

Devoir de l'UE M1 S7 U03
Signaux et images

Challenge : suivi de la croissance de sphéroïdes par traitement d'image

Livrables : il est demandé de fournir au plus tard à la date précisée sur Arche à 20h, deux fichiers séparés comportant votre nom dans leurs intitulés :

1. *un court rapport* (1500 à 2500 mots) au format pdf portant sur la méthodologie mise en place pour résoudre ce problème.

La résolution du challenge proposé nécessite de dépasser les traitements d'image de base abordés lors du cours. Il correspond toutefois à un objectif susceptible d'être assigné à un titulaire de master dans le cadre de son travail.

L'évaluation ne reposera donc pas sur l'atteinte de cet objectif mais plutôt sur la méthodologie d'ingénierie mise en place pour tenter de le résoudre. Il est bien sûr recommandé d'explorer d'autres fonctionnalités d'ImageJ, sans se limiter à celles déjà vues, et il est également possible de s'appuyer sur les nombreux algorithmes et extensions développées autour d'ImageJ et disponibles sur le web. Si vous faites des recherches complémentaires sur le web ou si vous échangez au sein de la promotion pour avancer dans la résolution du problème, il conviendra de soigneusement citer les sources, aussi bien pour les codes, les morceaux de texte ou les éventuelles idées empruntées, et d'éviter le pur plagiat.

Le rapport devra mettre en exergue :

- une introduction situant le contexte, indiquant votre contribution et se terminant par le plan du rapport ;
- les démarches et recherches entreprises pour tenter de résoudre le problème, y compris celles que vous pensiez prometteuses (expliquer pourquoi) et qui au final ne sont pas avérées pertinentes ;
- une présentation et une explication du script fourni avec le rapport ;
- la manière d'évaluer les performances des différents algorithmes qui pourraient être proposés pour résoudre le problème ;
- une discussion relative aux résultats obtenus ;
- les références bibliographiques ainsi que celles des sites web consultés.

L'évaluation du travail portera sur les différents items ci-dessus, avec des pondérations similaires, et prendra également en compte la qualité rédactionnelle du rapport.

2. *une macro ImageJ.*

Croissance de sphéroïdes : contexte biologique

En biologie, la culture cellulaire permet de faire croître des cellules hors de leur organisme (ex-vivo) ou de leur milieu d'origine. En cancérologie, cette culture cellulaire permet ainsi de suivre expérimentalement la croissance d'un ensemble de cellules tumorales qui se multiplient par division

cellulaire (mitose¹) ou de quantifier, au contraire, la régression de cet ensemble en réponse à une thérapie. Pour cela on peut utiliser des « lignées » de cellules cancéreuses ayant une capacité de division non limitée, ce qui est le cas dans le cadre de cette étude.

Il existe de nombreuses techniques de culture cellulaire et ces dernières années se sont développées des techniques dites 3D. Celles-ci permettent la formation de *sphéroïdes* (appellation biologique) que l'on va considérer, au plan de l'analyse mathématique et de l'analyse d'images, comme des ellipsoïdes (voir figure ??). Le sphéroïde biologique est bien sûr moins régulier que sa modélisation mathématique.

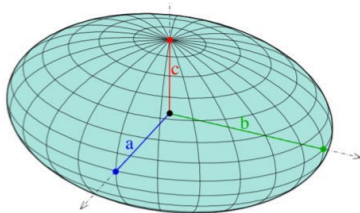


FIG. 1: *Ellipsoïde dont les demi-axes sont de longueurs respectives a,b,c* (d'après Ag2gaeh - Own work, CC BY-SA 4.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=45585493>)

En biologie expérimentale, la culture 3D présente différents intérêts. Elle a la capacité à mimer le microenvironnement et les gradients physiologiques et métaboliques répartis radialement (impossible en culture 2D) lors de la croissance d'une tumeur au stade avasculaire. Elle offre une bonne reproductibilité et une faible variabilité inter-sphéroïdes. Elle permet de contrôler l'environnement externe et est ainsi adaptée au test de thérapies. De plus, les expériences fournissent des données adaptées aux études mécanistiques et à la modélisation mathématique.

Le volume de l'ellipsoïde (figure ??) est donné par

$$V_e = \frac{4}{3}\pi abc. \quad (1)$$

Le volume d'un sphéroïde biologique s'obtient à partir d'une image numérique 2D et est estimé à partir de la mesure de deux de ses axes D, d (autrement dit $D \approx 2b$ et $d \approx 2a$). Le troisième axe n'étant pas visible à l'imagerie il peut être estimé par différentes approximations (\sqrt{Dd} , $\frac{D+d}{2}$, D , d). En retenant la première de ces approximations, le volume estimé est donc donné par

$$V = \frac{4}{3}\pi \frac{dD}{2} \frac{\sqrt{Dd}}{2} = \frac{\pi}{6}(Dd)^{3/2} \quad (2)$$

La mesure manuelle des « diamètres » des axes (D, d) sur les images peut s'avérer fastidieuse et il est souhaitable de pouvoir l'automatiser.

Le challenge : automatiser l'estimation du volume de sphéroïdes biologiques par traitement d'image

L'image à analyser (??)², dénommée « Spheroid_U87divers_J10_2.jpg », représente une vue d'une boîte de culture à 6 puits.

1. La mitose désigne la phase de formation de deux cellules filles strictement identiques génétiquement à la cellule mère par réplication de l'ADN.

2. Remerciements à J. Jubreaux et à A. Chateau (CRAN) pour la réalisation du protocole expérimental, la transmission des images et les explications assorties.

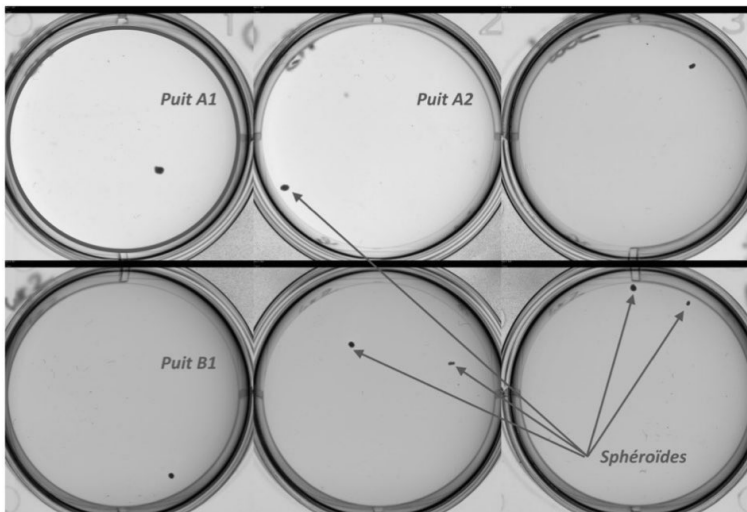


FIG. 2: Image d'une boîte de culture 6 puits; ces derniers sont repérés en ligne par les lettres A et B et en colonne par les numéros de 1 à 3. Un ou plusieurs sphéroïdes apparaissent, vus de dessus, sur le cliché: on distingue, par exemple, deux sphéroïdes dans les puits B2 et B3.

L'objectif de l'algorithme à développer est d'estimer automatiquement le volume des différents sphéroïdes détectés et d'avoir en sortie un tableau excel indiquant en première colonne le numéro du puit (par exemple B2), en seconde colonne la valeur du diamètre équivalent (\sqrt{Dd}) exprimé en μm , en troisième colonne le volume estimé V exprimé en nanolitre. Lorsqu'il y a plusieurs sphéroïdes dans un puit, comme ici en B2, on ajoute une ligne B2-2 et ainsi de suite.

L'image traitée possède une résolution de 2400 pixels par pouce (2,54 cm). Il est possible d'estimer le diamètre équivalent en reproduisant le schéma manuel (estimation de D puis de d) ou en estimant la surface S (solution à privilégier). Le diamètre équivalent est alors celui du disque possédant la même surface S .

Il vous est demandé d'éprouver la solution proposée sur les autres images fournies.