

STAGE MASTER 2

<u>Projet</u>	Détection, caractérisation et clustering de cellules gliales dans le cadre d'une étude des lipides nutritionnels
<u>Mots-clés</u>	Traitement et analyse d'images, structures linéiques, morphologie, topologie, classification, apprentissage non supervisé, cellules gliales (astrocytes, microglies)

Contexte académique

- Encadrement
 - Eric Debreuve
 - Chercheur CNRS en traitement et analyse d'image et apprentissage statistique
 - eric.debreuve@i3s.unice.fr
- Au sein de l'équipe Morpheme
 - Inria Sophia Antipolis-Méditerranée + CNRS délégation Côte d'Azur + Université Côte d'Azur
 - <http://team.inria.fr/morpheme>
- Collaboration
 - Carole Rovère
 - Chercheuse CNRS en biologie, Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire (IPMC)

Conditions

- Lieu Equipe Morpheme, laboratoire I3S, Sophia Antipolis¹
- Durée 6 mois
- Rémunération Gratification de stage (environ 550 euros/mois)

Contexte médical et biologique

L'obésité est un problème majeur de santé publique affectant près de 15% de la population mondiale. Les études menées sur les modèles animaux et l'homme montrent que les organes périphériques, affectés par l'excès de graisses du régime alimentaire occidental, communiquent avec les centres nerveux de l'hypothalamus impliqués dans le contrôle du comportement alimentaire pour en modifier le fonctionnement. L'obésité et les syndromes métaboliques correspondent à un état d'inflammation chronique qui entraînerait des dérégulations du comportement alimentaire. Dans cette étude, nous cherchons à comprendre les mécanismes de cette réponse inflammatoire. Ils pourraient impliquer en première intention les cellules gliales (astrocytes et/ou microglie) qui forment la barrière hémato-encéphalique. L'objectif est de découvrir si l'inhibition de cette activation précoce pourrait prévenir l'obésité, offrant ainsi une perspective de prise en charge thérapeutique novatrice pour le traitement de l'obésité.

1 Proche Nice, Antibes, Cannes

Description du projet

Cette étude est menée sur des souris soumises à des régimes plus ou moins riches en graisses. L'acquisition en microscopie par fluorescence de la région du cerveau concernée produit des images telles que celle de la Figure 1.

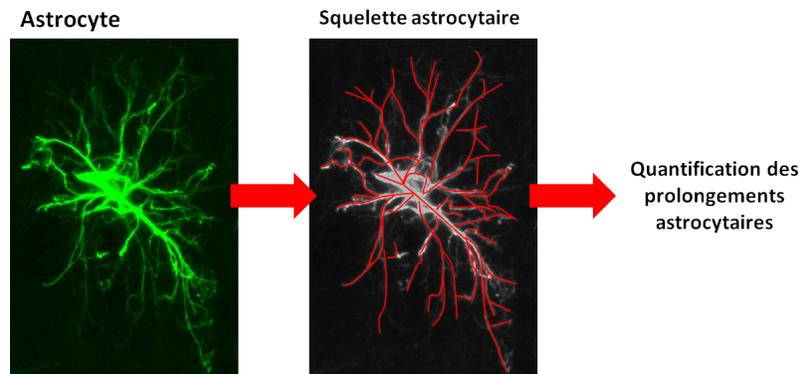


Figure 1 : A gauche, gros plan sur un astrocyte d'une acquisition en microscopie par fluorescence. Au milieu, marquage manuel du squelette astrocytaire. Une caractéristique élémentaire de ce squelette est sa longueur totale (quantification des prolongements).

Au cours d'un premier stage court, une procédure « preuve de concept » de traitement et analyse automatiques d'images a été mise au point pour extraire les somas (ou noyaux) des astrocytes et les prolongements des astrocytes et des microglies (voir Figure 2). Des caractéristiques morphologiques et topologiques ont été calculées sur ces objets : expression de l'intensité de fluorescence totale, surface et circularité du soma, nombre et longueur des prolongements, nombre de ramifications.

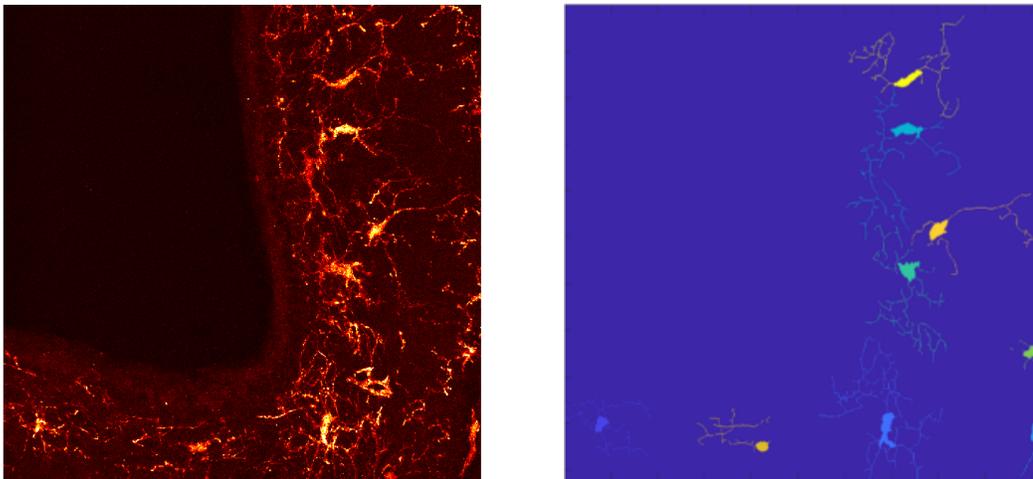


Figure 2 : A gauche, vue plus large d'une acquisition en microscopie par fluorescence (avec une échelle de couleur différente). A droite, somas et prolongements détectés par la procédure « preuve de concept ».

Il reste encore un travail conséquent et essentiel à la poursuite de l'objectif biologique. Tout d'abord, cette procédure « preuve de concept » doit être rendue plus efficace et robuste. Cela passe par le développement (i) d'une meilleure chaîne de traitement d'image et (ii) de construction du graphe astrocytaire ou microglial. Il faudra également réfléchir à d'autres caractéristiques à mesurer sur ces objets d'intérêt pour affiner leur description. Le travail crucial qui devra ensuite être développé est l'exploitation de ces caractéristiques en entrée d'une méthode de classification non supervisée (clustering) afin d'identifier automatiquement des

sous-populations de cellules gliales qui partagent des relations particulières entre les valeurs de leurs caractéristiques. Le nombre d'échantillons (nombre d'astrocytes ou de microglies extraits des images), quoique trop élevé pour une exploitation manuelle, ne sera probablement pas suffisant pour des méthodes de clustering « fondées modèle » (typiquement Gaussian Mixture Model) ou s'appuyant sur la densité. Nous envisagerons plutôt des méthodes hiérarchiques (produisant un dendrogramme), qui ne nécessitent pas de connaître à l'avance le nombre de clusters, ou des méthodes par partitionnement tel que le k-Means. A noter que le nombre de clusters dans les échantillons (les sous-populations) n'est pas forcément égal au nombre de conditions expérimentales (2 ici). Suite au clustering, nous analyserons les conditions SD (régime standard) et HFD (régime hyperlipidique) pour déterminer objectivement ce qui les distingue : soit qu'elles sont composées de sous-populations distinctes, soit que certaines sous-populations sont présentes dans les deux conditions mais dans des proportions différentes (signature des conditions sous forme d'histogramme). Cette analyse SD vs HFD sera menée selon deux modes, à savoir sans ou (plus finement) avec prise en compte de la répartition spatiale des sous-populations entre le noyau arqué et l'éminence médiane (deux régions distinctes de la zone d'intérêt imagée).

Compétences souhaitées

- Des connaissances en classification non supervisée sont souhaitables
- Des connaissances en traitement et analyse d'images sont souhaitables
- Un minimum d'autonomie en Python et Numpy
- Un manque d'expérience dans les domaines ci-dessus pourra être compensé par une bonne motivation