



Modèle animal du développement cérébral pour la neuropédiatrie: analyse d'images IRM par apprentissage profond et connaissances structurelles

Patty COUPEAU (Thèse : 11/2020 – 11/2023)

Modèle animal pour étudier le cerveau humain

« Les remarquables similitudes anatomiques et physiologiques entre les hommes et les animaux, [...] ont incité les chercheurs à étudier de nombreux mécanismes et à évaluer les nouveaux traitements sur des modèles animaux avant d'appliquer leurs découvertes à l'homme. » [1]



Modèle 3D de cerveau humain [2]

[1] Barré-Sinoussi, F., & Montagutelli, X. (2015). Animal models are essential to biological research: issues and perspectives. *Future Science OA*, 1(4).

[2] HUTCHINSON, E.B. et al. Population based MRI and DTI templates of the adult ferret brain and tools for voxelwise analysis. *NeuroImage*, n.152, p. 575-589, 2017.

2 modèles très exploités

Rongeurs: animaux les plus utilisés expérimentalement (petits animaux, faciles à nourrir et soigner, résistants)

- Modèle adapté pour l'étude longitudinale des structures cérébrales : possibilité d'étudier le cerveau in vivo sur toute la durée de vie du rongeur
- Cerveau très différent de l'Homme : surface corticale lisse, pas de sulci/gyri

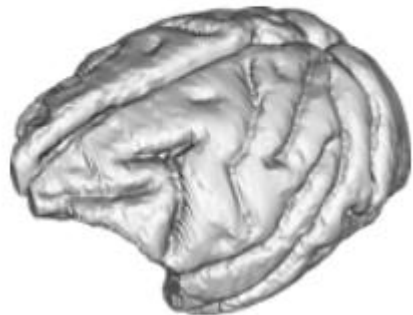
FEO, R.; GIOVE, F. Towards an efficient segmentation of small rodents' brain: A short critical review. *Journal of Neuroscience Methods*, n. 323, p. 82–89, 2019.

JING, B. et al. Within-subject test-retest reliability of the atlas-based cortical volume measurement in the rat brain: A voxel-based morphometry study. *Journal of Neuroscience Methods*, n. 307, p. 46–52, 2018.

BRAGGIO, D. et al. VBM sensitivity to localization and extent of mouse brain lesions: A simulation approach. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, n. 196, 2020.



Macaque atlases



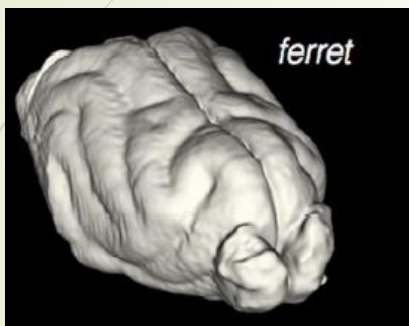
Macaques: modèle pertinent pour comprendre les liens entre le comportement et l'activité cérébrale.

- Modèle partageant d'étroites similitudes dans la structure cérébrale, la connectivité et la fonction avec l'Homme

BALBASTRE, Y. et al. A validation dataset for Macaque brain MRI segmentation. *Data in Brief*, n. 16, p. 37–42, 2018.

PETROFF, R et al. Chronic, low-level oral exposure to marine toxin, domoic acid, alters whole brain morphometry in nonhuman primates. *Neurotoxicology*, n.72, p. 114-124, 2019.

D'autres modèles animaux



Furet: Modèle offrant des similarités avec le cerveau humain

- Surface corticale pliée, WM importante, volumes et dimensions corporelles permettant l'imagerie avec scanners IRM précliniques
- Modèle exploité pour l'étude du processus de gyrification (naît avant la gyrification du cortex)

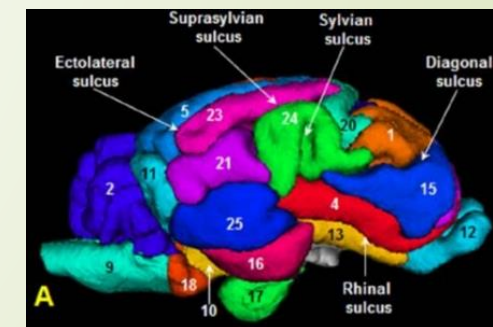
HUTCHINSON, E.B. et al. Population based MRI and DTI templates of the adult ferret brain and tools for voxelwise analysis. *NeuroImage*, n.152, p. 575-589, 2017.

Mouton: Modèle mammifère pour l'étude hormonale de l'adulte et du fœtus ainsi que des mécanismes endocriniens

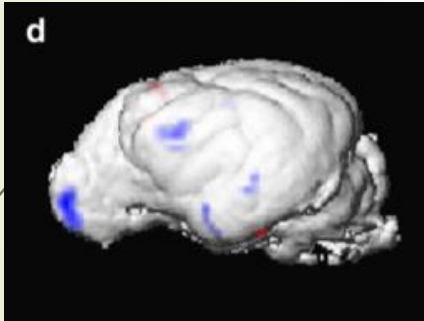
- Peu de données encore

ELLA, A.; KELLER, M. Construction of an MRI 3D high resolution sheep brain template. *Magnetic Resonance Imaging*, n. 33, p. 1329–1337, 2015.

BARRIERE, D-A et al. In vivo magnetic resonance imaging reveals the effect of gonadal hormones on morphological and functional brain sexual dimorphisms in adult sheep. *Psychoneuroendocrinology*, n.109, 2019.



D'autres modèles animaux



Beagle: Modèle utilisé pour des études relatives aux troubles d'anxiété, épilepsie, déclin cognitif, vieillissement

- Modèle présentant un traitement émotionnel et social similaire à l'humain

LIU, X. et al. A high-resolution MRI brain template for adult Beagle. *Magnetic Re-sonance Imaging*, n. 68, p. 148–157, 2020.
FRANK, L et al. Grey matter volume in healthy and epileptic beagles using voxel-based morphometry – a pilot study. *BMC Veterinary Research*, 2018.

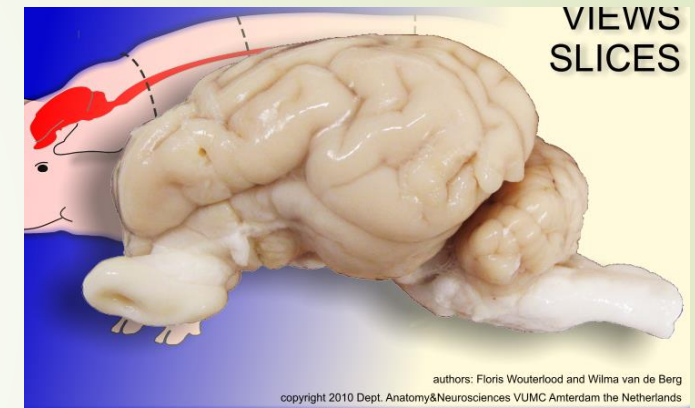
... non adaptés à l'étude du développement néonatal

Le porcelet : un modèle approprié ...

- **Similarité du cerveau du porcelet avec celui de l'enfant notamment prématuré:**
 - ❖ Morphologie et croissance périnatale
 - ❖ Nombre de neurones néocorticaux
 - ❖ Présence de plis: sulci/gyri
 - ❖ Distribution WM/GM similaire à celle de l'enfant
 - ❖ Cerveau suffisamment grand pour utiliser les scanners IRM adaptés à l'Homme

Mais beaucoup de muscles et graisses apparaissant avec l'âge qui réduisent la résolution des images et les similarités avec l'Homme

Modèle de développement neurologique précoce



http://www.anatomie-amsterdam.nl/sub_sites/pig_brain_atlas/start.htm

... mais peu exploité

➤ 2 études trouvées destinées à la création d'un atlas du cerveau du porcelet

GAN, H. et al. Development of new population-averaged standard templates for spatial normalization and segmentation of MR images for postnatal piglet brains. *MagneticResonance Imaging*, n. 32, p. 1396–1402, 2014. -> **40 porcelets mâles / non publiques (T1)**

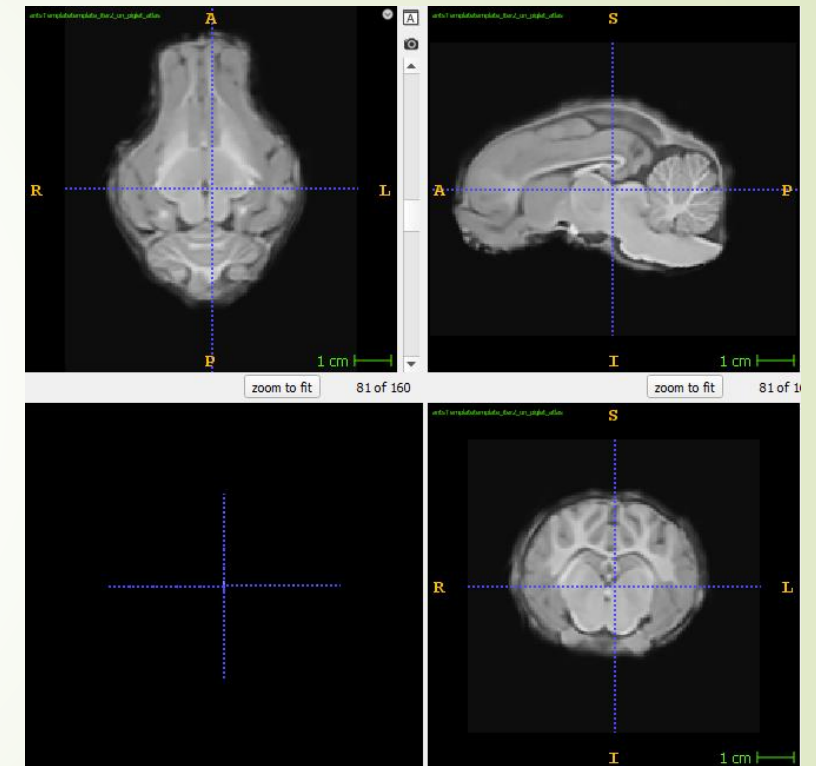
CONRAD, M. S. et al. An In Vivo Three-Dimensional Magnetic Resonance Imaging-Based Averaged Brain Collection of the Neonatal Piglet (*Sus scrofa*). *PLOS One*, v. 9, 2014.

❖ **15 porcelets de 4 semaines** (9 femelles / 6 mâles)

❖ **Images T1**

❖ **3 TPM + 19 ROI** (peu précis)

➤ Aucune étude morphométrique sur le porcelet rencontrée



**Atlas du porcelet de CONRAD et al.
(visualisation sur ITKSnap)**

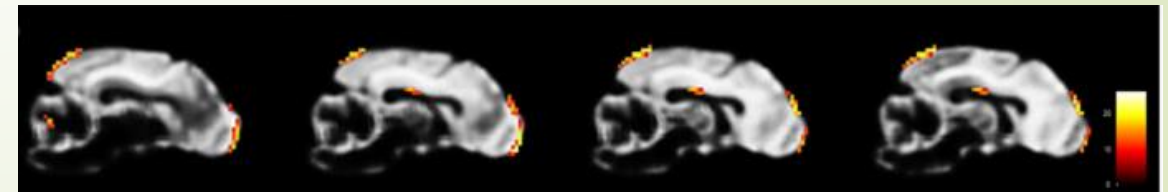
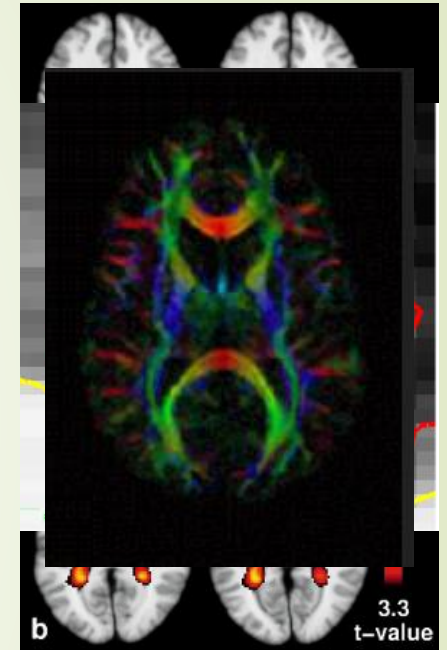
Objectifs

- ***Caractériser la lésion ischémique du modèle porcin***
- ***Montrer l'effet des cellules souches après implantation intracérébrale sur le développement cérébral***
- ***Développer des algorithmes d'analyse d'images IRM pour le suivi longitudinal du développement cérébral :***
 - Segmentation du cerveau
 - Analyse morphométrique

Des métriques pour caractériser le cerveau

Morphométrie : quantifier les caractéristiques anatomiques du cerveau en termes de forme, masse, volume, concentration, épaisseur, etc.

- ❖ **VBM (DARTEL)** : comparaison voxel par voxel des intensités (concentration des tissus)
Encore peu utilisé chez l'animal : taille et topologie des tissus cérébraux, taille BDD
Parfois difficile d'interpréter les résultats
Ex. souris [8], rat [7], mouton [9], chien [12]
- ❖ **DBM** : détection de changements structuraux, analyse des différences de position
Coûteux, étude existante sur la déformation des ventricules
Ex. rat [7]
- ❖ **SBM** : analyse statistique basée sur les surfaces, estimation de la forme des surfaces corticales
Coûteux, traitement long qui requiert intervention manuelle / Interprétation précise
Ex. épaisseur corticale, courbure corticale, gyrification, superficie, volume GM
- ❖ **Diffusion-weighted MR-based** : exploite l'imagerie DTI pour suivre les fibres nerveuses (diffusivité moyenne, intégrité de la WM)
Ex. macaque [10]



Des métriques pour caractériser le cerveau animal

- **Surface du cerveau** : chien [3][12], mouton [9]
- **Volume des tissus** : chien [3][12], rat [7]
- **Densité de substance grise** : chien [3], souris [8], mouton [9]
- **Volume des structures cérébrales** : rat [7], furet [11]
- **Gyrification**

Actuellement 100% manuel

- ❖ **Long (1h30 cerveau / 8h les tissus en moyenne)**
- ❖ **Opérateur-dépendant**

IRM anatomique T1 (T2)



Extraction du
cerveau

Segmentation
(tissus,
structures)

Calcul de
caractéristiques
- Volume
- Epaisseur
- Concentration
...

**Comment automatiser les opérations de
segmentation du cerveau du porcelet ?**

Extraction du cerveau

- Beaucoup d'algorithmes performants développés pour l'Homme
 - ❖ Brain Extraction Tool **BET** (Smith, 2002)
 - ❖ Hybrid Watershed Algorithm **HWA** (Sgonne et al, 2004)
 - ❖ Brain Surface Extraction **BSE** (Shattuck et al, 2009)
 - ❖ Robust Brain Extraction **ROBEX** (Iglesias et al, 2011)
 - ❖ Learning Algorithm for Brain Extraction and Labelling **LABEL** (Shi et al, 2012) : enfant
 - ❖ Brain Extraction based on non local Segmentation Technology **BEaST** (Eskildsen et al, 2012)
 - ❖ Multi-cONtrast brain STRipping **MONSTR** (Roy et al, 2017)
- Algorithmes spécifiques à l'Homme qui s'appliquent mal à l'animal
 - ❖ Taille et forme du cerveau
 - ❖ Contraste des tissus
 - ❖ Différences dans les scanners IRM (intensité du champ magnétique, protocole)

Besoin d'algorithmes d'extraction automatique du cerveau robustes sur l'IRM animal

Extraction du cerveau

- ▀ Quelques algorithmes propres à certaines espèces existent :

- ❖ **rBET** : adaptation de BET pour les **rongeurs** (Wood et al, 2013)
- ❖ Rapid Automatic Tissue Segmentation **RATS** pour les **rongeurs** (Oguz et al, 2014)

Atlas-based

- ❖ **Primatologist** pour les **primates** non humains (Balbastre et al, 2017)
- ❖ **AtlasBrex** seul algorithme existant s'appliquant à plusieurs espèces animales : **macaque, ouistiti, rongeurs** = peu précis sur le porcelet, besoin d'un atlas (Lohmeier et al, 2019)

Apprentissage profond (atlas-free)

- ❖ **PCNN3D** pour les **rongeurs** (Chou et al, 2011)
- ❖ **DIKA-Nets** pour les **macaques** de 0 à 36 mois = patch-based U-Net / NN à 3 entrées : intensités, distance au barycentre, distance d'Hausdorff (Zhong et al, 2020)

Réseaux de neurones convolutifs (CNN) applicables à toute espèce

- ❖ **U-Net** (Ronneberger et al, 2015)
- ❖ **V-Net** (Milletari et al, 2016)
- ❖ **FRNET** (Zhang et al, 2019)
- ❖ **Non-local U-Net** (Wang et al, 2020)

*Requiert beaucoup de données
représentatives pour l'entraînement*

**Développement d'un algorithme d'extraction automatique du cerveau
animal robuste, atlas-free, combinant apprentissage profond et
connaissances structurelles**

Données IRM à disposition

- **28 porcelets dont 1 témoin (attention seule femelle)**

Taille du cortex différente selon sexe / évolution plus précoce de l'hippocampus chez les femelles [6]

Les cochons 2 à 7 ont servi à ajuster la dose d'endothéline: prudence sur les résultats de ces cochons

- **IRM à 15J (avant et après lésion), 1M (avant et après injection de cellules), 2M et 4M**

IRM à 15J +/- 5 jours : variations du cerveau possibles

- **Images T1/T2, DTI**

	15J	1M	2M	4M
T1	28 pré-lésion + 7 post-lésion	19 dont 1 témoin	14 : - 1 témoin - 7 sans MTI - 6 avec MTI	6 : - 1 témoin - 3 sans MTI - 2 avec MTI
T2	25 pré-lésion + 25 post-lésion	19 dont 1 témoin + 6 post-injection MTI	14	6
DTI	24 pré-lésion	19 dont 1 témoin	14	6

Récapitulatif des données IRM de porcelets à disposition

Extraction du cerveau

Prérequis sur notre méthode

1) Atlas-free

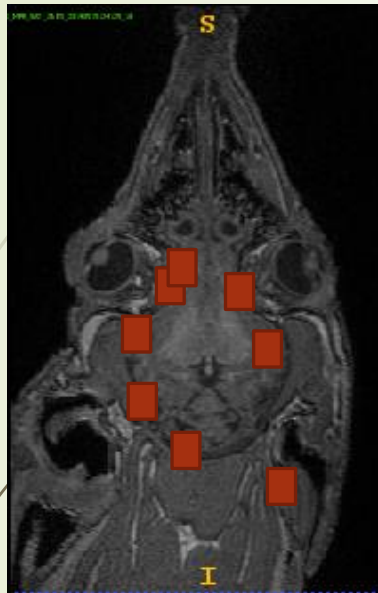
- Atlas possible seulement à 15 jours (mais la date de la 1^e IRM varie)
- Etude de l'hémisphère non touché incorrecte méthodiquement

2) Apprentissage profond avec moins de données d'apprentissage grâce à l'utilisation de connaissances structurelles a priori (relations spatiales, photométrie, etc.) [13][14]. Approche imitant le système visuel humain.

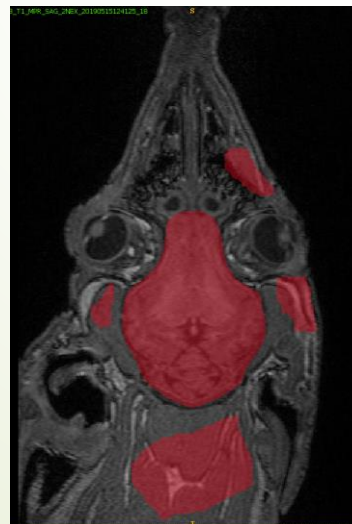
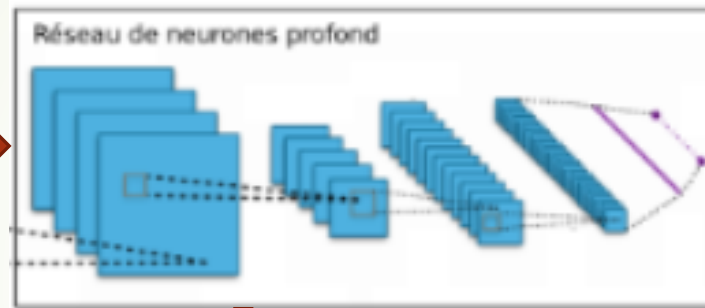
3) Implémentation sur le porcelet puis généralisation à d'autres modèles animaux

Plusieurs BDD d'animaux (macaques, chiens, furets, rongeurs, humains) / rats par Mickael

Extraction du cerveau



3D U-Net [18]



Première segmentation du cerveau

- Présence de faux-positifs

Overlapping Patches 3D

- Augmente la précision locale [15]
- Réduit les temps de calcul et la mémoire nécessaire [17]
- Sorte d'augmentation de données [16]

Taille / Emplacement des patches

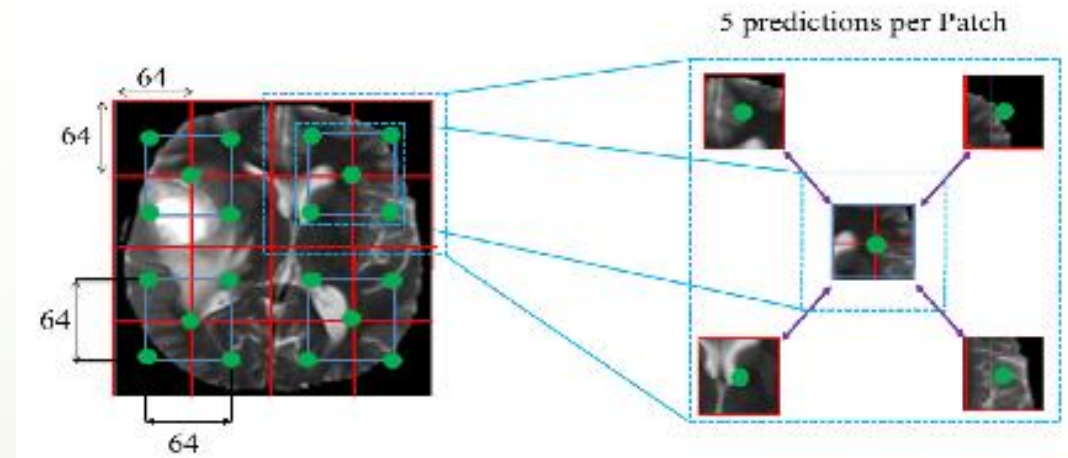
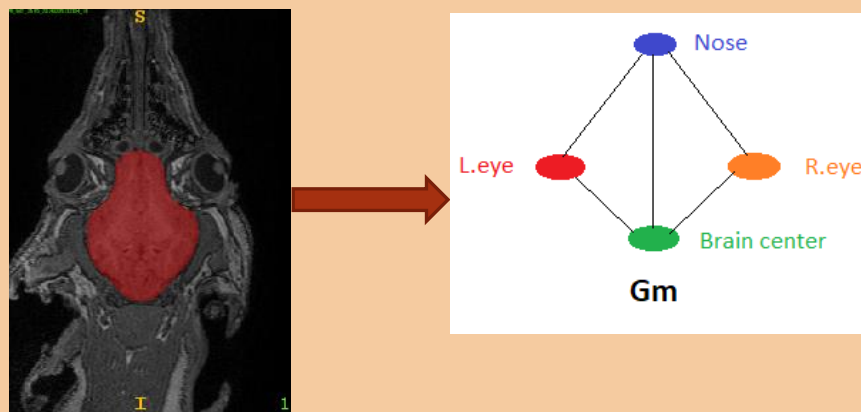


Illustration Overlapping patches issue de [16]

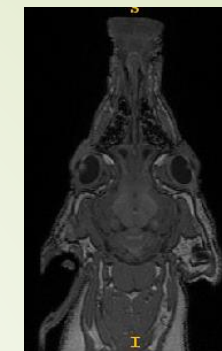
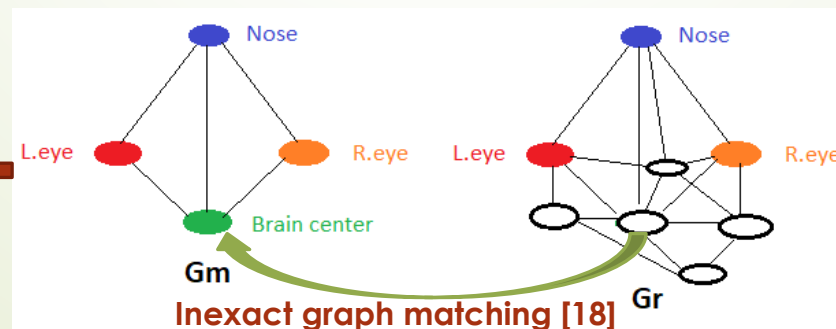
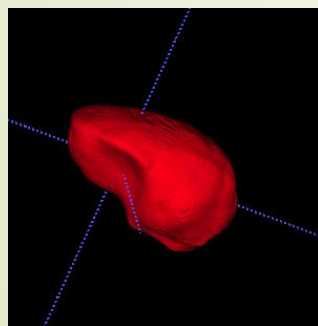
Extraction du cerveau

Entraînement

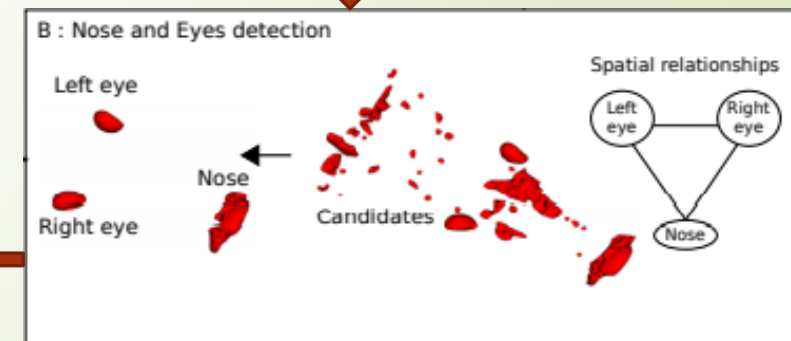
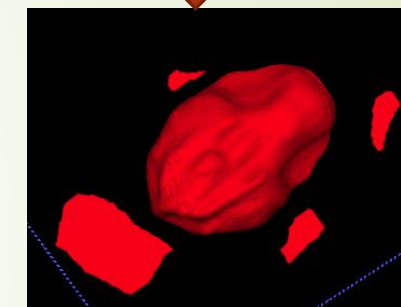


■ Elimination des faux-positifs par graph matching

- ❖ Exploitation du travail d'A. Durandeu (détection des yeux et du nez) [19]
- ❖ Rajout de connaissances structurelles (distance yeux-barycentre du cerveau / distance nez-barycentre du cerveau)
- ❖ Adaptation de l'algorithme à différentes espèces animales (distances = paramètres)

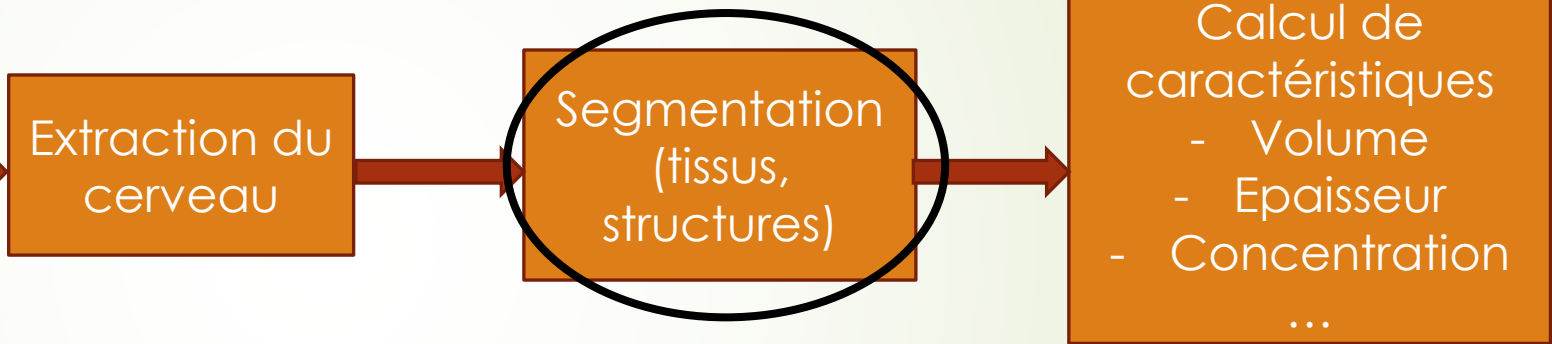
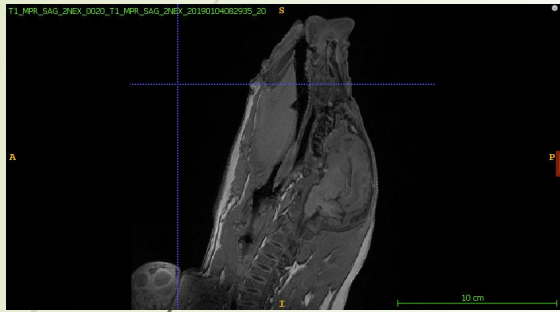


U-Net



Illustrations issues de [19]

IRM anatomique T1 (T2)



Comment automatiser les opérations de segmentation du cerveau du porcelet ?

Segmentation des tissus cérébraux et structures cérébrales

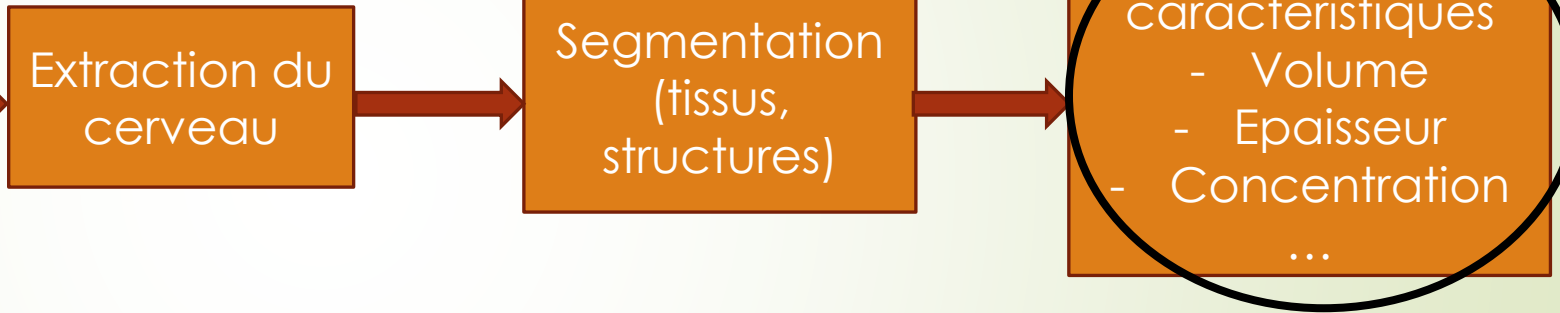
► Tissus

- 3 tissus cérébraux segmentés (WM, GM, CSF)
- Combinaison de l'apprentissage profond et de connaissances structurelles
 - U-Net très utilisé pour la segmentation des tissus [15][17]
 - Ajout de connaissances structurelles (relations **photométriques** : GM plus sombre que WM, CSF plus sombre que GM)

► Structures

- 19 structures cérébrales proposées : *cortex gauche/droit, ventricule latéral, caudate, corpus callosum, internal capsule, hippocampus gauche/droit, putamen, thalamus, cerebellum, cerebral aqueduct, 3^e et 4^e ventricule, hypothalamus, medulla, midbrain, olfactory bulb, pons*
- Combinaison de l'apprentissage profond et de connaissances structurelles (travail J.Chopin)
 - U-Net très utilisé pour la segmentation des structures [20][21]
 - Ajout de connaissances structurelles (relations **spatiales** : « à droite de », « inclus dans », distances / relations **photométriques** : « plus sombre que »)

IRM anatomique T1 (T2)



- 1^e hypothèse : la lésion cérébrale entraînerait une atrophie de la substance blanche périventriculaire
- 2^e hypothèse : l'injection de cellules souches permettrait de réparer l'atrophie de WM

Métriques possibles

Tissus

3 tissus : WM, GM, CSF

Volumes WM,
GM, CSF

Volumes WM,
GM, CSF par
structures

Ratios :
WM/cerveau,
GM/cerveau,
CSF/cerveau,
WM/GM

Structures

19 structures

Volumes
structures

Relations
spatiales entre
structures :
distances

Besoin de gold standard : segmentation manuelle ...

► Pourquoi ?

- Avoir une référence pour évaluer la qualité des segmentations obtenues par nos algorithmes
- Fournir des premières métriques pour appuyer le modèle de la PC

volumes tissulaires / volumes par structures cérébrales

(attention : recalage sur l'atlas peu précis, les mesures par structure seront à affiner avec notre algorithme de segmentation des structures)

► Comment ?

ITKSnap : seuillage par intensité et ajustement manuel coupe par coupe = opération très longue

~ 1h30 extraction du cerveau

~ 4h WM

~ 2h30 CSF

~ 1h GM

23

Besoin de gold standard : segmentation manuelle ...

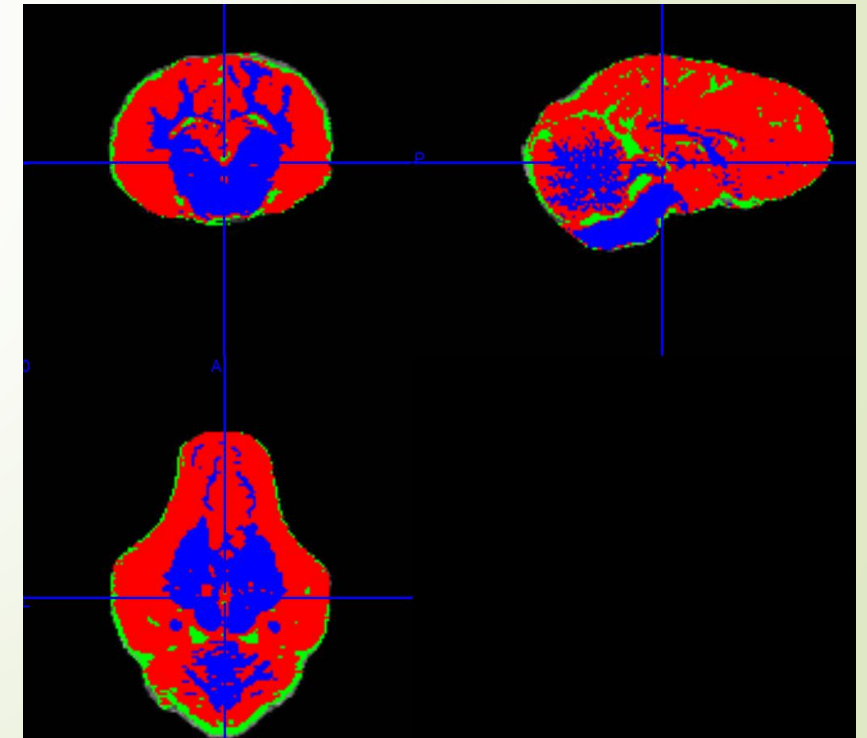
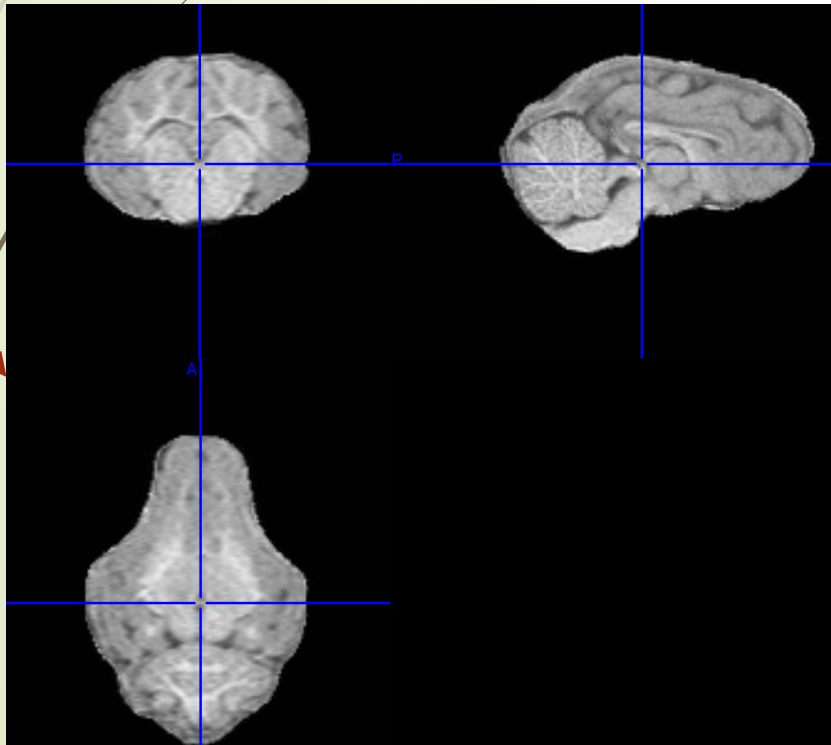
Extraction
cerveau +
Recalage
sur atlas du
porcelet



Segmentation manuelle
ITKSnap



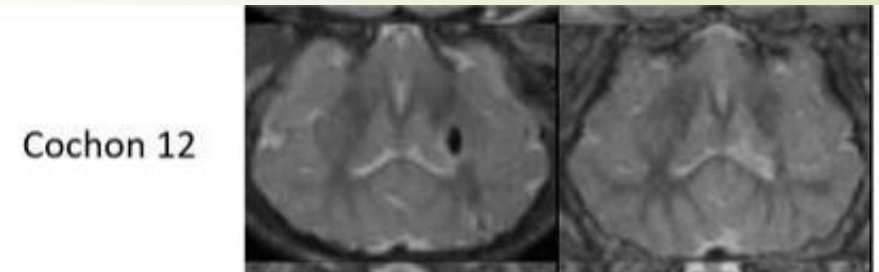
Segmentation manuelle
ITKSnap



Besoin de gold standard : segmentation manuelle ...

- **Stratégie : segmentation des IRM T1 et T2 à 15J et à 1M seulement pour le moment**
 - Avoir assez de données pour commencer l'implémentation des algos de segmentation et valider le modèle de la paralysie cérébrale d'Edouard
 - Les IRM post lésion à 15J présentent des artefacts à l'endroit de l'injection qui pourraient gêner la segmentation
 - La résolution des images à 2M et 4M se dégrade du fait des graisses
 - L'impact des cellules souches sera étudié plus tard

Objectif : avoir toutes les segmentations manuelles à 15J et 1M prêtes en avril



IRM T2 15J post-lésion / 1M (atrophie de WM)

	15J - pré lésion	1M - pré injection	2M	4M
T1	7/28	4/19	1/14	1/6
T2	6/25	4/19	1/14	1/6

Segmentations manuelles réalisées depuis le 1^e décembre

... pour évaluer les performances des algorithmes implémentés

► Extraction du cerveau

- Notre algorithme
- BET, patch-based 3D U-Net, AtlasBrex (création d'un atlas du porcelet à 15J?)

► Segmentation des tissus

- Notre algorithme
- SPM, patch-based 3D U-Net

► Quelles Métriques ?

DICE, distance d'Hausdorff, erreur quadratique moyenne

References :

- [1] FEO, R.; GIOVE, F. Towards an efficient segmentation of small rodents brain: A short critical review .Journal of Neuroscience Methods, n. 323, p. 82–89, 2019.
- [2] CONRAD, M. S. et al. An In Vivo Three-Dimensional Magnetic Resonance Imaging-Based Averaged Brain Collection of the Neonatal Piglet (*Sus scrofa*).PLOS One, v. 9,2014.
- [3] LIU, X. et al. A high-resolution MRI brain template for adult Beagle. Magnetic Re-sonance Imaging, n. 68, p. 148–157, 2020.
- [4] BALBASTRE, Y. et al. A validation dataset for Macaque brain MRI segmentation. Data in Brief, n. 16, p. 37–42, 2018.
- [5] ELLA, A.; KELLER, M. Construction of an MRI 3D high resolution sheep brain template. Magnetic Resonance Imaging, n. 33, p. 1329–1337, 2015.
- [6] GAN, H. et al. Development of new population-averaged standard templates for spatial normalization and segmentation of MR images for postnatal piglet brains. MagneticResonance Imaging, n. 32, p. 1396–1402, 2014.
- [7] JING, B. et al. Within-subject test-retest reliability of the atlas-based cortical volume measurement in the rat brain: A voxel-based morphometry study. Journal of Neuroscience Methods, n. 307, p. 46–52, 2018.
- [8] BRAGGIO, D. et al. VBM sensitivity to localization and extent of mouse brain lesions: A simulation approach. Computer Methods and Programs in Biomedicine, n. 196, 2020.
- [9] BARRIERE, D-A et al. In vivo magnetic resonance imaging reveals the effect of gonadal hormones on morphological and functional brain sexual dimorphisms in adult sheep. Psychoneuroendocrinology, n.109, 2019.
- [10] PETROFF, R et al. Chronic, low-level oral exposure to marine toxin, domoic acid, alters whole brain morphometry in nonhuman primates. Neurotoxicology, n.72, p. 114-124, 2019.
- [11] HUTCHINSON, E.B. et al. Population based MRI and DTI templates of the adult ferret brain and tools for voxelwise analysis. Neurolmage, n.152, p. 575-589, 2017.
- [12] FRANK, L et al. Grey matter volume in healthy and epileptic beagles using voxel-based morphometry – a pilot study. BMC Veterinary Research, 2018.

- [13] J.-B. Fasquel et N. Delanoue. An approach for sequential image interpretation using a priori binary perceptual topological and photometric knowledge and k-means based segmentation. *Journal of the Optical Society of America A*, 2018.
- [14] G. Fouquier, J. Atif et I. Bloch. Sequential model-based segmentation and recognition of image structures driven by visual features and spatial relations. *Comp. Vision & Image Understanding*, 2012.
- [15] Lee B, Yamanakkanavar N, Choi JY. Automatic segmentation of brain MRI using a novel patch-wise U-net deep architecture. *PLoS ONE*, 2020.
- [16] Ben naceur M., Akil M., Saouli R., & Kachouri R. Fully automatic brain tumor segmentation with deep learning-based selective attention using overlapping patches and multi-class weighted cross-entropy. *Medical Image Analysis*, 63, 101692, 2020.
- [17] Zhong, Fenqiang Zhao, Yuchen Pei, Zhenyuan Ning, Lufan Liao, Zhengwang Wu, Yuyu Niu, Li Wang, Dinggang Shen, Yu Zhang, Gang Li, DIKA-Nets: Domain-Invariant Knowledge-guided Attention Networks for Brain Skull Stripping of Early Developing Macaques, *NeuroImage* (2020)
- [18] J. Chopin, J. -B. Fasquel, H. Mouchère, R. Dahyot and I. Bloch. Semantic image segmentation based on spatial relationships and inexact graph matching. *2020 Tenth International Conference on Image Processing Theory, Tools and Applications (IPTA)*, Paris, 2020, pp. 1-6
- [19] Alexandre Durandau, Jean-Baptiste Fasquel, Isabelle Bloch, Edouard Mazerand, Philippe Menei, et al.. Structural information and (hyper)graph matching for MRI piglet brain extraction. *10th International Conference on Pattern Recognition Systems (ICPRS)*, 2019, Tours, France. pp.76-81
- [20] Kaisar Kushibar, Sergi Valverde, Sandra González-Villà, Jose Bernal, Mariano Cabezas, Arnau Oliver, Xavier Lladó. Automated sub-cortical brain structure segmentation combining spatial and deep convolutional features. *Medical Image Analysis*, Volume 48, 2018.
- [21] Léonie Borne, Denis Rivière, Martial Mancip, Jean-François Mangin. Automatic labeling of cortical sulci using patch- or CNN-based segmentation techniques combined with bottom-up geometric constraints. *Medical Image Analysis*, Volume 62, 2020.