

Approche statistique adaptative pour le filtrage de séquences $3D + t$ d'images de microscopie à fluorescence.

Jérôme Boulanger¹

Charles Kervrann¹

Patrick Bouthemy²

¹ IRISA - INRIA / INRA MIA

² IRISA - INRIA

Campus Universitaire de Beaulieu 35042 Rennes Cedex - France

jboulang@irisa.fr

Résumé

Nous présentons une méthode de filtrage spatio-temporelle destinée à améliorer significativement le rapport signal à bruit (SNR) dans des séquences bruitées de microscopie à fluorescence. Celles-ci représentent un grand nombre de petits objets assimilables à des particules et qui doivent être suivis d'une image à l'autre. La restauration des séquences est réalisée grâce à une approche basée sur des fenêtres spatio-temporelles adaptatives dont les caractéristiques sont estimées en ligne. Nous avons pu tester cette méthode sur des séquences synthétiques ainsi que sur des séquences réelles représentant un grand nombre de vésicules se déplaçant dans le voisinage de l'appareil de Golgi. On constate une amélioration notable du SNR ce qui conduit à la mise en valeur des objets d'intérêt qui peuvent alors être segmentés par des méthodes relativement simples. Les études biologiques pour lesquelles des dynamiques doivent être analysées au niveau moléculaire ou intra-cellulaire, peuvent largement tirer parti de cette nouvelle méthode.

Mots Clef

Filtrage $3D + t$, approche statistique adaptative, imagerie biologique.

Abstract

We present a spatio-temporal filtering method for significantly increasing the signal-to-noise ratio in noisy fluorescence microscopic image sequences where small particles have to be tracked from frame to frame. Image sequence restoration is achieved using a spatio-temporal adaptive window approach with an appropriate on-line window geometry specification. We have applied this method to noisy synthetic and real 4-D images where a large number of small fluorescently labelled vesicles move in regions close to the golgi apparatus. The SNR is shown to be drastically improved which simultaneously enhances small objects of interest which even can be segmented. This novel approach

can be further used for biological studies where dynamics have to be analyzed in molecular and sub-cellular bio-imaging.

Keywords

$3D + t$ Filtering, adaptive statistical approach, bio-imaging.

1 Introduction

Les techniques de fluoro-microscopie sont actuellement capables de produire couramment des données en dimension 4 ou 5. En effet, la microscopie confocale tout comme la microscopie à déconvolution permettent d'améliorer la résolution dans les directions x et y perpendiculaires à l'axe optique mais aussi dans la direction z parallèle à celui-ci. On peut alors extraire des coupes optiques des spécimens analysés et une exploration tri-dimensionnelle du volume est réalisée. Grâce à ces développements, il est possible aujourd'hui de disposer assez facilement d'images de très bonne résolution, ce qui explique leur diffusion en bio-médecine et en bio-physique. De plus, des séries temporelles de ces volumes peuvent être acquises, dans éventuellement plusieurs domaines de longueurs d'onde \mathcal{L} aboutissant ainsi à des données $4D$ ($3D + t$) ou $5D$ ($3D + t + \mathcal{L}$). De telles séquences permettent de mieux comprendre les dynamiques aux niveaux intra-cellulaire et moléculaire.

Malgré les progrès en terme de résolution, le rapport signal à bruit des images est souvent faible à cause de leur acquisition en régime de faible flux. Ainsi, la restauration des images occupe souvent une place importante, non seulement dans un but de visualisation, mais surtout lorsqu'elle constitue la première étape d'un schéma d'analyse. Dans beaucoup de cas, les séquences acquises représentent de petites vésicules qui apparaissent sous la forme de particules possédant des vitesses très variables. Sans une étape de restauration, la vitesse de ces particules ne peut être calculée

avec précision et fiabilité. Les trajectoires de ces objets constituent des structures linéiques que l’algorithme employé pour restaurer les séquences doit préserver.

Pour de telles applications, les images sont souvent traitées une par une et des filtrages spatiaux sont principalement appliqués en raison des temps de calculs importants associés au traitement complet de ces séquences. Néanmoins, il est généralement admis que les filtres spatio-temporels surpassent les filtrages spatiaux. De nombreuses méthodes pour la restauration de séquences vidéo sont apparues pendant la dernière décennie. Celles-ci peuvent être classées selon la nature de leur support (temporel ou spatio-temporel) et selon l’usage d’une étape de compensation du mouvement [3]. On distingue les filtres spatio-temporels qui reposent sur l’extension de principes de restauration qui ont déjà fait leurs preuves pour le traitement des images fixes. On peut ainsi citer le filtre de Wiener [4], la diffusion anisotrope [8] dont l’application aux données de microscopie de fluorescence a déjà menée [15]. De même, des algorithmes basés sur le seuillage des coefficients de la transformée en ondelettes ont été étendus aux séquences d’images dans [11].

Dans cet article, nous abordons le problème de la restauration de séquences volumiques en étendant la méthode présentée dans [7] pour des images fixes. Cette méthode se différencie des méthodes de diffusion anisotrope [2] et du filtrage bilatéral itéré [1] puisque les données initiales sont utilisées à chaque itération. Par ailleurs, la méthode réalise une sélection d’échelle ponctuelle, déterminant ainsi localement la fenêtre la mieux adaptée à l’estimation du pixel courant. Les propriétés d’un tel estimateur sont bien connues en statistique non paramétrique pour réaliser un lissage adaptatif [9, 10, 13, 6]. L’algorithme présenté ne demande aucune connaissance *a priori* sur le signal et permet d’obtenir pour chaque estimée une mesure de la confiance associée. De plus, il ne repose pas sur la minimisation d’un critère régularisant à l’inverse des méthodes de variation totale [12]. Enfin, il ne met pas en œuvre une étape d’estimation du mouvement. En effet, dans un contexte aussi bruité et pour de petits objets rapides, celle-ci ne s’avère pas assez fiable pour pouvoir être injectée dans un algorithme de restauration.

Bien que générale, la méthode présentée s’avère particulièrement adaptée au cas des images de vidéo-microscopie de fluorescence. Elle a été développée en vue d’analyser le rôle de protéines impliquées dans la régulation du trafic intra-cellulaire. Ces protéines sont situées à l’intérieur de vésicules munies de moteurs biologiques, qui leur permettent de se déplacer le long de “câbles” polarisés formant un réseau de microtubules. C’est ce mécanisme qui explique les grandes vitesses observées (jusqu’à deux ou trois fois la taille de la vésicule). Dans un premier temps, afin d’évaluer ses

performances, nous testerons la méthode décrite sur des séquences synthétiques, puis nous l’appliquerons à des données réelles de vidéo-microscopie.

2 Description de la méthode

2.1 Présentation du modèle d’image

Nous considérons le modèle statistique de l’image décrit par l’équation suivante :

$$Y_i = u(\mathbf{x}_i) + \xi_i \quad (1)$$

où $\mathbf{x}_i \in \Omega \subset \mathbb{R}^d$ avec $d = 3$ pour des séquences d’images en deux dimensions ou bien $d = 4$ pour des séquences de volumes en trois dimensions. L’objectif est d’estimer la fonction $u_i = u(\mathbf{x}_i)$ décrivant l’image originale à partir des données Y_i . Celle-ci est le résultat de l’addition à l’image originale d’un bruit blanc, gaussien, centré, de variance τ_i^2 pouvant varier selon la chaque position \mathbf{x}_i .

Nous faisons alors l’hypothèse que la fonction u est constante par morceaux dans un voisinage local. Cette hypothèse peut sembler restrictive, mais il faut garder à l’esprit que la forme et la taille du voisinage sur lequel u est considérée comme constante sont inconnues. Ainsi, un premier point de cette méthode sera de déterminer les caractéristiques de ce voisinage. Une fois que celles-ci sont estimées, la fonction u peut être estimée localement en appliquant le critère du maximum de vraisemblance. La méthode que nous présentons, inspirée de [10], répond à ces deux problèmes en donnant une estimation de u de façon itérative.

L’idée principale de cet algorithme repose sur la définition d’une suite de voisinages $(W_{i,n})_{n \in [0:N]}$ en chaque point \mathbf{x}_i telle que $W_{i,n} \subset W_{i,n+1}$. L’initialisation de la suite de fenêtres $(W_{i,n})_{n \in [0:N]}$ est réalisée en fixant les caractéristiques d’une fenêtre initiale $W_{i,0}$. Par exemple, celle-ci peut contenir les 26 plus proches voisins du point \mathbf{x}_i dans l’espace $3D$. Sur ce premier voisinage, nous pouvons calculer une estimée initiale $\hat{u}_{i,0}$:

$$\hat{u}_{i,0} = \frac{1}{|W_{i,0}|} \sum_{\mathbf{x}_j \in W_{i,0}} Y_j \quad (2)$$

et la variance associée $\hat{\sigma}_{i,0}^2$:

$$\hat{\sigma}_{i,0}^2 = \frac{1}{|W_{i,0}|^2} \sum_{\mathbf{x}_j \in W_{i,0}} \hat{\tau}_j^2 \quad (3)$$

où $\hat{\tau}_j^2$ est donné par une estimation empirique de la variance τ_j^2 comme cela est décrit dans la section 3. Cette étape d’initialisation fournit les premières estimées des deux séquences $(\hat{u}_{i,n})_{n \in [0:N]}$ et $(\hat{\sigma}_{i,n}^2)_{n \in [0:N]}$. L’étape suivante consiste à considérer un voisinage plus étendu $W_{i,1}$ tel que $W_{i,0} \subset W_{i,1}$. Nous pouvons associer à

chaque voisinage un nouvel estimateur de fonction u_i tel que :

$$\hat{u}_{i,n} = \sum_{j \in W_{i,n}} \omega_{ij} Y_j \quad (4)$$

de variance $\hat{\sigma}_{i,n}^2$:

$$\hat{\sigma}_{i,n}^2 = \sum_{j \in W_{i,n}} \omega_{ij}^2 \hat{\tau}_j^2 \quad (5)$$

Les poids ω_{ij} sont définis en fonction du contraste entre les estimées $\hat{u}_{i,n-1}$ au point courant \mathbf{x}_i et les estimées $\hat{u}_{j,n-1}$ correspondant aux points \mathbf{x}_j appartenant au voisinage $W_{i,n}$.

2.2 Étape d'estimation

Les équations (4) et (5) peuvent être analysées dans un cadre d'estimation robuste pour lequel les poids ω_{ij} sont définis à partir de la fonction d'influence d'un M-estimateur. Nous avons choisi le M-estimateur de Huber pour ses propriétés de robustesse et de lissage. Sa fonction d'influence est définie par :

$$f(x) = \begin{cases} 1 & \text{si } |x| \leq 1 \\ \frac{1}{|x|} & \text{sinon} \end{cases} \quad (6)$$

À l'itération n , les poids $0 \leq \omega_{ij} \leq 1$ sont calculés de la façon suivante :

$$\omega_{ij} = \frac{f(\delta_{ij})}{\sum_{x_j \in W_{i,n}} f(\delta_{ij})} \quad (7)$$

où le contraste normalisé δ_{ij} entre deux estimées $\hat{u}_{i,n-1}$ et $\hat{u}_{j,n-1}$ est donné par :

$$\delta_{ij} = \frac{\hat{u}_{i,n-1} - \hat{u}_{j,n-1}}{\lambda \hat{\sigma}_{i,n-1}} \quad (8)$$

De cette façon, les poids sont construits à partir d'une image régularisée et sélectionnent les points du voisinage spatio-temporel qui contribuent à l'estimation. Cette décision est prise sous l'hypothèse que le bruit suit une loi Gaussienne. Ainsi, le paramètre λ permet de contrôler la probabilité de type I pour le test suivant : "Est ce que les points appartiennent à la même région". Typiquement, nous prenons $\lambda = 3$ ce qui correspond à une probabilité d'erreur de 0.0027. L'utilisation d'estimateur robuste permet de s'affranchir de la définition d'un voisinage à la forme géométrique complexe qui serait constitués uniquement des points appartenant à la même région que le point courant.

2.3 Définition des voisinages

La deuxième idée majeure constituant la méthode présentée ici, repose sur la définition de la suite de voisinages $(W_{i,n})_{n \in [0:N]}$. Le point important est que cette

définition doit permettre de découpler les dimensions spatiales et la dimension temporelle en laissant ainsi les données diriger la forme que doit prendre le voisinage spatio-temporel. Il est aussi important de noter que ce découplage peut être réalisé non seulement en spécifiant la forme générale des voisinages mais surtout par la manière dont on les fait croître au cours des itérations. Cette dernière remarque nous amène à adopter un voisinage ayant une forme d'hyper-cube spatio-temporel fonction des dimensions considérées. Cette structure de voisinage est alors paramétrés par ses cotes spatiale et temporelle.

Dans le cas de la microscopie confocale, tout comme dans le cas de la microscopie à déconvolution, l'échantillonnage des volumes acquis n'est pas le même dans le plan xy que selon la profondeur z . Ainsi la résolutions spatiale des volumes est 3 fois plus petite selon z . Afin de prendre en compte cette anisotropie, on peut construire les voisinages en respectant ce rapport de 1/3 pour la profondeur.

Pour ce qui est de la dimension temporelle, on peut préférer distinguer le passé du futur en définissant deux horizons temporels : t^+ la durée correspondant à l'extension du voisinage dans le futur et t^- la durée correspondant à l'extension dans le passé. Cette asymétrie peut être alors renforcée en posant $t^+ = 0$ afin d'effectuer uniquement un filtrage causal. La figure 1 illustre les voisinages spatio-temporels utilisés. On voit clairement la manière dont ceux-ci évoluent au cours des itérations. Il est important de noter que la séquence des voisinages n'est pas déterminée à l'avance et que le cas présenté sur la figure correspond au cas où les tests décrits dans la section suivante ont été acceptés à chacune des itérations. Par ailleurs, nous rappelons que les voisinages associés à deux points peuvent se recouvrir, évitant ainsi des effets de blocs lors de la restauration.

2.4 Estimation de la taille des fenêtres

Au fur et à mesure que les voisinages augmentent, les points qu'ils contiennent deviennent de moins en moins cohérents avec le point estimé. Il est donc nécessaire de contrôler la validité des estimées successives obtenues. Ainsi, une première règle locale permet d'estimer la fenêtre optimale $\hat{W}_{i,n}$ pour l'estimateur $\hat{u}_{i,n}$. Une fois que la fenêtre optimale a été atteinte, l'estimation est définitivement stoppée pour ce point. Le critère du risque local quadratique est utilisé pour mesurer localement la distance entre l'estimée \hat{u} et la fonction inconnue u . Il peut être décomposé en deux termes : le biais et la variance. Dériver la fonction optimale n'est pas évident avec un tel estimateur. Néanmoins, nous pouvons faire l'hypothèse suivante : lorsque la taille fenêtre d'estimation augmente, le biais augmente et la variance diminue. Par conséquent, la

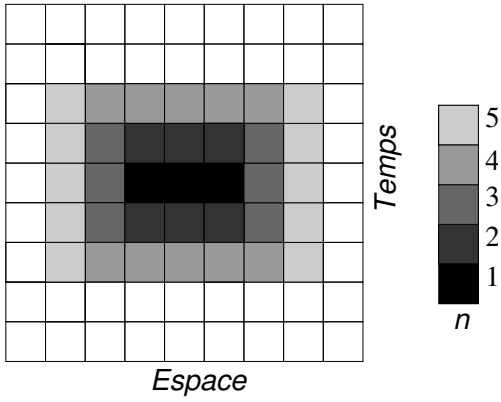


FIG. 1 – Voisinages spatio-temporels utilisés. Comme l’indique la barre de en niveaux de gris, plus le voisinage est de couleur claire et plus l’itération n à laquelle il correspond est grande.

fenêtre d’estimation retenue est celle qui réalise le meilleur compromis entre ces deux termes. En notant $\mathbb{E}(\cdot)$ l’espérance mathématique, le risque quadratique peut s’écrire sous la forme suivante :

$$\mathbb{E}[\hat{u}_{i,n} - u_i]^2 = [\text{Bias}(\hat{u}_{i,n})]^2 + \hat{\sigma}_{i,n}^2 \approx 2\hat{\sigma}_{i,n}^2 \quad (9)$$

si on suppose que l’équilibre parfait est la solution optimale pour la fenêtre. En considérant la suite croissante des fenêtres $(W_{i,n})_{n \in [0:N]}$ ainsi que la suite des estimés $(\hat{u}_{i,n})_{n \in [0:N]}$ de variance $(\hat{\sigma}_{i,n}^2)_{n \in [0:N]}$, la fenêtre idéale est la dernière qui vérifiera le test local statistique suivant [7, 9, 10] :

$$\forall n' \in [0, \dots, n-1], \quad |\hat{u}_{i,n} - \hat{u}_{i,n'}| < \eta \hat{\sigma}_{i,n'} \quad (10)$$

Cette règle traduit le compromis biais-variance souhaité sachant que $W_{i,n'} \subset W_{i,n}$. Ainsi, tant que, pour chaque point, les estimées successives restent relativement proches les unes des autres, on décide alors de continuer le processus d’estimation. Le paramètre η doit être choisi dans l’intervalle $[2, 4]$ pour contrôler les fluctuations stochastiques. Nous avons vu dans la section 2.3 que les voisinages étaient paramétrés selon les dimensions dans l’espace et le temps. Ainsi, lorsque le test (10) est rejeté, l’augmentation du voisinage s’arrête pour le paramètre considéré mais l’augmentation de la taille du voisinage selon les autres dimensions est poursuivie.

Nous pouvons aussi introduire une seconde règle locale pour arrêter l’estimation. Celle-ci, plus pragmatique, permet de réduire le coût de calcul. En effet, on peut décider de ne plus améliorer l’estimation de u_i lorsque la variance $\hat{\sigma}_{i,n}$ de l’estimateur $\hat{u}_{i,n}$ est suffisamment faible. Ainsi lorsque $\hat{\sigma}_{i,n} < 1/3$, on décide de stopper localement l’estimation. En effet la fonction u est quantifiée en niveaux de gris qui correspondent à des valeurs entières. Cette règle est particulièrement

utile pour les régions uniformes où de grands voisinages peuvent être acceptés par le test statistique (10) et prend tout son sens pour les données $3D + t$.

3 Mise en œuvre

Comme nous l’avons évoqué dans la section 2.1, la méthode nécessite l’estimation de la variance du bruit. On considère généralement que la variance du bruit est constante sur tout le volume spatio-temporel. Cependant une estimation locale de la variance est toujours possible comme cela est proposée dans [7], ce qui permet de prendre en compte les inhomogénéités spatiales ou temporelles de la séquence. Nous estimons la variance de façon robuste en calculant les pseudo-résidus ε_i définis en chaque point \mathbf{x}_i par :

$$\varepsilon_i = \frac{1}{\sqrt{72}} (8Y_i - \Delta Y_i) \quad (11)$$

où ΔY est le Laplacien de Y calculé sur un 8-voisinage $4D$. Cette écriture compacte est à rapprocher de la définition des pseudo-résidus proposée par Gasser [5]. La constante $\sqrt{72}$ permet d’assurer que $\mathbb{E}[\varepsilon_i^2] = \tau^2$. Connaissant les pseudo-résidus ε_i , on peut alors estimer de façon robuste la variance globale du bruit τ par :

$$\tau = 1.4826 \text{ med}(|\varepsilon - \text{med}|\varepsilon|) \quad (12)$$

Nous avons aussi vu que les paramètres λ et η étaient bien calibrés. En pratique, on peut les considérer comme étant fixés définitivement à 3 et $2\sqrt{2}$. Le dernier paramètre restant à déterminer est le nombre maximum d’itérations N . Celui-ci correspond aussi à la taille maximale des fenêtres utilisées. Nous pouvons aussi mettre en œuvre un test d’arrêt global pour permettre de déterminer si d’une étape à l’autre, l’estimée est significativement améliorée. Dans la pratique, nous fixons le nombre d’itérations en trouvant un compromis entre la qualité du résultat et le coût de calcul.

Lors de la procédure d’estimation, nous alternons la croissance des voisinages selon les dimensions de l’espace et du temps. De plus, nous utilisons un voisinage symétrique dans le temps en posant $t^+ = t^-$. Ceci permet d’augmenter plus rapidement le volume spatio-temporel des voisinages utilisés et ainsi de faire converger plus vite l’algorithme.

4 Résultats

4.1 Simulations

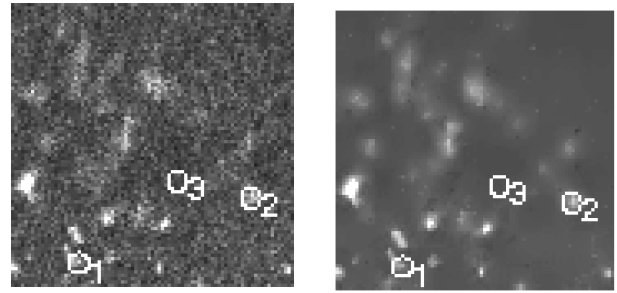
La méthode présentée dans la section précédente a été testée sur des données simulées ainsi que sur des données réelles. Les données réelles utilisées sont extraites de séquences acquises par microscopie à champ large et fournies par l’Institut Curie.

Afin d'estimer les performances de la méthode, il est nécessaire de disposer d'une séquence de référence permettant de mesurer les erreurs introduites par l'estimation. Pour obtenir une séquence synthétique réaliste en termes d'intensité et de dynamique, nous décidons de corrompre avec un bruit blanc additif gaussien une séquence préalablement restaurée. Une estimation du niveau de bruit typique présent dans les séquences de vidéo-microscopie à l'aide de la méthode présentée dans la section 3 nous indique que l'écart-type du bruit est d'environ 20. Pour évaluer les performances de la procédure décrite, on utilise une mesure standard : le *PSNR* défini comme $20 \log_{10}(255/rms)$ où *rms* représente l'écart quadratique moyen entre la séquence de référence et la séquence restaurée.

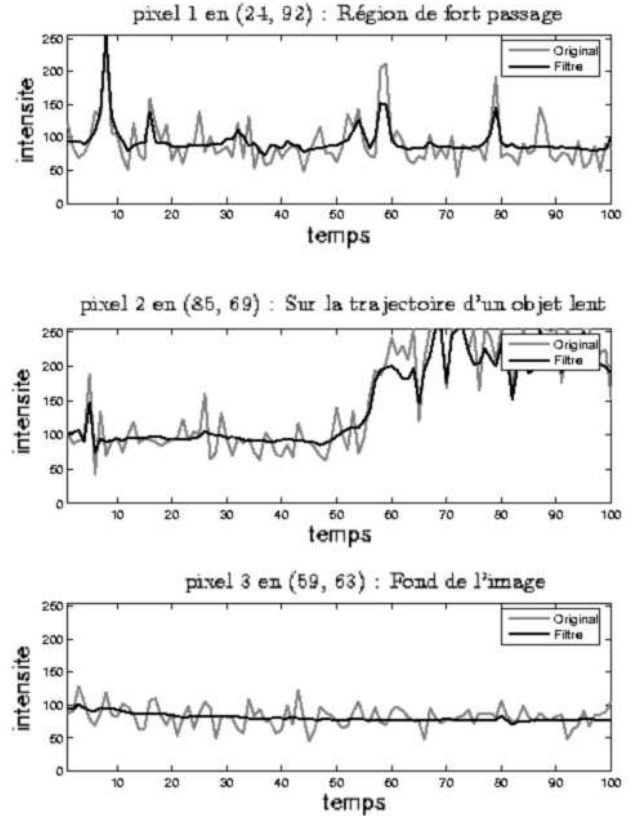
Afin de mettre en évidence l'apport du filtrage spatio-temporel décrit, nous comparons diverses approches. La figure 2(a) montre la séquence $2D + t$ utilisée comme référence représentée sous la forme d'un volume coupé selon 3 plans : XY , XT et YT . Sur la figure 2(b), nous avons simulé une séquence réaliste tel que cela est décrit précédemment. La figure 2(c) fait apparaître les inconvénients liés à un filtrage traitant chaque images indépendamment. En effet, aucune cohérence temporelle n'est introduite et un scintillement, qui se traduit par des stries, est visible sur les coupes XT et YT . Nous avons appliqué une méthode de régularisation basée sur les équations aux dérivées partielles [14] sur le volume spatio-temporel $2D + t$ en le considérant comme un volume spatial $3D$ (figure 2(d)). La séquence est fortement lissée mais des artefacts liés au fort niveau de bruit initial sont visibles. Afin de comprendre l'apport des voisinages permettant de découpler les dimensions spatiales et la dimension temporelle, nous avons appliqué la méthode d'estimation adaptative telle que décrite dans [7] sur la séquence vue comme un volume spatial (figure 2(e)). On constate alors un flou temporel qui se traduit par la répétition des objets rapides sur plusieurs images. Enfin, la figure 2(f) montre comment la méthode présentée permet de résoudre ce problème. En particulier, les objets rapides apparaissant comme des traits de forte intensité sur les coupes XT et YT , ne sont pas lissés temporellement car le voisinage utilisé se réduit alors uniquement à un volume spatial.

4.2 Données réelles

La méthode proposée est appliquée pour traiter un ensemble de séquences de vidéo-microscopie en vue de faciliter l'analyse de la dynamique de deux protéines Rab6a et Rab6a' impliquées dans certaines étapes du trafic membranaire. Les protéines marquées se déplacent avec des vitesses très variables autour de l'appareil de Golgi. Les volumes constitués par des piles d'une dizaine de coupes sont acquis à la fréquence de 1 à 2 Hz afin de permettre d'observer le mouvement



(a) Image originale $t = 58$ (b) Image filtrée $t = 58$

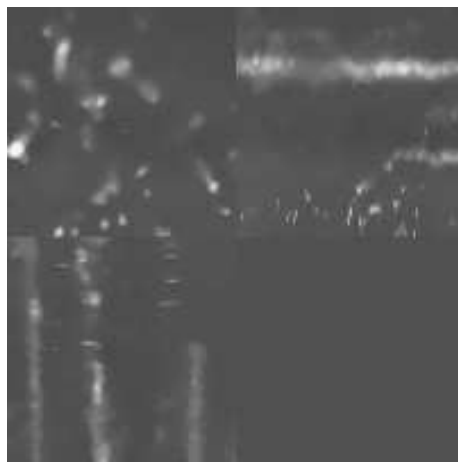


(c) Profils d'intensité temporels

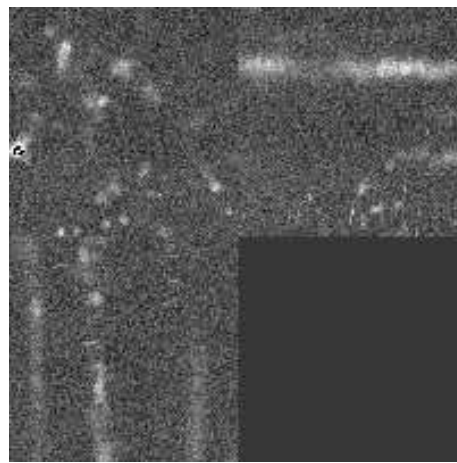
FIG. 3 – Trois profils temporels correspondant aux trois pixels repérés en (a) et (b) sur des images extraites de la séquence originale et de la séquence restaurée.

des vésicules sans détruire les cellules.

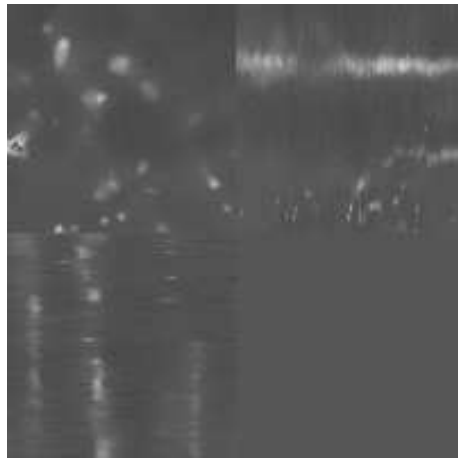
La figure 3 présente trois profils d'intensités temporels choisis. Les pixels sélectionnés sont repérés sur les figures 3(a) et 3(b). Ils correspondent à trois type de signaux caractéristiques de ce types de séquences. Le premier signal correspond à un pixel situé dans une région de fort passage. On peut y remarquer cinq pics importants associés aux passages de vésicules. On notera un dernier pic sur la séquence originale qui a été éliminé lors du filtrage. Ceci ne constitue pas une



(a) séquence originale



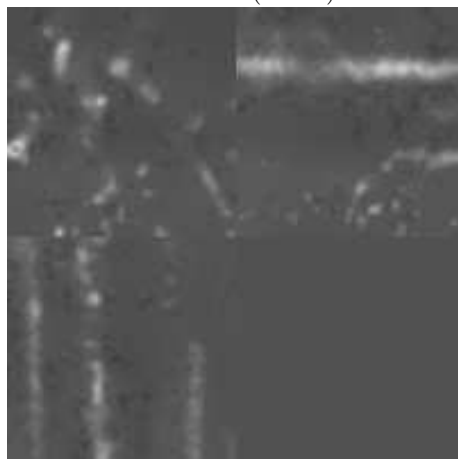
(b) séquence bruitée
(22 dB)



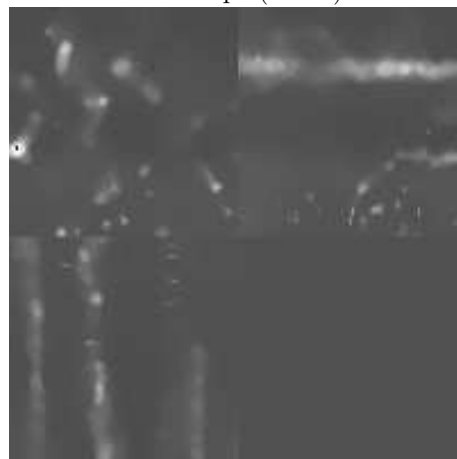
(c) estimation adaptative
locale $2D$ (32 dB)



(d) lissage par diffusion
anisotrope (33 dB)



(e) estimation adaptative
locale $3D$ (33 dB)



(f) estimation adaptative
locale $2D + t$ (35 dB)

FIG. 2 – Six séquences $2D + t$ représentées comme des volumes de dimension $100 \times 100 \times 100$ coupé selon 3 plans : XY , YT et XT (quadrants haut-gauche, haut-droite et bas-gauche, le quadrant bas-droite est vide). (a) séquence originale utilisée comme vérité terrain ; (b) séquence bruitée artificiellement ; (c) estimation adaptative [7] réalisée en $2D$, les images sont traitées indépendamment ; (d) diffusion anisotrope $3D$ [14] appliquée sur la séquence considérée comme un volume spatial homogène ; (e) estimation adaptative $3D$ [7] appliquée sur la séquence considérée comme un volume homogène ; (f) résultat de notre méthode d'estimation spatio-temporelle adaptative.

erreur mais correspond à l'utilisation d'un contexte spatial qui a permis à l'algorithme d'éliminer ce pic important du au bruit. Le signal temporel extrait du deuxième pixel représente l'arrivée d'un objet à cette position. À partir de la moitié de la séquence, cet objet ne quitte pas cette position. Ceci se traduit par une intensité élevée. Enfin, le troisième signal correspond à un pixel situé sur le fond de l'image. Le signal restauré est alors très lisse; il traduit une zone sans aucune activité de passage.

La figure 4 montre trois images consécutives d'une séquence 2D réelle. On y distingue l'appareil de Golgi qui apparaît comme une large tache de forte intensité ainsi que les vésicules de petite taille. On peut constater la réduction importante du niveau de bruit.

Les figures 5(a) et 5(b) représentent un volume spatial 3D extrait d'une séquence réelle et celui obtenu après restauration. On peut constater ici l'intérêt d'un tel filtrage pour la visualisation de données volumiques. En effet, le volume non restauré ne permet pas de distinguer les objets tandis que le volume restauré nous montre clairement la présence des vésicules qui apparaissent comment des zones opaques.

En plus des images restaurées, cette méthode fournit une information sur la régularité spatio-temporelle de la séquence à travers la taille des fenêtres d'estimation utilisées en chaque point. Les figures 5(c) et 5(d) représentent les dimensions spatiales et temporelles des fenêtres estimées lors du débruitage de la séquence dont on peut voir l'image 3D correspondant à la figure 5(a). La dimension spatiale des fenêtres donne directement une information sur la courbure spatiale de la fonction image u , tandis que la dimension temporelle donne une information sur le mouvement en chaque point.

5 Discussion

En résumé, nous avons présenté une méthode permettant de restaurer des séquences d'images 2D et 3D. Cette méthode est basée sur les principes du filtrage adaptatif décrit dans [7] et [10]. Son adaptation aux séquences d'images a nécessité la définition de suites de voisinages spatio-temporels adaptés permettant de prendre en compte la spécificité du temps par rapport à l'espace. Le modèle d'image bien que simple permet d'obtenir de bons résultats d'un point de vue qualitatif et quantitatif.

Nous avons développé cette méthode pour faciliter l'analyse de séquences de vidéo-microscopie. Ces dernières représentent des vésicules possédant des vitesses parfois assez grandes, ce qui constitue une des difficultés du débruitage de telles images en plus du rapport signal à bruit très faible. Les expériences montrent que cette méthode se révèle très efficace. Le niveau du bruit est considérablement réduit, ce qui facilite la mise en œuvre de post-traitements comme

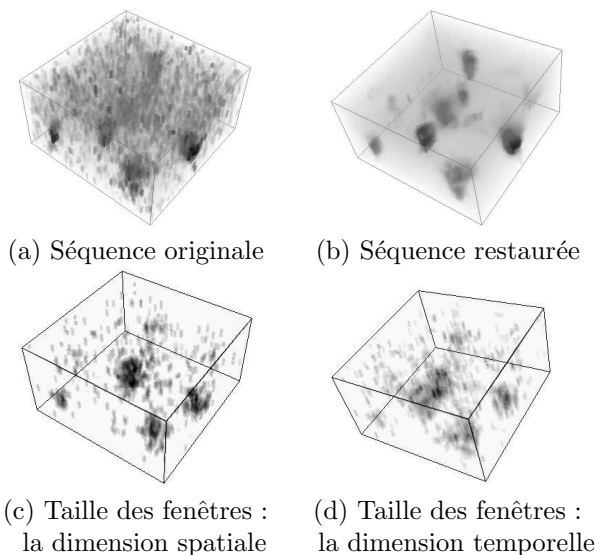


FIG. 5 – Visualisation par rendu volumique. (a) Image volumique d'une séquence 3D originale; (b) version restaurée avec la méthode décrite; (c) et (d) Tailles des fenêtres utilisées lors de l'estimation et codées en niveaux de gris.

la segmentation ou la détection d'objet d'intérêt. De plus, nous avons vu que la méthode d'estimation locale permet de conserver réellement la dynamique des objets présents dans les images. Ainsi, une estimation du mouvement ou un suivi des objets devrait s'avérer plus aisé.

6 Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier le programme d'action concerté incitative ACI-IMPBio (projet MODYNCCELL5D) pour son soutien financier.

Références

- [1] Danny Barash. A fundamental relationship between bilateral filtering, adaptive smoothing, and the nonlinear diffusion equation. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 24(6) :844–847, 2002.
- [2] M. Black, G. Sapiro, D. Marimont, and D. Heeger. Robust anisotropic diffusion and sharpening of scalar and vector images. In *Proc. of IEEE Int. Conf. on Image Processing, ICIP'1997*, volume 1, page 263, 1997.
- [3] J.C. Brailean, R.P. Kleihorst, S. Efstratiadis, A.K. Katsaggelos, and R.L. Lagendijk. Noise reduction filters for dynamic image sequences : A review. *Proc. of the IEEE*, 83(9) :1272–1291, 1995.
- [4] F. Dekeyser, P. Bouthemy, and P. Pérez. Spatio-temporal wiener filtering of image sequences using

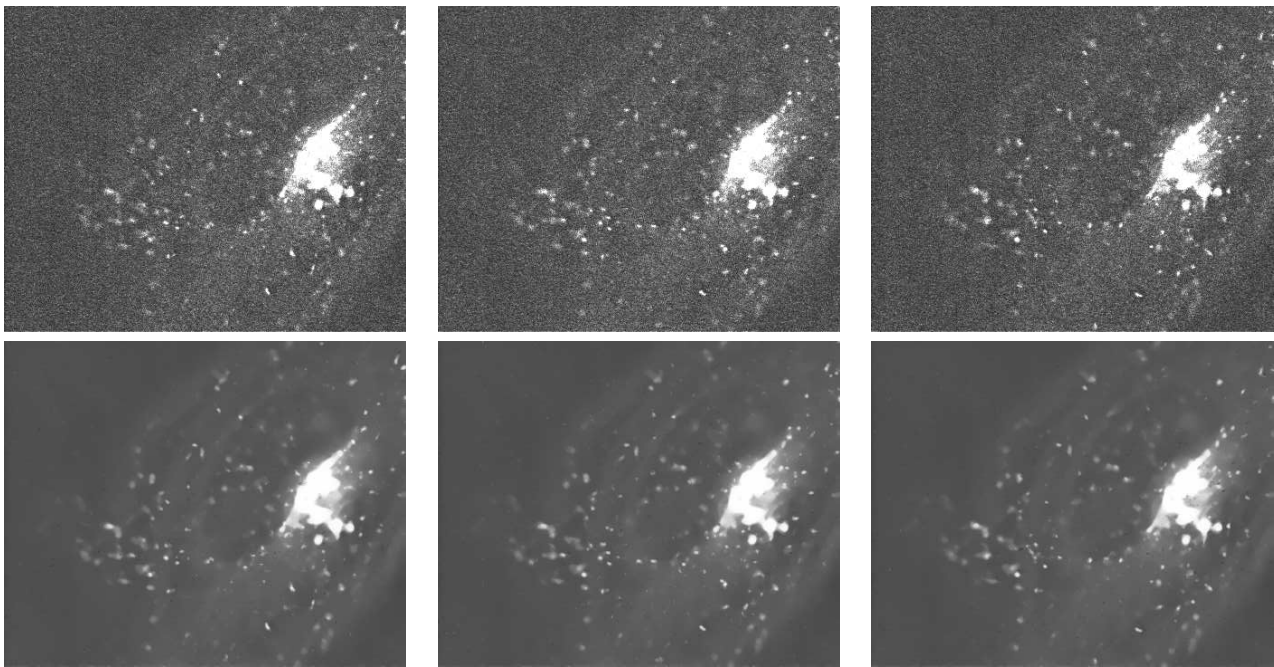


FIG. 4 – Trois images consécutives extraites d’une séquence 2D réelle. La séquence originale est située en haut tandis que la séquence filtrée correspondante est en bas. Le filtrage a été réalisé à l’aide de la méthode d’estimation spatio-temporelle adaptative. La zone très lumineuse à droite correspond à l’appareil de Golgi tandis que les petites particules correspondent aux vésicules.

- a parametric motion model. In *IEEE Int. Conf. on Image Processing, ICIP’2000*, Vancouver, Canada, Septembre 2000.
- [5] T. Gasser, L. Sroka, and C. Jennen Steinmetz. Residual variance and residual pattern in nonlinear regression. *Biometrika*, pages 625–633, 1986.
- [6] V. Katkovnik, K. Egiazarian, , and J. Astola. Adaptive window size image denoising based on intersection of confidence intervals (ici) rule. *Journal of Mathematical Imaging and Vision*, 16(3) :223–235, 2002.
- [7] C. Kervrann. An adaptive window approach for image smoothing and structures preserving. In *Proc. of 8th Eur. Conf. on Computer Vision, ECCV’2004*, pages 132–144, Prague, Czech Republic, 2004.
- [8] Suk Ho Lee and Moon Gi Kang. Spatio-temporal video filtering algorithm based on 3-D anisotropic diffusion equation. In *Proc. of IEEE Int. Conf. on Image Processing, ICIP’1998*, volume 3(2), pages 447–450, Chicago, United States, 1998.
- [9] O. Lepski. Asymptotically minimax adaptive estimation 1 : upper bounds. *SIAM Journal Theory of Probability and Application*, 36(4) :654–659, 1991.
- [10] J. Polzehl and V.G. Spokoiny. Adaptive weights smoothing with applications to image restoration. *Journal of the Royal Statistical Society : Series B (Statistical Methodology)*, 62(2) :335–354, 2000.
- [11] N Rajpoot, Z. Yao, and R. Wilson. Adaptive wavelet restoration of noisy video sequences. In *Proc. of IEEE Int. Conf. on Image Processing, ICIP’2004*, Singapor, 2004.
- [12] Leonid I. Rudin, Stanley Osher, and Emad Fatemi. Nonlinear total variation based noise removal algorithms. In *Proceedings of the eleventh annual international conference of the Center for Nonlinear Studies on Experimental mathematics : computational issues in nonlinear science*, pages 259–268. Elsevier North-Holland, Inc., 1992.
- [13] L. Stankovic. Performance analysis of the adaptive algorithm for bias-to-variance tradeoff. *IEEE Trans. on Signal Processing*, 52(5) :1228–1234, 2004.
- [14] D. Tschumperlé and R. Deriche. Vector-valued image regularization with pde’s : A common framework for different applications. *IEEE Trans. on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, 27(4) :506–517, 2005.
- [15] D. Uttenweiler, C. Weber, B. Jähne, R.H. Fink, and H. Scharr. Spatiotemporal anisotropic diffusion filtering to improve signal to noise ratios and object restoration in fluorescence microscopic image sequences. *Journal of Biomedical Optics*, 8(1) :40–47, 2003.