échelles est nécessaire. Nous montrons comment mettre en œuvre cette approche en considérant simplement l'ajustement d'un unique paramètre.

## 3 Approche multi-échelles

Nous proposons de considérer la situation où des atlas d'histologies des objets à imager peuvent être utilisés pour optimiser le paramètre  $\delta_\omega/\beta_\omega$ . La tomographie X de phase produit des piles d'images avec une résolution spatiale similaire à celle de l'histologie 2D optique classique. Des atlas d'histologie 2D existent pour les principales structures d'intérêts en biologie et médecine. Nous montrons comment l'analyse des échelles de fréquences spatiales dans des atlas d'histologie 2D peut être utilisée pour ajuster le paramètre  $\delta_\omega/\beta_\omega$  de l'Éq (1).

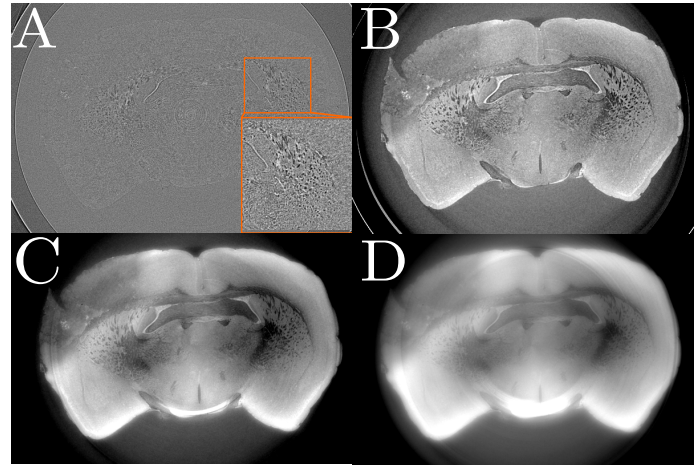


FIGURE 1 – Quatre reconstructions (A)-(D) d'une même coupe de cerveau de souris obtenues en imagerie synchrotron à contraste de phase pour différentes valeurs du paramètre  $\delta_\omega/\beta_\omega = 1, 200, 321, 3000$  de l'Éq. (1). L'encart dans (A) donne un zoom sur des fibres de myéline.

Une façon classique de caractériser le contenu fréquentiel d'une image  $\psi_\omega(x, y, 0)$  consiste à calculer  $\mathfrak{F}(\psi_\omega(x, y, 0))$  sa transformée de Fourier puis son spectre de puissance  $P = |\mathfrak{F}(\psi_\omega(x, y, 0))|^2$ , que l'on moyenne par intégration selon toutes les directions angulaires dans un diagramme polaire pour donner, en fonction de la fréquence spatiale  $f = k/2\pi$ , le spectre de puissance moyen

$$DSP(f) = \frac{1}{2\pi} \int_0^{2\pi} P(f \exp(i\theta)) d\theta. \quad (2)$$

Nous avons réalisé cette analyse sur un ensemble d'images anatomiques de référence des organes que nous souhaitons imager par tomographie X de phase. Pour illustration, nous travaillons avec des cerveaux de souris. Nous utilisons, comme visible sur la Fig. 2, des images issues d'atlas histologiques de référence obtenus après marquage d'un agent coloré via un scanner optique de résolution spatiale comparable à celle de la tomographie X de phase. Les résultats obtenus sur 2 atlas réalisés avec des colorations différentes sont donnés sur la Fig. 2 selon un diagramme log-log. Sur la Fig. 2, les graphes log-log montrent une évolution en  $DSP(f) \sim f^\alpha$ . Ce comportement est préservé de façon robuste sur notre ensemble de plus de 500 d'images pour chacun des deux atlas de cerveau de souris. Ceci traduit pour les images d'histologie de cerveau de souris, une organisation invariante en échelle d'après la loi de puissance  $DSP(f) \sim f^\alpha$ . L'exposant  $\alpha$  prend des valeurs différentes pour chaque coupe, majoritairement non entières comprises entre  $-2$  et  $-3.6$  comme le montre la Fig. 3 avec un excellent ajustement linéaire sur l'ensemble de la gamme de fréquences accessible. Les évolutions de ces exposants sont similaires dans les deux atlas avec des pentes plus faibles, i. e. avec des hautes fréquences spatiales plus riches, dans les images de l'atlas au crésyl violet de la Fig. 2, ce qui semble en accord avec le fait que cet atlas a une apparence granulaire plus fine que l'autre atlas.

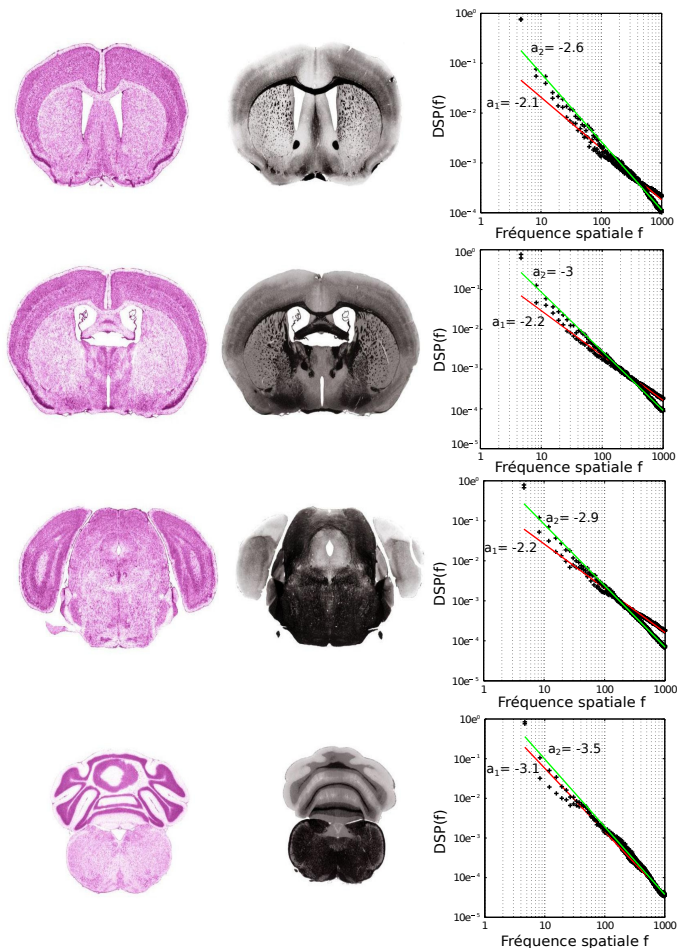


FIGURE 2 – Analyse en échelles fréquentielles des images d’atlas histologiques de cerveau de souris. Première colonne, 4 coupes de cerveau de souris issues de [5] avec un agent de coloration de type Nissl au crésyl violet. Deuxième colonne, idem mais avec une fixation noire dite de myéline car elle fait ressortir les fibres neuronales. Troisième colonne, densité spectrale de puissance moyennée  $DSP(f)$  de l’Éq. (2) en fonction de la fréquence spatiale dans un diagramme log-log. Les croix représentent les points expérimentaux et les droites en trait plein les ajustements linéaires sur l’ensemble de la gamme des fréquences avec  $\alpha_1$  et  $\alpha_2$  les pentes pour les images de la première colonne (droite rouge) et de la deuxième colonne (droite verte). La  $DSP(f)$  est calculée sur les images passées en niveau de gris après une étape de déconvolution couleur [6] correspondant aux agents de coloration utilisés.

Nous avons réalisé les mêmes analyses fréquentielles sur les images issues de la tomographie X de phase pour différents  $\delta_\omega/\beta_\omega$ . La Fig. 4 montre les résultats typiquement obtenus pour une coupe de cerveau, correspondant à la deuxième ligne de la Fig. 2. Le comportement s’écarte cette fois clairement d’une unique loi de puissance aux faibles valeurs de  $\delta_\omega/\beta_\omega$  où l’on observe plutôt deux coudes, i.e. un enchaînement de trois lois de puissance sur des gammes restreintes de fréquences. Aux grandes valeurs de  $\delta_\omega/\beta_\omega$  également on observe plutôt un seul coude, i.e. un enchaînement de deux lois de puissance. Pour

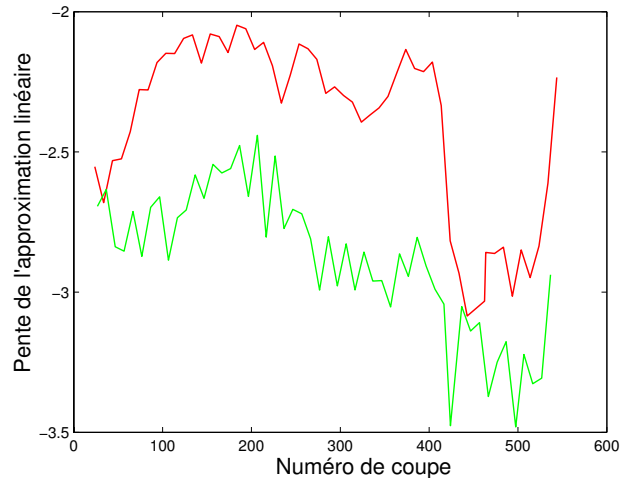


FIGURE 3 – Pente  $\alpha$  de l’approximation linéaire de la densité spectrale de puissance  $DSP(f)$  de l’Éq. (2) en log-log pour l’ensemble des coupes de cerveaux de souris correspondant aux deux atlas (rouge pour les images de la première colonne et en vert ceux de la deuxième colonne) de la Fig. 2. Le coefficient de détermination  $R^2$  moyen des ajustements linéaires avec les points expérimentaux sur l’ensemble de la gamme de fréquences est  $R^2 = 0.97$  pour le crésyl violet et  $R^2 = 0.98$  pour l’atlas myéline.

des valeurs intermédiaires de  $\delta_\omega/\beta_\omega$  néanmoins, on trouve sur la Fig. 4, un régime où le spectre se rapproche d’une loi de puissance unique comme avec les images histologiques.

## 4 Discussion et conclusion

Deux lignes d’analyse peuvent nourrir les observations de la section précédente. Tout d’abord les résultats de la Fig. 3 constituent une caractérisation quantitative nouvelle de la complexité intrinsèque des scènes naturelles, en s’intéressant à l’intérieur d’un organisme vivant avec des résolutions allant de la cellule à l’organisme entier via l’histologie. Les lois de puissance enregistrées dans le graphe de la Fig. 2 peuvent être mises en rapport avec des propriétés fractales et d’invariance d’échelle qui ont aussi été rapportées sur les images de scènes naturelles principalement étudiées sur des vues en luminance ou couleurs du monde extérieur [7, 8, 9, 10] aux échelles macroscopiques. Cette organisation en loi de puissance fait apparaître un continuum de fréquences spatiales dans le spectre de l’Éq. (2) qui traduit la présence de structures anatomiques à toutes les échelles allant des cellules à l’organe entier en passant par les différentes régions anatomiques. Ceci amène la deuxième analyse de la Fig. 2 en lien directe avec notre problématique d’ajustement du  $\delta_\omega/\beta_\omega$  de l’Éq (1). Une signature fréquentielle qui permettrait de déterminer un choix pour  $\delta_\omega/\beta_\omega$  serait une évolution faisant apparaître une fréquence de coupure. Or, avec les signatures en loi de puissance comme dans la Fig. 2, aucune fréquence spatiale ne se dégage du spectre.

Cela signifie qu'il est délicat de déterminer une fréquence de coupure naturelle qui serait dictée par l'anatomie telle que capturée en histologie. En revanche, puisque le comportement en fréquence des coupes histologiques peut être résumé par le paramètre de loi d'échelle  $\alpha$  il est possible de préserver au mieux l'ensemble de ces fréquences en ajustant  $\delta_\omega/\beta_\omega$  de l'Éq. (1) de façon à ce que les images en sortie du filtre de Paganin de l'Éq. (1) suivent le plus possible une loi de puissance sur l'ensemble de la gamme des fréquences spatiales considérées. Nous donnons en insert dans le tableau de la Fig. 4, le coefficient de détermination  $R^2$  qui témoigne de l'adéquation entre le fit linéaire en log-log et les points expérimentaux. Ce coefficient passe par un maximum pour  $\delta_\omega/\beta_\omega = 200$ , qui permet de maximiser un comportement de type loi de puissance en contraste de phase comme on l'observe avec les images de l'atlas crésyl violet et myéline. La pente obtenue,  $-2.81$ , est différente de celle obtenue dans les coupes de la deuxième ligne dans la Fig. 2 pour les 2 atlas histologiques. Néanmoins, la Fig. 1B qui correspond à cette valeur de  $\delta_\omega/\beta_\omega = 200$  montre une bonne similarité avec les contrastes observés dans les images d'atlas d'histologie. Aussi de façon intéressante, on trouve la même valeur de  $\delta_\omega/\beta_\omega$  quand on optimise, comme récemment montré dans [11], le nombre de SIFT (qui est une mesure également invariante en échelle) entre l'image d'atlas et l'image en sortie du filtre de Paganin.

L'approche proposée offre un cadre général pour optimiser la reconstruction des images vis à vis de leur signature fréquentielle et non pas seulement de leur composition physique. Une limitation toutefois de cette approche tient au fait que le  $\delta_\omega/\beta_\omega$  optimal ainsi obtenu sera a priori différent pour chaque coupe. Une façon de dépasser cette limitation consisterait à réaliser dans l'Éq. (2) une transformation de Fourier 3D sur l'ensemble de l'échantillon en intégrant suivant les différents angles d'Euler.

## 5 Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein du LABEX PRIMES (ANR-11-LABX-0063) de l'Université de Lyon, dans le cadre du programme "Investissements d'Avenir" (ANR-11-IDEX-0007) de l'État Français, géré par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR). Ce travail a été réalisé grâce au soutien financier de l'Installation Européenne de Rayonnement Synchrotron (ESRF, projet MD-499) par l'allocation de temps faisceau.

## Références

[1] D. M. Paganin, "Coherent X-ray Optics," Oxford Science Publications, 2006.

[2] D. M. Paganin, S. C. Mayo, T. E. Gureyev, P. R. Miller, S. W. Wilkins, "Simultaneous phase and amplitude extraction from a single defocused image of a homogeneous object," *Journal of Microscopy* **206**, 33–40, 2002.

[3] R. C. Chen, H. L. Xie, L. Rigon, R. Longo, E. Castelli, T. Q. Xiao, "Phase retrieval in quantitative x-ray microtomography with a single sample-to-detector distance," *Optics Letters* **36**, 1719–1721, 2011.

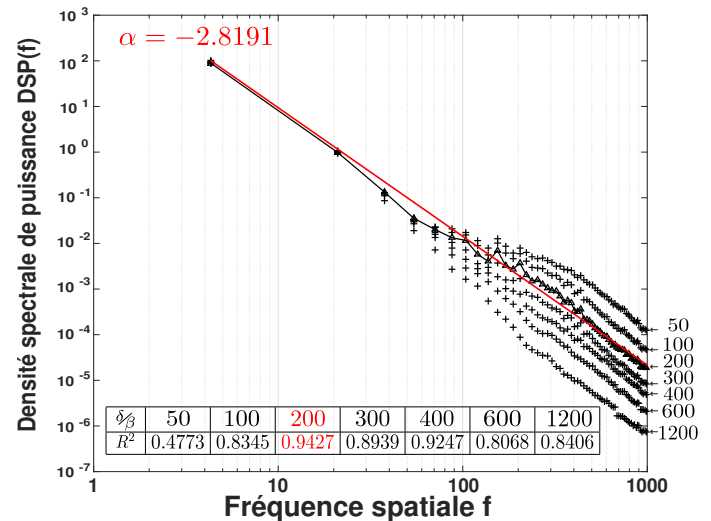


FIGURE 4 – Analyse en échelles fréquentielles de la coupe de cerveau de souris de la Fig. 1 par tomographie X de phase pour différents  $\delta_\omega/\beta_\omega$  de l'Éq. (1). Les croix correspondent à la  $DSP(f)$  de l'Éq. (2) tracée en fonction de la fréquence spatiale dans un diagramme log-log. La droite est l'ajustement linéaire pour la valeur de  $\delta_\omega/\beta_\omega$  qui maximise le  $R^2$ .

[4] M. Langer, P. Cloetens, B. Hesse, H. Suhonen, A. Patureanu, K. Raum, F. Peyrin, "Priors for X-ray in-line phase tomography of heterogeneous objects," *Philosophical Transaction of the Royal Society A* **372**, 20130129, 2014.

[5] <http://www.hms.harvard.edu/research/brain/atlas.html>

[6] A. Ruifrok, D. Johnston, "Quantification of histochemical staining by color deconvolution," *Analytical and quantitative cytology and histology* **23**, 291–299, 2001

[7] D. Field, "Relations between the statistics of natural images and the response properties of cortical cells," *Journal of the Optical Society of America* **4**, 2379–2394, 1987

[8] D. Ruderman, W. Bialek, "Statistics of natural images : Scaling in the woods," *Physical Review Letters* **73**, 814–817, 1994.

[9] J. Chauveau, D. Rousseau, P. Richard, F. Chapeau-Blondeau, "Multifractal analysis of three-dimensional histogram from color images," *Chaos, Solitons & Fractals* **43**, 57–67, 2010.

[10] Y. Chene, E. Belin, D. Rousseau, F. Chapeau-Blondeau, "Multiscale analysis of depth images from natural scenes : Scaling in the depth of the woods," *Chaos, Solitons & Fractals* **54**, 135–149, 2013.

[11] H. Rositi, C. Frindel, M. Langer, M. Wiart, C. Olivier, F. Peyrin, D. Rousseau, "Computer vision tools to optimize reconstruction parameters in X-ray in-line phase tomography"; *Physics in Medicine and Biology* **59**, 7767–7775, 2014.