

Correction géométrique des images du voûte crânien de zebrafish.

Projet en Biologie 3A

PA “Bioinformatique”

Cycle Ingénieur d’École Polytechnique

Tuteurs: Anatole Chessel, Marie-Claire Schanne-Klein

Auteur: Yuliya Lim

8 mars 2022

Craniosynostoses

Collaboration



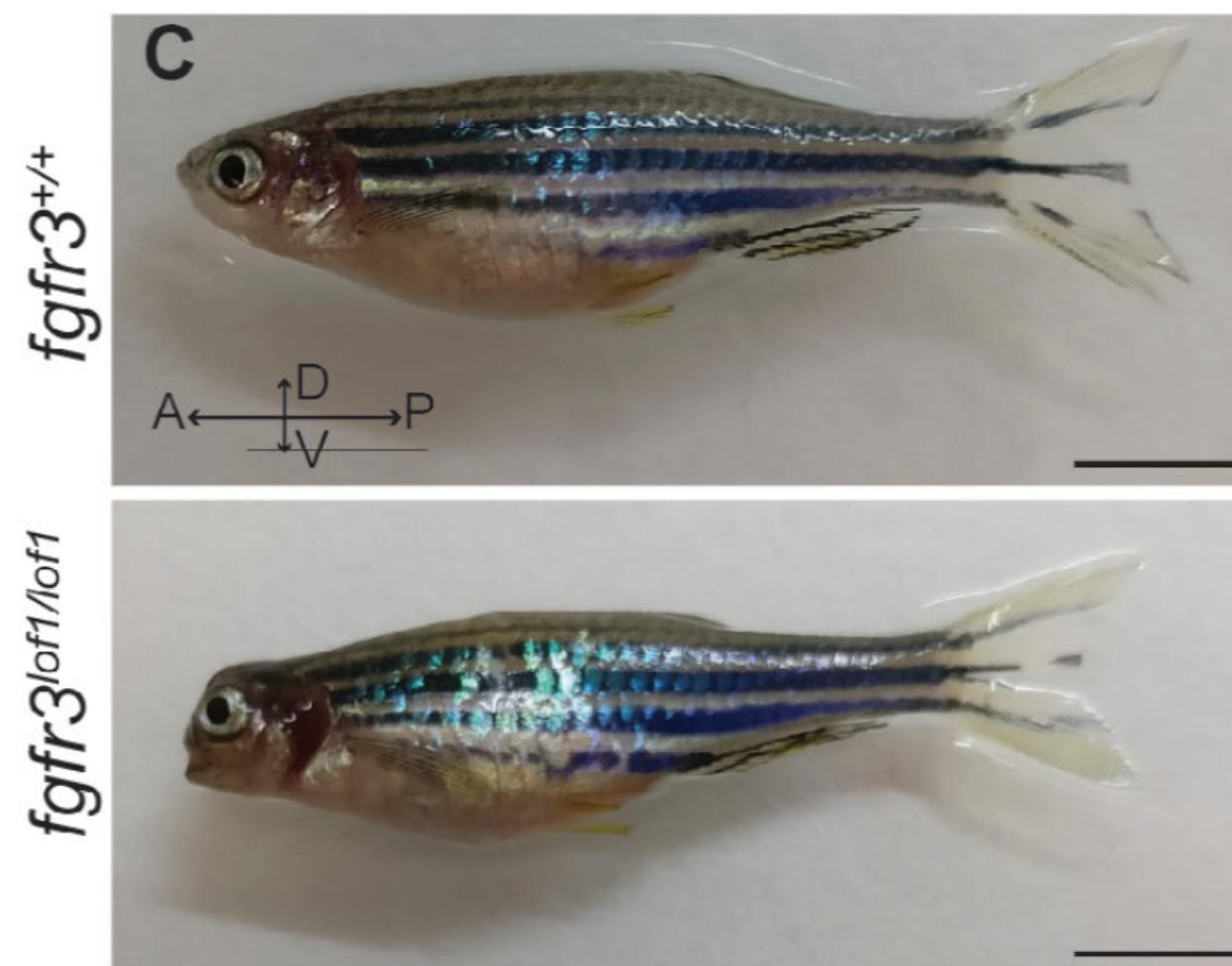
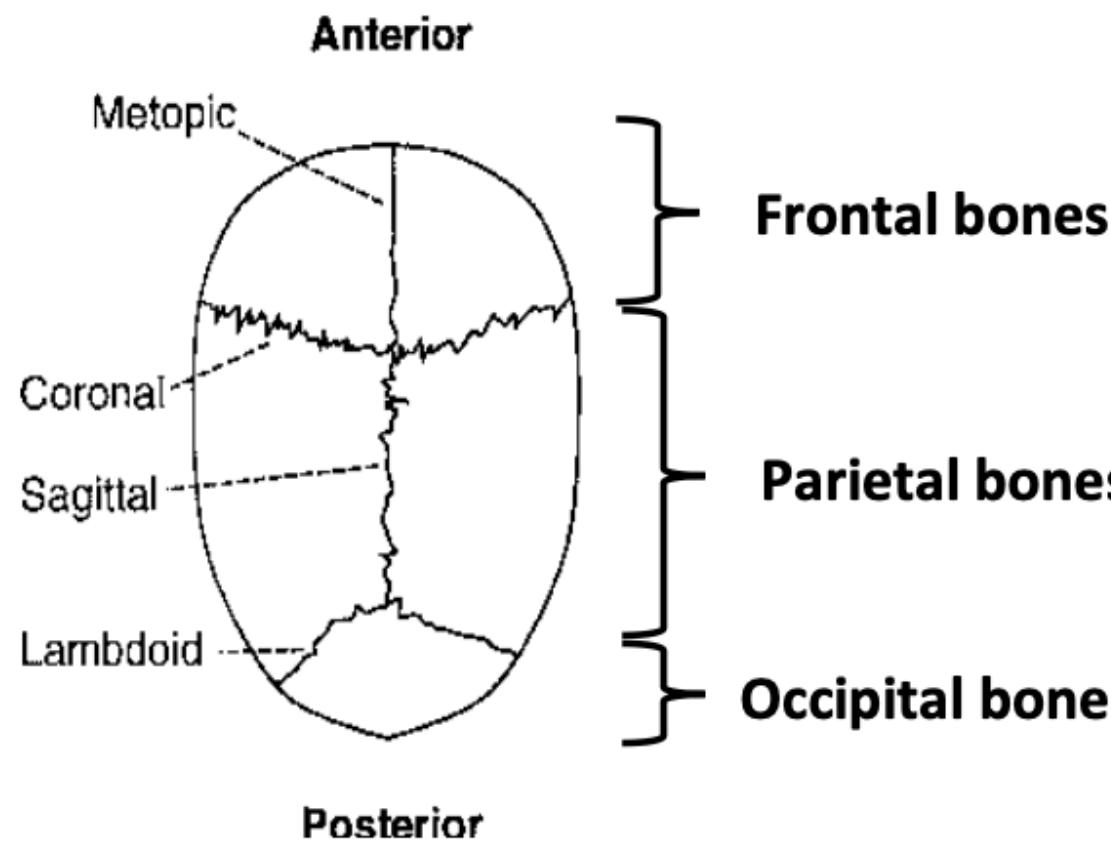
Collaboration with
Rachel Pereur (PhD student)
and Emilie Dambroise (Inserm),

Institut Imagine - Inserm U1163 - Université de Paris
(Legeai-Mallet's lab)



Contexte et motivation

Craniosynostoses

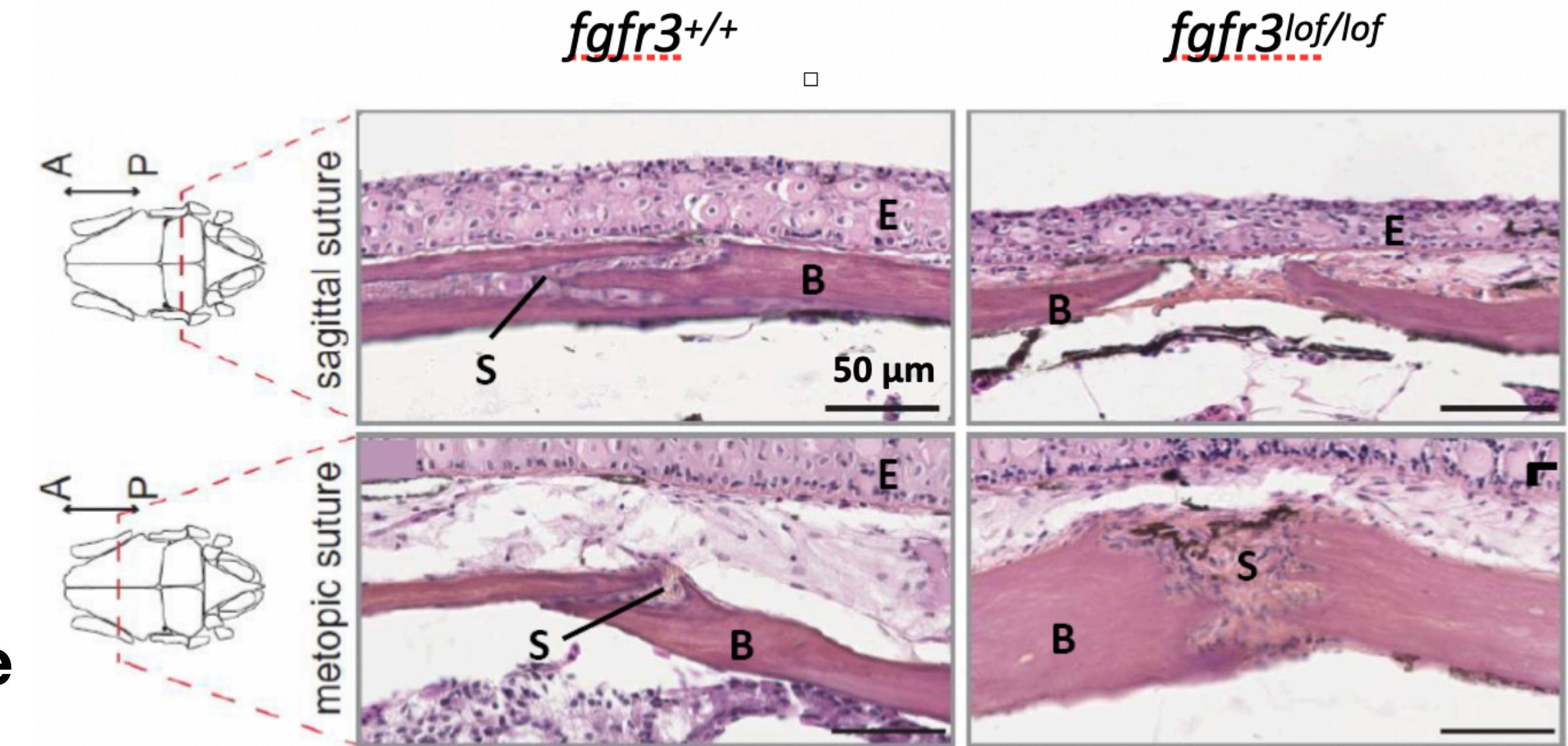


- Fusion prématuée de sutures dans le crâne d'un petit enfant.
- Malformations craniofaciales affectent le développement du cerveau.
- Le FGFR3 (fibroblast growth factor receptor 3) est le facteur principal de développement de craniosynostoses syndromiques.
- Le but de recherche: comprendre le rôle de FGFR3 lors de l'ossification membraneuse et du développement de la voûte crânienne (CV) en utilisant **le modèle LOF du poisson-zèbre** (les modèles murins ne présentent pas de phénotype de craniosynostoses).
- Génération d'un poisson zèbre *fgfr3^{lof/lof}* par E. Dambroise

Contexte et motivation

Imagerie de la matrice extracellulaire

- Ce mutant présente un phénotype craniofacial majeur avec microcéphalie, associé à un manque de sutures, un retard dans l'expansion et la différenciation des ostéoblastes immatures, la présence d'os ectopiques et **des modifications de la matrice extracellulaire (ECM)**.
- La matrice extracellulaire est composé principalement (**à 90-95% de fibres de Collagène 1 (COL1)**) et d'autres types de collagène comme le collagène VI (COL6) ou le **COL12**.
- Étude de la structure de matrice extracellulaire du voûte crânien du poisson-zèbre *fgfr3^{lof/lof}* avec de la **microscopie de second harmonique (SHG)** pour étudier la structure des fibres Col1



Absence de suture sagittale et métopique chez les poissons

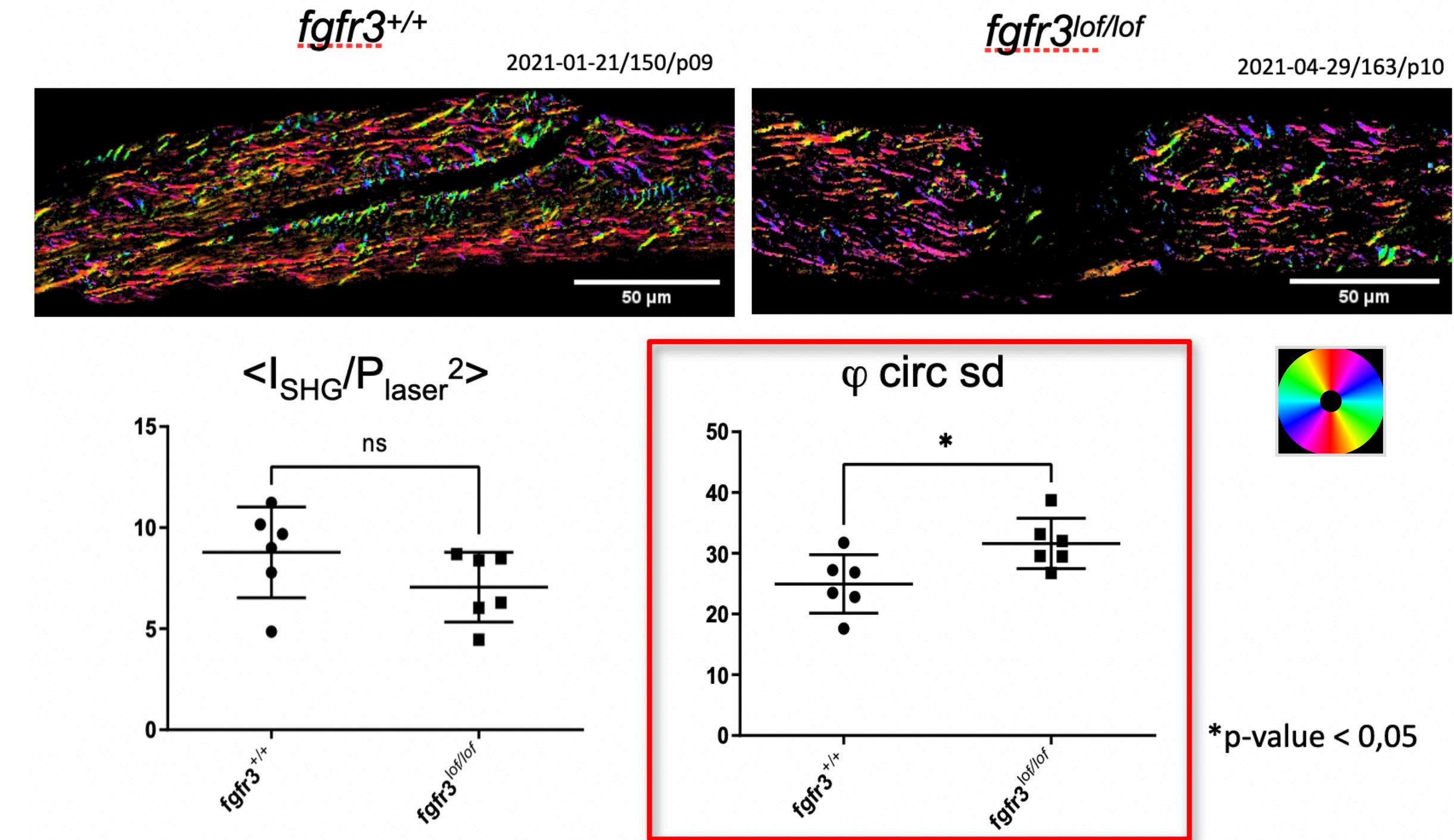
fgfr3^{lof/lof} fish.

B= bone; S= suture; E = Epithelium.

Contexte et motivation

Microscopie de second harmonique

- L'imagerie SHG permet de mesurer l'intensité du signal qui révèle la qualité de la structure des fibres COL1.
- Le P-SHG permet d'estimer l'orientation des fibres de collagène. Chaque orientation est représentée par une couleur, plus on a de couleurs, plus on a des orientations différentes.
- **Paramètre à mesurer – l'écart type circulaire d'orientations.** Mesure du désordre dans l'organisation de fibres de collagène.

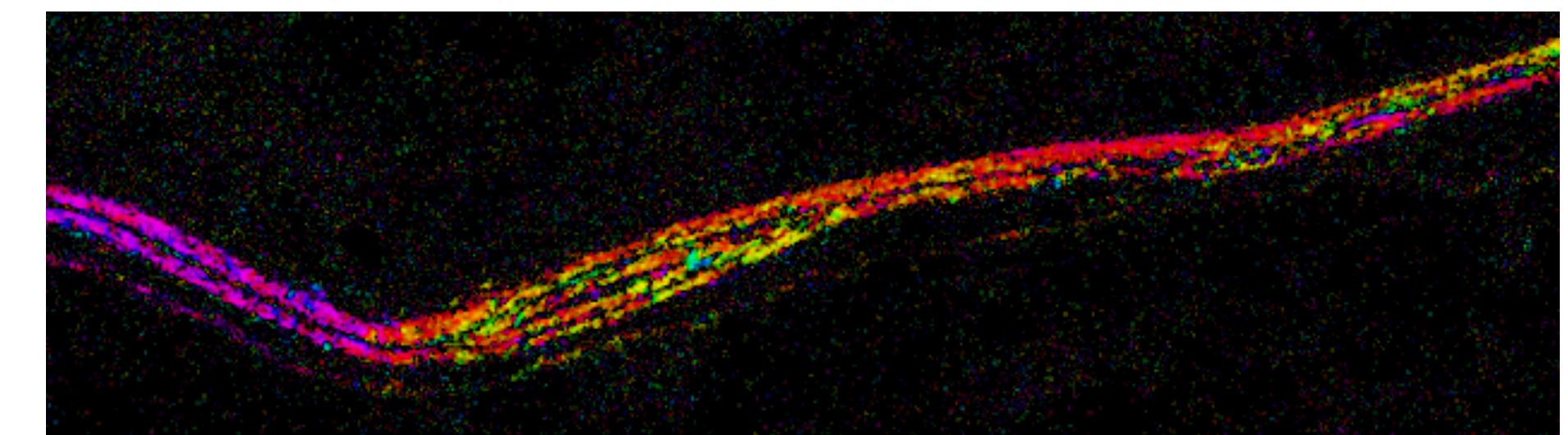


Absence de Fgfr3 => désorganisation des fibres Col 1

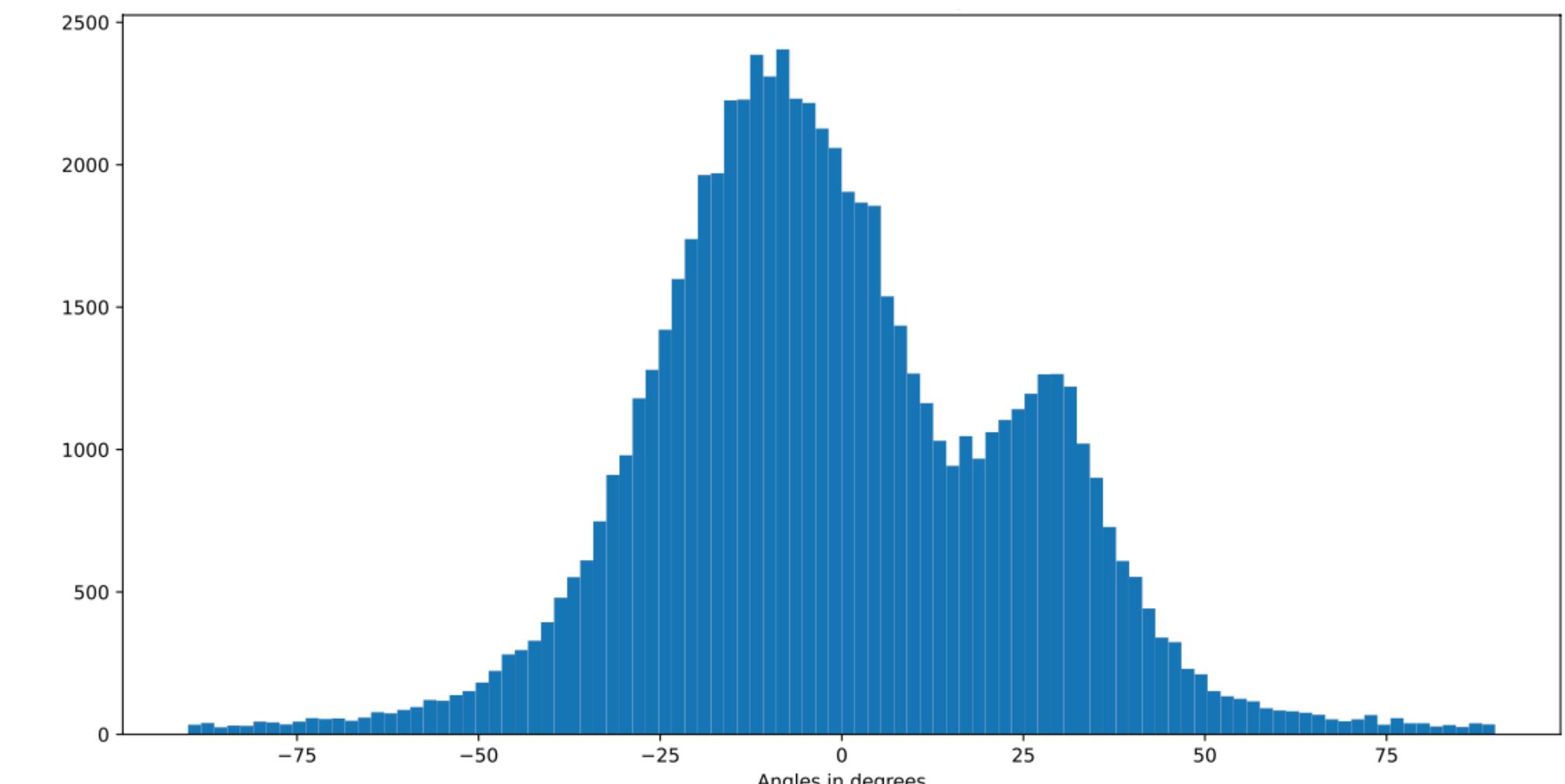
L'objectif du projet

- Les orientations en P-SHG sont calculées par rapport au bord de l'image.
- Mais ce qui nous intéresse, c'est la distribution des orientations de fibres de COL1 par rapport au bord de l'os.
- Des os, en général, ne sont pas alignés avec le bord d'image.
- L'idée: élaborer un pipeline pour recalculer des orientations sur des images P-SHG pour que la couleur de chaque pixel reflète l'orientation de fibre de COL1 en ce point par rapport au bord de l'os.

L'image SHG d'os frontal en orientations (par rapport au bord de l'image)



L'histogramme d'orientations. Angles en deg.



Méthodes et données

Libraries en python:

- Scikit-image
- Networkx
- Skan
- Genepy3d
- Matplotlib, numpy, pandas

Des algorithmes utilisées:

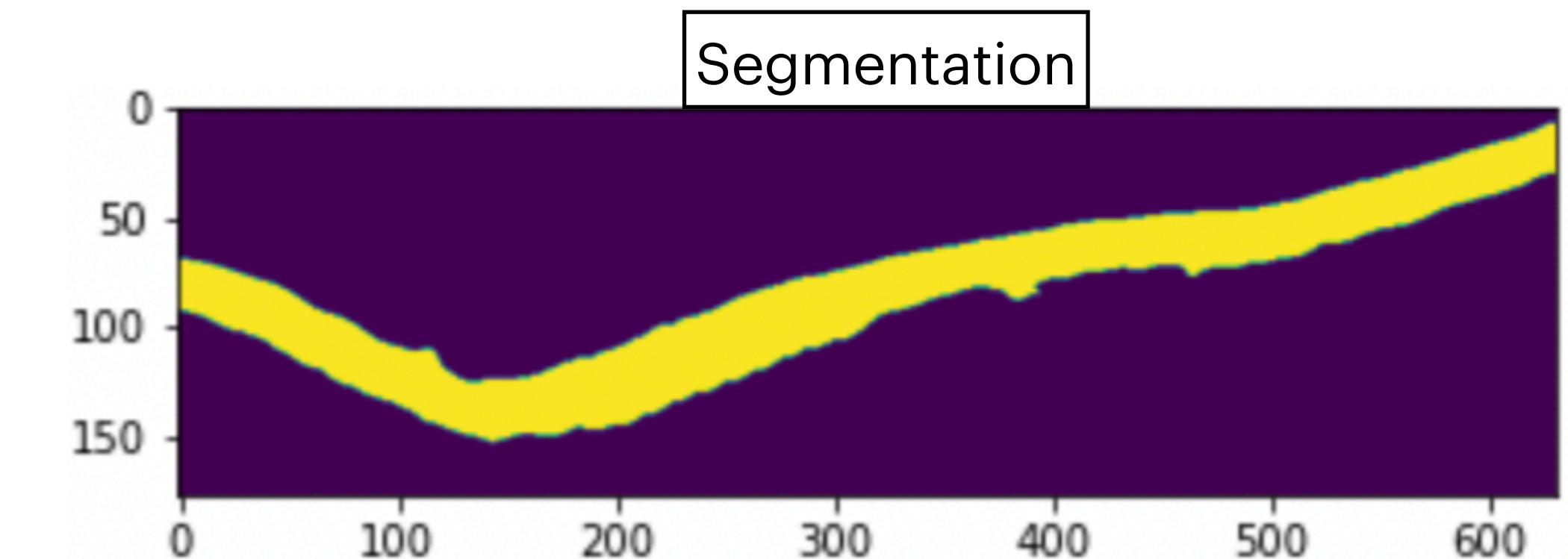
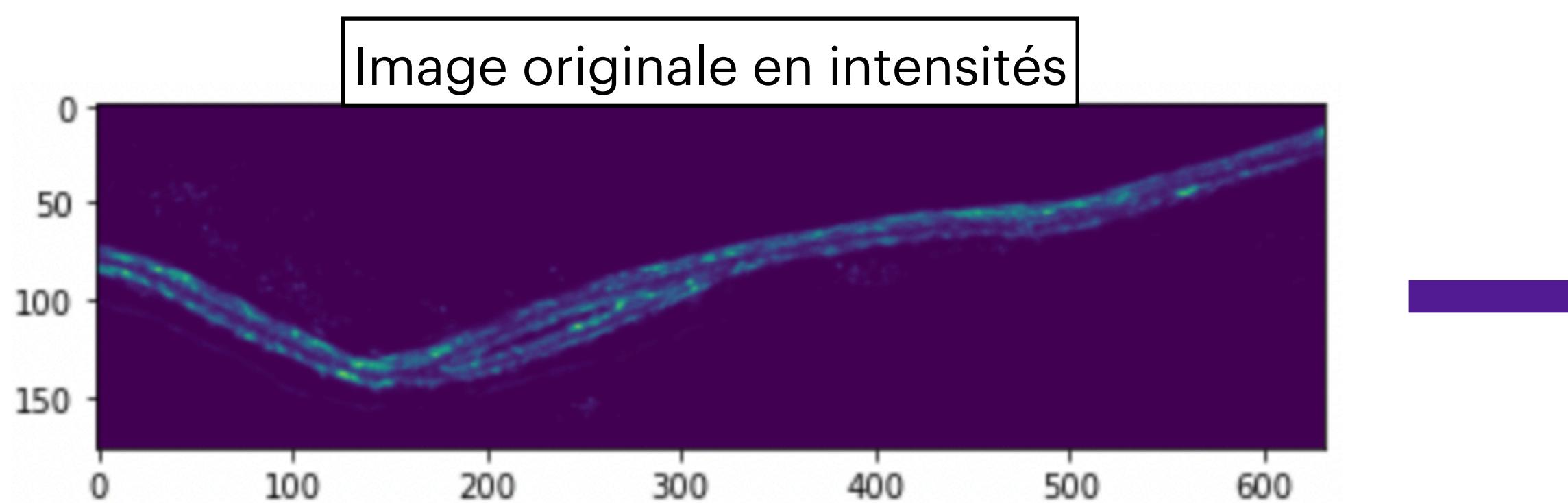
- Segmentation
- Skeletonize
- Transformées de distance...

Données:

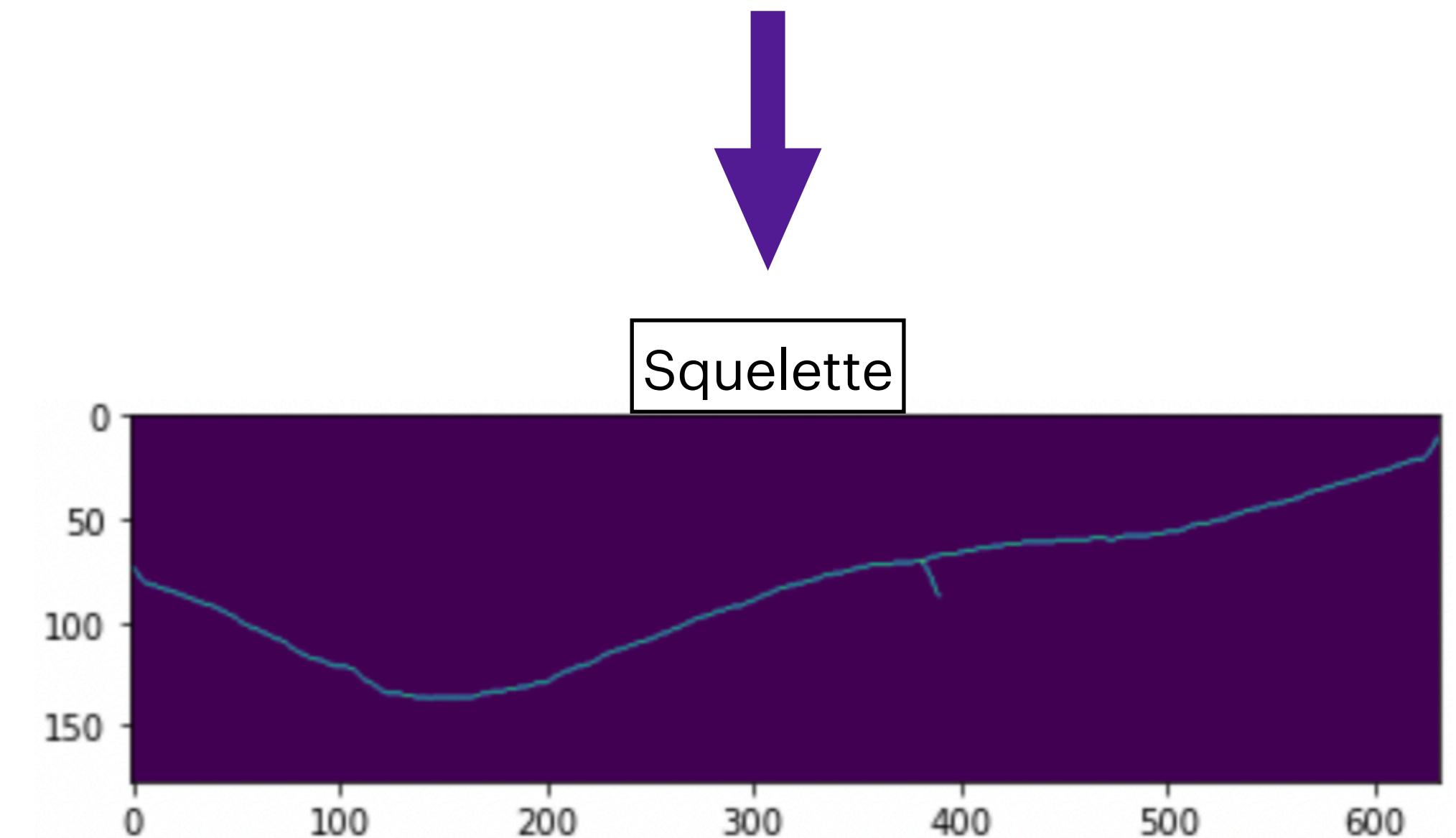
- 25 échantillons du modèle poisson-zèbre avec et sans mutation dans Fgfr3.
- Pour chaque échantillon — une pile (par z) d'images P-SHG de coupe d'os frontal.
- Deux types de représentation de l'image P-SHG: en intensités et en orientations.

Des étapes du pipeline

1. Segmentation de la zone d'intérêt → une forme.

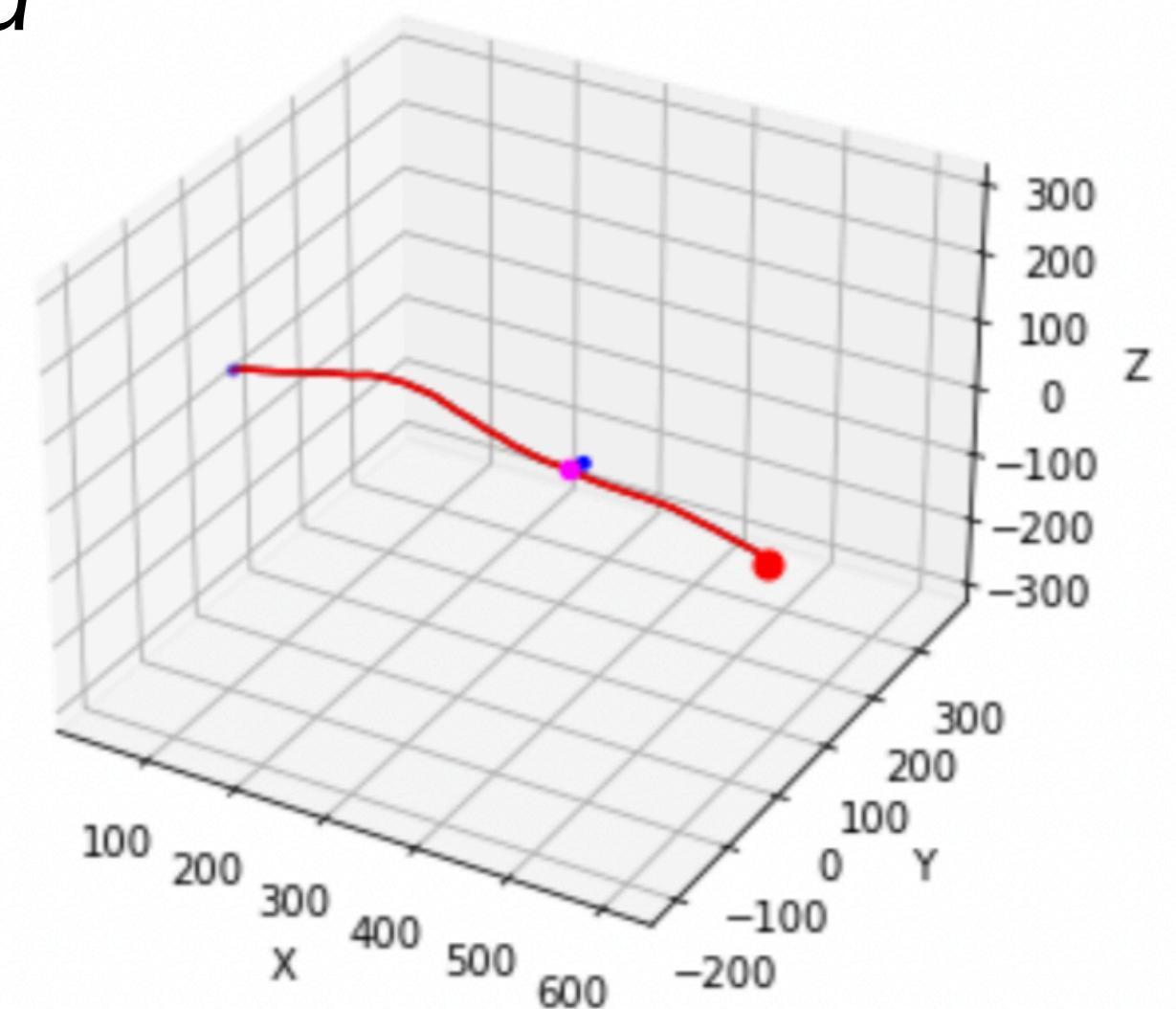


2. Extraction de “squelette” de la forme.



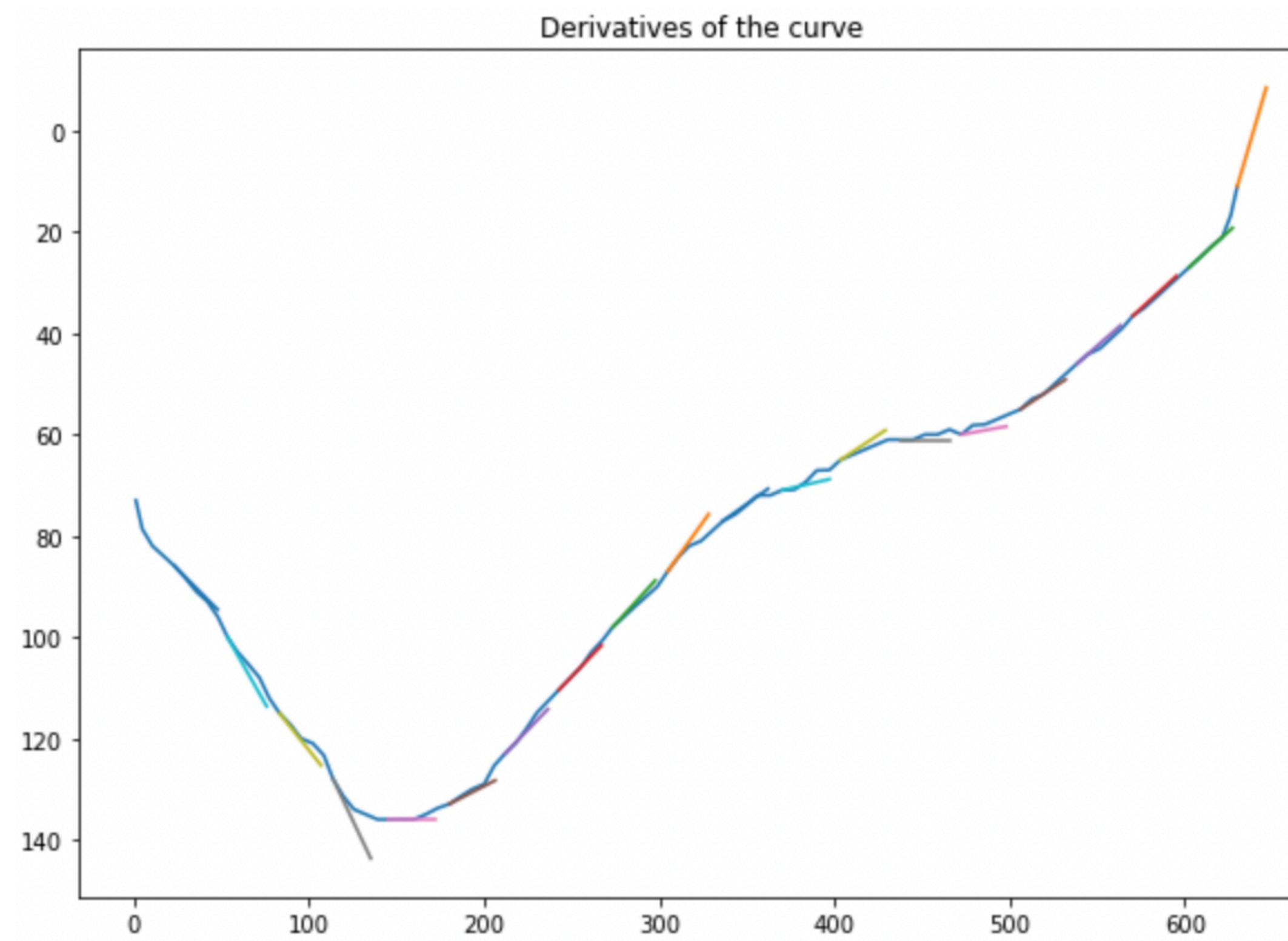
Des étapes du pipeline

3. Transformation de la “squelette” à une courbe → objet mathématique.
 - (1) “squelette” → graph sur pixels (connectivité de pixels) – *NetworkX*
 - (2) graph → arbre (extraire un component convexe)
 - (3) arbre → courbe (extraire la branche principale) – *Genepy3d*



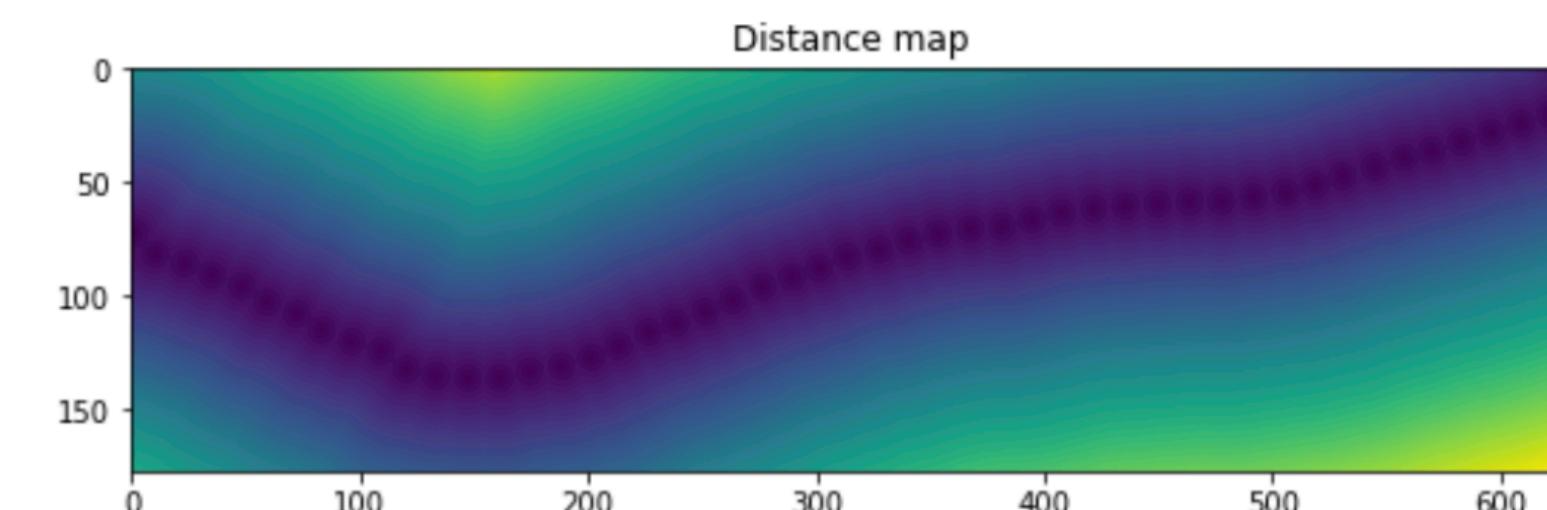
Des étapes du pipeline

4. Calcul de tangent pour chaque point de la courbe.

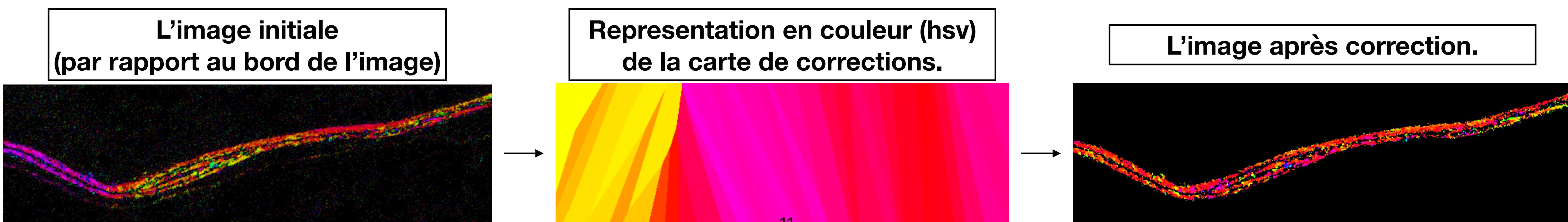


Des étapes du pipeline

5. Correction de l'image initiale par la valeur de tangent du point de la courbe le plus proche.
 - (1) Distance transform, pour chaque pointe de l'image calculer les coordonnées de la pointe la plus proche de la courbe.



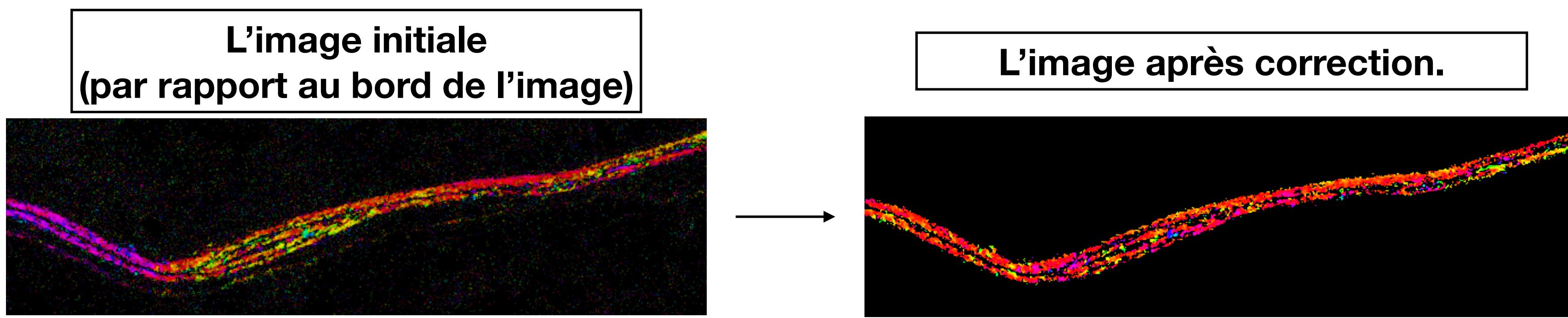
- (2) Pour chaque pixel de l'image originale en orientations:
 1. Calculer la tangente dans la pointe de la courbe calculé en (1).
 2. Soustraire la valeur de tangente (angle) de l'orientation originale → orientation par rapport à la courbe .



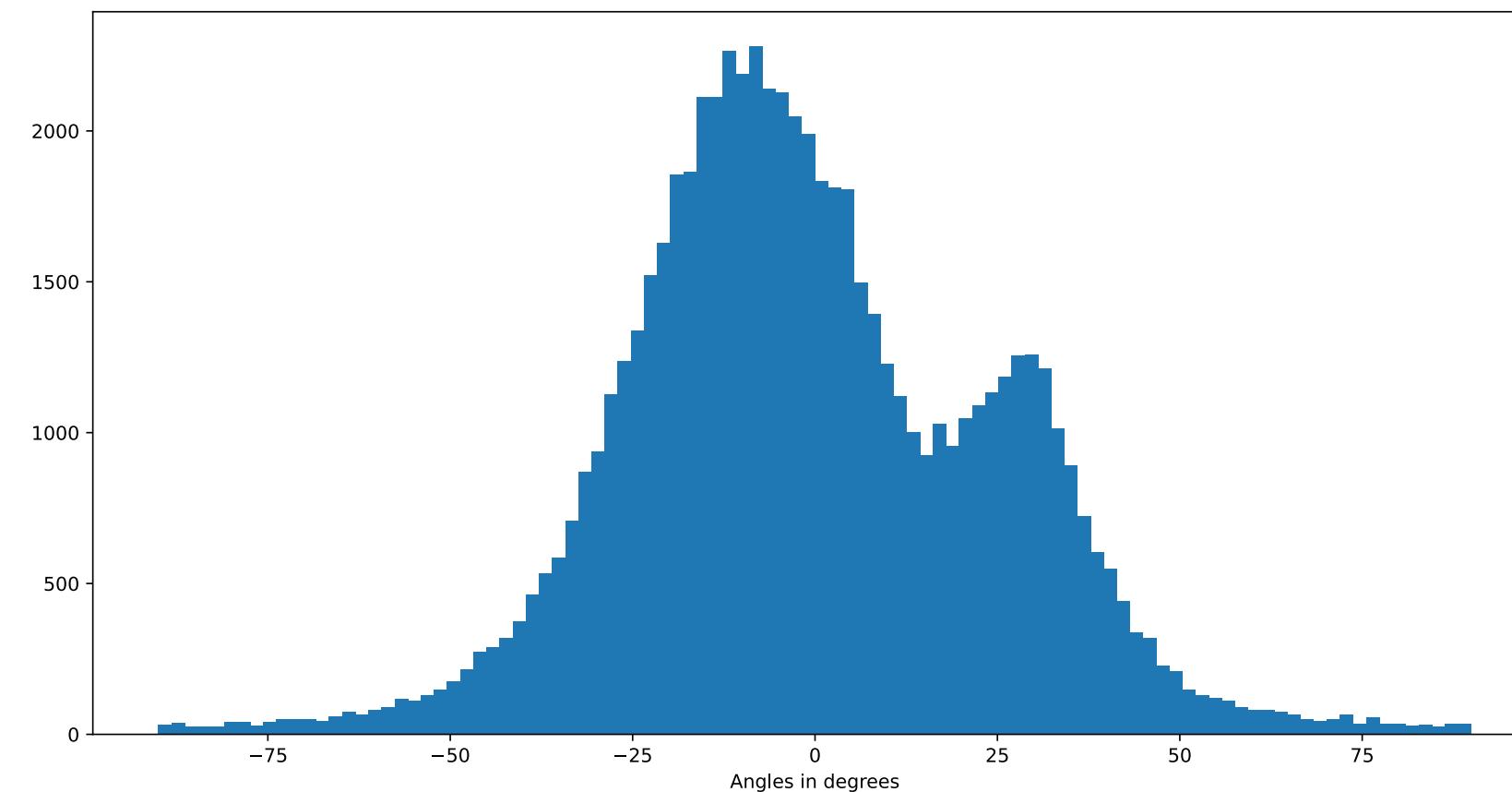
Des étapes du pipeline

6. Extraction de résultats. Paramètres à extraire:
 - 6.1. Des images en hsv après la correction,
 - 6.2. Distribution des orientations avant et après la correction,
 - 6.3. Entropy, variance circulaire, écart-type circulaire avant et après correction.

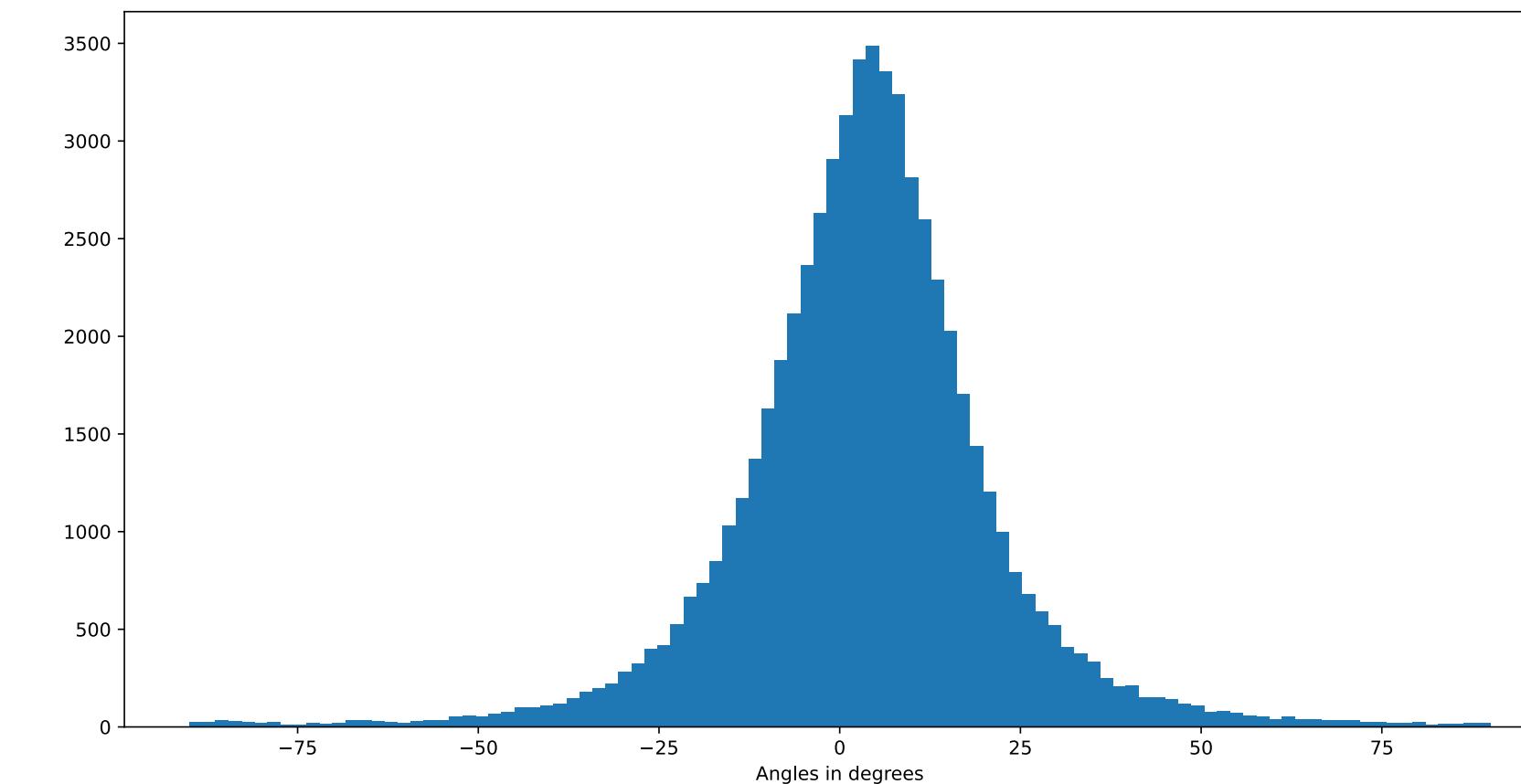
Résultats



L'histogramme d'orientations avant la correction.



L'histogramme d'orientations après la correction.

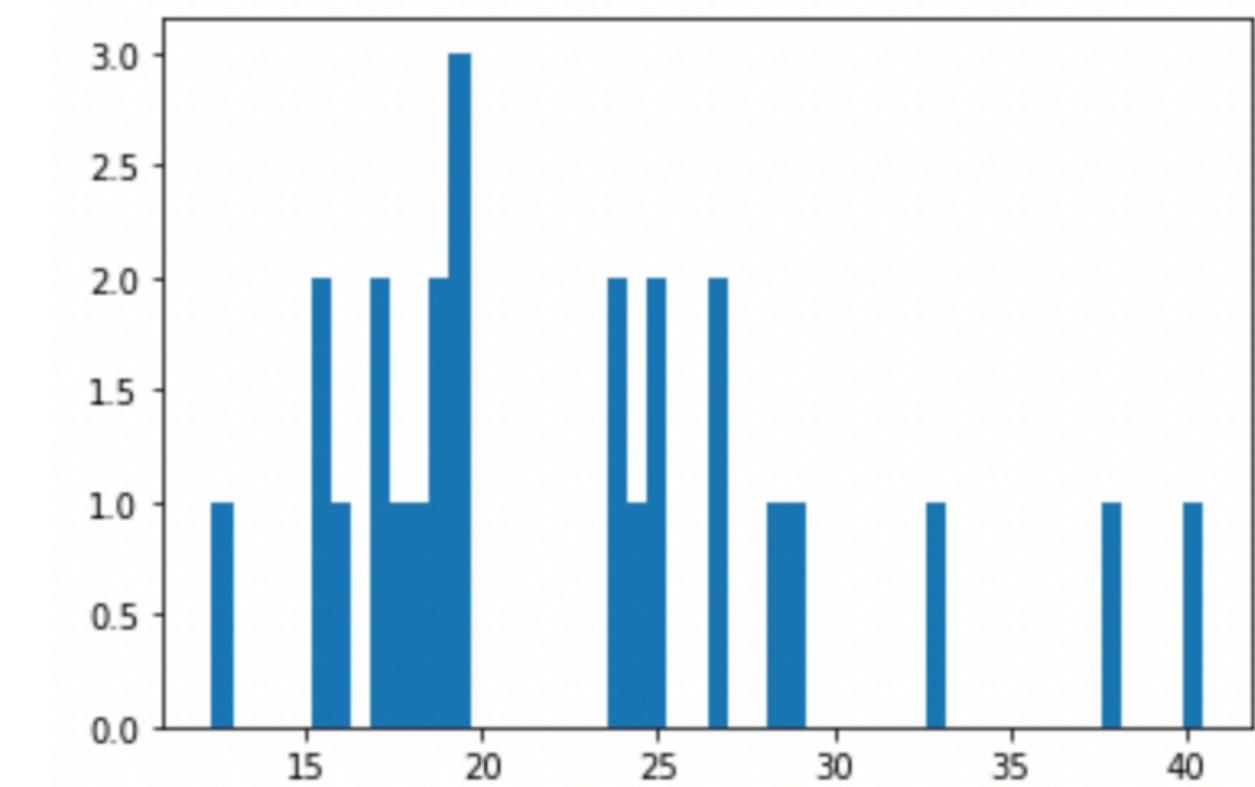


Résultats

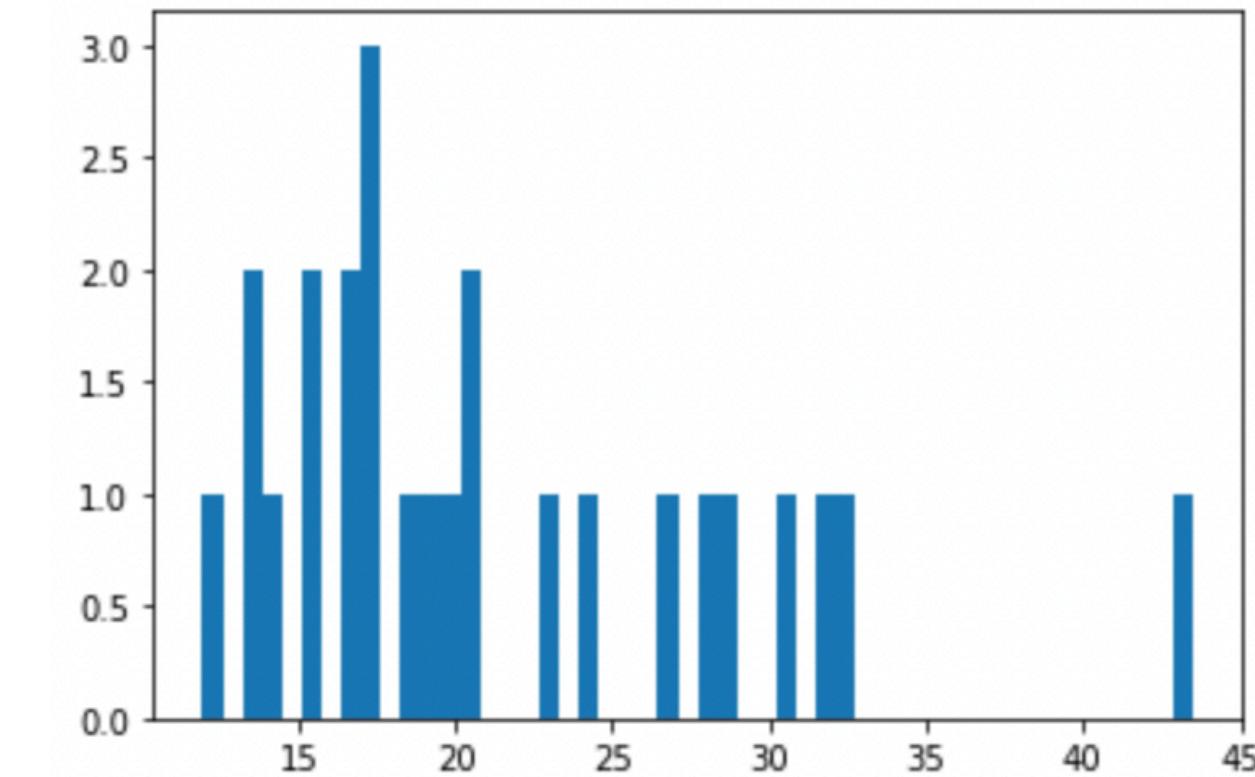
	date	sample	nom_ech	initial std in deg	new std in deg	initial entropy	new entropy
0	30 avril	p04	383	19.29823064807473	19.12942635632709	0.8417706035597494	0.8412821254288888
1	30 avril	p08	384	17.267456911823782	15.58578774047293	0.8236749397264052	0.7985023104926645
2	30 avril	p12	379	19.362897201046184	18.526696973619938	0.8402281023456271	0.8345796263849607
3	30 avril	p16	370	17.257006545027927	17.212957700833762	0.8193992083241315	0.8157597424032712
4	30 avril	p20	391	24.8479029123939	17.293309646241035	0.890018842412773	0.8203405259506461
5	30 avril	p24	392	24.332106568937768	19.551988175733218	0.883825734126417	0.8441077032526717
6	30 avril	p28	366	18.876664133454028	16.760445433647792	0.8282329062906407	0.8036788601357703
7	30 avril	p32	372	32.934604633348876	31.759512064430638	0.9439933971950032	0.9372803107130374
8	30 avril	p36	393	17.62352622371582	16.642532699016662	0.8249180788648952	0.8064684080694613
9	30 avril	p40	394	29.1353451553812	32.3171812802896	0.9216058770952279	0.9393258989848435
10	29 avril	p04	159	19.36264943392154	11.953401072428726	0.8356077453972613	0.7470683444835696
11	29 avril	p08	155	23.700962201890775	22.846448733166458	0.8864492775052458	0.879619529506894
12	29 avril	p12	163	26.939672935703072	26.66695590641981	0.9085556763003562	0.905783023916176
13	29 avril	p16	164	23.655268030658092	24.22496868255768	0.8852688472582722	0.8897262279955966
14	29 avril	p20	157	37.805574370954034	28.31639407726794	0.9523509732392509	0.91584865728621
15	29 avril	p24	339	15.658694309913594	15.634263939401333	0.7998343938808689	0.798281019378733
16	29 avril	p28	360	26.868735028888494	28.58631767404269	0.9043333522706981	0.9162577397552669
17	21 janvier	p07	146	40.45739143441231	43.46596244892674	0.9713761196636771	0.9802410990054342
18	21 janvier	p13	150	16.027726684451657	13.97127279889119	0.809728519314279	0.7832470720557865
19	18 fevrier	p04	149	18.35120129764541	20.18681213260472	0.8339056713875954	0.8493630259760783
20	18 fevrier	p08	306	12.351282553961349	17.234188944787277	0.744562834612147	0.8023952085548255
21	18 fevrier	p12	148	24.78017030439417	20.582105919723823	0.8914285404349181	0.8456627110289686
22	18 fevrier	p16	5	15.486534942145921	13.701180372975255	0.8036197732164286	0.7802940812170247
23	18 fevrier	p20	303	28.413246416326952	30.58059811771804	0.91818858987424	0.9315531557379199
24	18 fevrier	p24	3	18.840726897662655	13.397545601502989	0.8368059753351275	0.7646060602592247

à analyser!

L'écart type initial



L'écart après correction

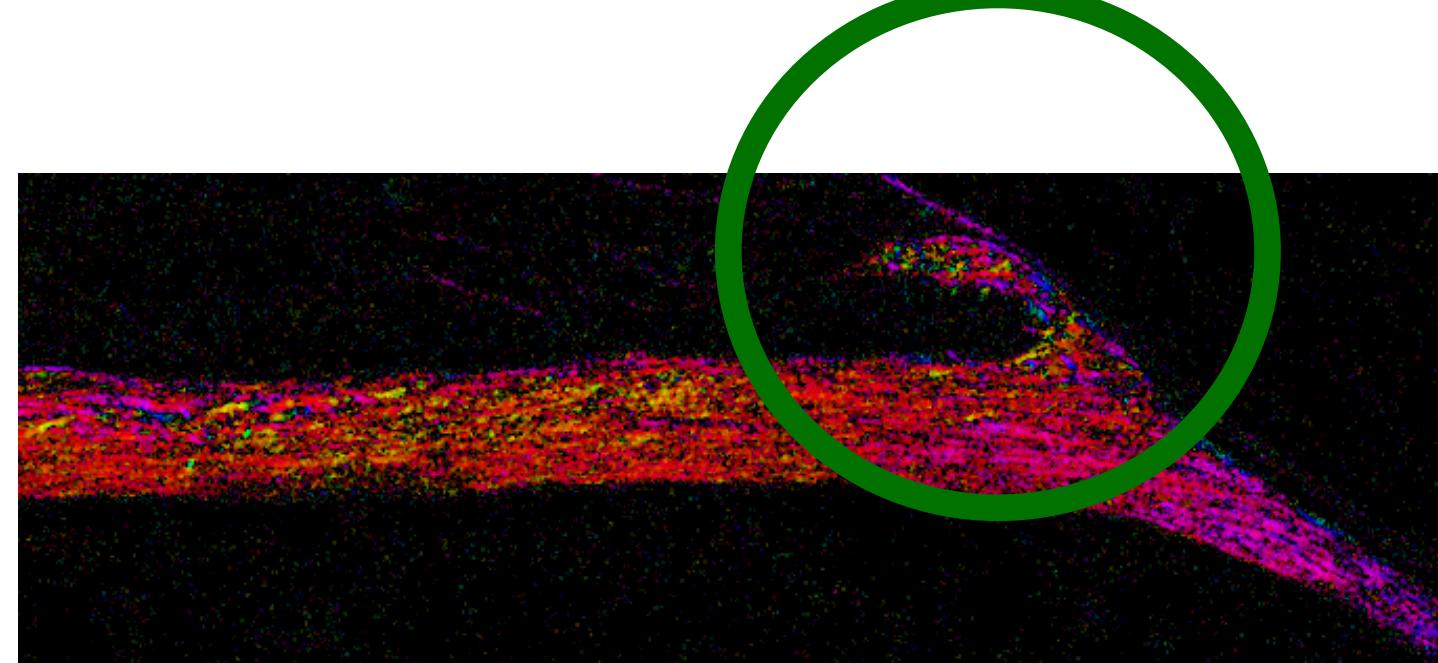


Difficultés rencontrées

- Problème d'extraction de squelette sur les extrémités de l'image



- “Cernes”



Des points à améliorer

- Choix de paramètres pour segmentation: *manuel* → *automatique* pour chaque *image*.
- Adaptation de la courbe extraite: *pour des images plus larges, la courbe n'est pas suffisamment lisse.*
- Traitement des extrémités de l'image plus intelligent.
- Analyse de résultats obtenues de coté biologique du problème.