

Segmentation et détection des aberrations dans les images de chromosomes en métaphase

Simon SCHABAT^{1,2} Bruno COLICCHIO¹ Jean-Baptiste COURBOT¹ Alain DIETERLEN¹ Radhia M'KACHER²

¹IRIMAS, UR 7499, 61 Rue Albert Camus, 68200, Mulhouse

²Cell environment, 5 Rue Henri Auguste Desbruères, 91000 Évry-Courcouronnes

Résumé – Nous travaillons sur des images en microscopie de fluorescence de chromosomes en métaphase, marquées par trois fluorochromes (DAPI, FITC, SpO). Environ 1 000 images issues de cultures cellulaires irradiées (0, 0.5, 1, 2, 4, 8 Gray) et de patients ont été collectées et annotées pour la dosimétrie, incluant des aberrations rares des télomères et centromères. Initialement, une segmentation par CNN a été développée pour résoudre des défis comme l'occlusion et les variations morphologiques, surpassant les méthodes classiques. Nous évoluons vers une classification multi-classes pour détecter automatiquement ces aberrations. Les performances, validées par un cytogénéticien via des métriques comme IoU, atteignent 98% de précision et un IoU moyen de 0.92, ouvrant des perspectives prometteuses pour l'analyse cytogénétique en routine clinique.

Abstract – We work on fluorescence microscopy images of metaphase chromosomes, labeled with three fluorochromes (DAPI, FITC, SpO). Around 1,000 images from irradiated cell cultures (0, 0.5, 1, 2, 4, 8 Gray) and patients have been collected and annotated for dosimetry, including rare aberrations affecting telomeres and centromeres. Initially, a CNN-based segmentation method was developed to address challenges such as chromosome occlusion and morphological variations, outperforming traditional cytogenetic analysis methods. We are now moving towards multi-class classification to automatically detect these aberrations. The performance, validated by a cytogeneticist using metrics (such as IoU), achieves 98% accuracy and a mean IoU of 0.92, opening promising prospects for clinical cytogenetic analysis.

1 Introduction

1.1 Contexte

La cytogénétique est une branche de la génétique qui étudie la structure et la fonction des chromosomes. Elle examine les cellules au niveau microscopique afin d'identifier les anomalies chromosomiques, telles que les duplications, les délétions, les translocations, les inversions, etc. Ces anomalies peuvent être associées à des maladies génétiques, des troubles du développement ou des cancers. Les caryotypes permettent une identification globale des chromosomes et facilitent la détection d'éventuelles aberrations chromosomiques. Pour obtenir un caryotype, différentes techniques d'imagerie sont utilisées. Parmi les techniques les plus courantes, on retrouve la cytogénétique conventionnelle (coloration uniforme) Fig.1(A) et la cytogénétique moléculaire Fig.1(C-D), incluant la FISH (Hybridation in situ en fluorescence) et la mFISH (Hybridation in situ en fluorescence multicolore).

M'Kacher et al. [8] ont introduit la coloration des télomères (extrémités des chromosomes) et des centromères (point de contact des deux chromatides) Fig. 1(B), permettant une meilleure définition des bandes sur les chromosomes et une détection plus fiable des aberrations chromosomiques. Ces colorations peuvent également être utilisées pour faciliter l'étape de segmentation et l'automatisation de la classification. Dans notre étude, la coloration des télomères a été réalisée avec une sonde SpectrumOrange (SpO), celle des centromères avec une sonde FITC, et la contre-coloration a été obtenue avec du DAPI.

Malgré l'utilité clinique des approches cytogénétiques, que ce soit pour le diagnostic ou le suivi des patients, ces tech-

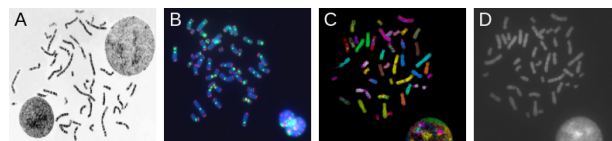


FIGURE 1 : Coloration en métaphase : (A) Bandes G, (B) DAPI, FITC et SpO, (C) FISH multicolore, (D) DAPI.

niques restent chronophages et dépendent fortement de l'opérateur.

Le principal défi des approches cytogénétiques est l'automatisation de la classification des chromosomes et la détection des aberrations chromosomiques. Un chromosome normal est défini par 4 ronds rouges (télomères) et une ellipse verte (centromère). Cependant, les limites des techniques d'imagerie peuvent rendre certaines de ces anomalies difficiles à détecter ou à interpréter de manière fiable. Parmi ces anomalies, on retrouve notamment les chromosomes dicentriques, tricentriques, en anneaux, ainsi que les fragments chromosomiques avec ou sans télomères, comme illustré dans la Fig. 2. Ces structures atypiques compliquent l'analyse automatisée et nécessitent souvent une intervention humaine pour garantir une classification précise.

L'automatisation de la classification des chromosomes et la détection des anomalies chromosomiques restent des défis majeurs en cytogénétique. Les méthodes classiques de segmentation, comme le seuillage [9, 10], la détection de contours et la croissance de régions [2], ont été largement étudiées, mais elles souffrent de limitations face au bruit, au faible contraste et à la variabilité des images.

L'apprentissage automatique a été appliqué à la segmentation des chromosomes, notamment sur les images en co-

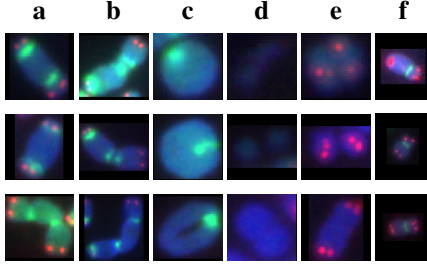


FIGURE 2 : Différentes classes à détecter (A) Dicentriques, (B) Tricentriques, (C) Anneaux, (D) Fragment sans télomère, (E) Fragment avec 4 télomères et (F) Normal.

loration GIEMSA et mFISH, avec des approches basées sur les SVM [4], C-means [1], ou encore les CNN [17]. Le deep learning, avec des architectures comme U-Net [13] et Mask R-CNN [16], a également montré des résultats prometteurs sur ces types d'images.

Toutefois, très peu de travaux portent sur la segmentation des chromosomes en coloration FITC et SpO. Des images synthétiques ont principalement été utilisées pour ce type de coloration [15]. Or, ces images ne capturent pas fidèlement la complexité des chromosomes réels, notamment en cas de chevauchement où les contours deviennent flous.

Dans cet article, nous proposons un pipeline dédié à la segmentation des chromosomes et la classification des aberrations en coloration FITC et SpO. La section 2 détaille notre méthode, suivie des résultats expérimentaux en section 3. Enfin, nous discutons des performances obtenues et des perspectives d'amélioration.

2 Méthode

En entrée nous avons une image RGB, contenant nos 3 colorations (DAPI (B), FITC (G), SpO (R)). Notre approche se fait en deux étapes principales :

1. Localisation et classification : déterminer la boîte englobante autour du chromosome et sa classe (normal, dicentrique, fragment 0 ou 4 télomères, anneau montrés en Fig. 2), avec un modèle CNN.
2. Segmentation : Pour chaque imagerie, on segmente l'image, résultant un masque binaire.

La sortie du pipeline est un ensemble de chromosomes segmentés à l'intérieur de l'image, permettant ainsi à des pixels identiques d'avoir plusieurs classes différentes en cas de chevauchement. Par ailleurs, la segmentation répond à un besoin spécifique des cytogénéticiens, qui doivent pouvoir extraire précisément la forme de chaque chromosome afin de les utiliser dans des tâches en aval, telles que le comptage, la classification ou encore l'analyse morphologique détaillée.

2.1 Localisation

Pour résoudre les problèmes de variation de taille, nous utilisons YOLOV11 [11] pour la détection et la classification, il permet une détection robuste des objets variant en taille. Dans cet algorithme :

- Le problème est traité comme un problème de régression directe, prédisant directement les paramètres des boîtes englobantes et les classes en une seule passe.
- Chaque boîte englobante comprend ainsi six paramètres : les coordonnées (x, y) du centre de la boîte, sa largeur et sa hauteur, la confiance de la détection ainsi que sa classe.

2.2 Segmentation

Nous avons choisi le réseau U-Net [13], auquel nous avons intégré un module d'attention combinée [18] (spatiale et par canal) entre l'encodeur et le décodeur, afin de guider le modèle à se focaliser à la fois sur les régions et les caractéristiques les plus pertinentes. Cette attention permet d'améliorer la qualité de segmentation, en particulier dans les situations où plusieurs chromosomes se chevauchent ou sont partiellement superposés, en renforçant la distinction entre structures proches. Cette attention peut être formulée par l'équation suivante :

$$F_{\text{refined}} = A_{\text{channel}}(X) \cdot A_{\text{spatial}}(X) \cdot X \quad (1)$$

où :

- $X \in \mathbb{R}^{C \times H \times W}$ est l'entrée du module d'attention, avec C le nombre de canaux et $H \times W$ la taille de l'image.
- $A_{\text{channel}}(X) \in \mathbb{R}^{C \times 1 \times 1}$ est l'attention par canal, qui pondère l'importance de chaque canal indépendamment.
- $A_{\text{spatial}}(X) \in \mathbb{R}^{1 \times H \times W}$ est l'attention spatiale, qui met en avant les régions les plus pertinentes dans l'image.
- $\cdot$ représente une multiplication élément par élément (produit de Hadamard).

Un remplissage par zéros a été appliqué pour centrer les images et homogénéiser les dimensions, assurant ainsi une meilleure généralisation du modèle. Par ailleurs, une classification binaire (chromosome principal / arrière-plan) s'est révélée plus efficace que l'approche à trois classes initialement testée.

3 Résultats expérimentaux

Cette section présente d'abord les jeux de données utilisés pour l'entraînement des modèles, puis les résultats obtenus.

3.1 Datasets

Les tailles de nos images sont de 1008×888 pixels (avec binning) et ont été enregistrées par un MetaSystems CoolCube 4m, objectif à huile 63x, avec des canaux de fluorescence DAPI, FITC et SpO. Les échantillons ont été préparés comme décrit dans [8].

Nous utilisons plusieurs bases de données pour la validation, contenant des vignettes de chromosomes de taille 224 × 224 :

- DB1 : chromosomes simples : 2500 images,
- DB2 : chromosomes qui se touchent : 2500 images,
- DB3 : chromosomes qui se chevauchent : 2500 images,
- DB4 : DB1–DB3 regroupés : 7500 images,
- DB5 : 30 610 images, 20% simple, 20% chevauchement, 60% jointifs.

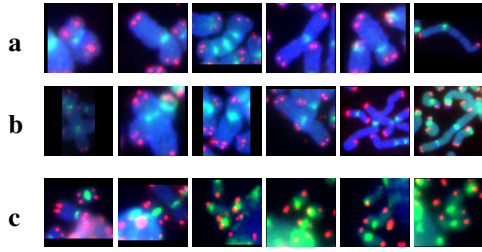


FIGURE 3 : Défis courants dans l'analyse des images de chromosomes : (ligne A) Jointifs, (B) Chevauchement, (C) Proximité des noyaux (peu fréquent dans notre jeu de données).

Les bases de données *DB1* à *DB4* sont utilisées pour les tests, tandis que *DB5* est utilisée pour l'entraînement. Les proportions de chaque type d'image dans la base *DB5* sont représentatives des proportions observées dans l'ensemble des images. Des exemples d'images sont illustrés à la Fig. 3. Nous considérons également des images complète de taille 1008×888 pixels dans les bases de données suivantes :

- *DB6*, contenant 736 images, pour l'entraînement.
- *DB7*, contenant 184 images, pour le test.

Les deux bases combinées contiennent 42 446 chromosomes, répartis comme suit : 37 434 chromosomes normaux, 581 fragments sans télomères, 2 387 fragments avec 4 télomères, 1 694 chromosomes dicentriques et 281 chromosomes centromériques en anneau. Cette distribution reflète la réalité biologique : les aberrations sont rares dans les cellules non exposées, et leur fréquence dépend directement du niveau d'irradiation. Ainsi, la balance des classes est inhérente aux cellules analysées et ne peut pas être ajustée artificiellement sans altérer la nature des données. Afin d'éviter l'utilisation d'augmentations de données synthétiques, nous avons donc eu recours à des échantillons irradiés à différentes doses, allant de 0 Gy à 8 Gy, avec des intervalles de 2 Gy. Cette approche permet d'augmenter physiquement le nombre d'aberrations chromosomiques tout en préservant l'authenticité des images utilisées pour l'entraînement.

3.2 Paramètres

Pour YOLO, nous avons préentraîné le modèle sur le jeu de données COCO [5] avec les paramètres suivants : 100 époques, un batch de 16, taux d'apprentissage initial (lr0) de 0,01, dropout de 0 et optimiseur AdamW. Ensuite, nous avons entraîné le modèle sur nos images de chromosomes avec un batch de 1.

Les hyperparamètres suivants pour U-Net ont été obtenus par recherche sur grille : un taux d'apprentissage de 0,01, 50 époques, un batch de 1, et l'entropie croisée binaire comme fonction de coût à optimiser par SGD (stochastic gradient descent), avec un taux de dropout de 0. Pour YOLO et U-Net, les paramètres ont été obtenus par recherche sur grille.

3.3 Performances par étapes

Nous avons testé plusieurs architectures de détection, en commençant par YOLO, entraîné sur toutes les tailles disponibles (Small à XtraLarge). La version Large a été retenue pour ses meilleures performances, avec une box loss de 0.7148.

YOLO s'est montré très efficace pour localiser les chromosomes, même en cas de superposition, bien que les cas les plus complexes aient affecté les performances. Sur les mêmes images que celles du pipeline, il atteint 90% de précision, avec une class loss de 0.3225, une DFL loss de 0.8249, un mAP50 de 0.98 et un mAP50-95 de 0.762.

Les tableaux ci-dessous présentent les résultats des tests de détection d'objets sur YOLOv11, Faster R-CNN [12], RetinaNet [6] et SSD [7], en classification binaire (où l'on distingue seulement la présence ou l'absence d'un objet) et en classification multiple (qui permet de classer plusieurs types d'objets ou d'anomalies), avec un entraînement sur *DB6* et une évaluation sur *DB7*. Le tableau 1 montre que YOLOv11 surpasse largement les autres architectures en classification binaire, avec un AP, mAP, IoU, F1-score et recall supérieur. Les autres modèles (Faster R-CNN, RetinaNet, SSD) ont obtenu de moins bons résultats.

Le tableau 2 révèle également que YOLOv11 est le meilleur en classification multiple, avec un mAP50 de 0.80, tandis que Faster R-CNN atteint un mAP de 0.68, et RetinaNet et SSD n'ont obtenu aucun résultat significatif. En résumé, YOLOv11 a produit les meilleurs résultats dans les deux cas de classification.

TABLE 1 : Détection d'objets avec classification binaire (entraînement sur *DB6*, évaluation sur *DB7*).

Réseau	AP	mAP50	F1-score	Recall
YOLOv11	0.75	0.98	0.97	0.98
Faster R-CNN	0.71	0.97	0.95	0.98
RetinaNet	0.64	0.92	0.81	0.95
SSD	0.47	0.72	0.41	0.88

TABLE 2 : Détection d'objets avec classification multiple : Normal (N), Dicentrique (D), Tricentrique (T), Fragment (F0T et F4T) et Anneaux (R) (entraînement sur *DB6*, Évaluation sur *DB7*).

Réseau	AP (N)	AP (D)	AP (T)	AP (R)	AP (F0T)	AP (F4T)	mAP50
YOLOv11	0.71	0.64	0.49	0.50	0.46	0.49	0.80
Faster R-CNN	0.45	0.25	0.03	0.30	0.33	0.32	0.68
RetinaNet	0.41	0.02	0.00	0.00	0.05	0.10	0.21
SSD	0.25	0.04	0.01	0.01	0.01	0.04	0.18

Pour la segmentation, nous avons choisi de comparer la performance des architectures de deep learning que nous avons sélectionnées sur la base de la littérature : Resnet [3], U-Net [13], U-Net++ [19], MobilenetV2 [14].

Les résultats de la comparaison sont présentés dans le tableau 3. Nous pouvons constater que U-Net donne généralement de bons résultats sur toutes les bases de données, avec des valeurs plus élevées pour la précision, le rappel et la spécificité, ainsi que des scores satisfaisants de F1 et IoU. Ces résultats suggèrent que U-Net est une méthode robuste et efficace pour la segmentation d'images dans divers contextes. Par conséquent, il semble approprié de choisir U-Net comme modèle de segmentation, étant donné ses performances globalement supérieures sur toutes les métriques évaluées.

Le tableau 4 résume les résultats de la segmentation U-Net avec attention sur divers ensembles de tests, y compris des chromosomes simples (*DB1*), des chromosomes en contact (*DB2*), des chromosomes superposés (*DB3*) et leur combinaison (*DB4*). Bien que le réseau donne généralement de bons

TABLE 3 : Résultats de la segmentation en utilisant différentes architectures (entraînement sur DB5 et évaluation sur DB4)

Architectures	Accuracy	Recall	Specificity	F1-score	IoU
U-Net avec attention	0.96	0.93	0.98	0.94	0.90
U-Net++	0.95	0.92	0.97	0.94	0.88
Resnet-101	0.83	0.60	0.99	0.67	0.59
MobilenetV2	0.76	0.46	0.95	0.53	0.43

TABLE 4 : Résultat de la segmentation du modèle U-Net segmentation sur différentes bases.

	Accuracy	Recall	Specificity	F1-score	IoU
DB1	0.95	0.94	0.97	0.95	0.88
DB2	0.96	0.94	0.97	0.95	0.91
DB3	0.95	0.91	0.98	0.93	0.88
DB4	0.96	0.93	0.98	0.94	0.90

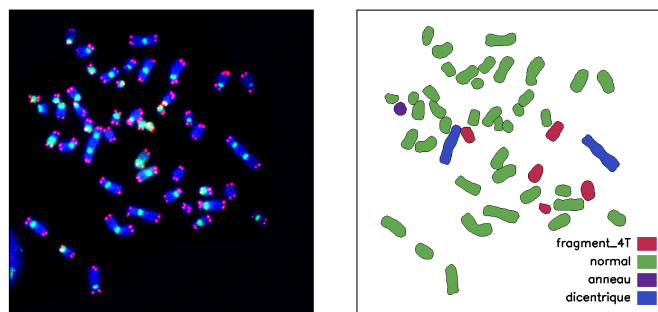
résultats (Fig.6), avec des performances similaires sur tous les ensembles de tests, y compris le DB3 plus diversifié, il est possible d'améliorer les scores IoU.

À titre de comparaison, les résultats de [15] rapportent des scores IoU de 94,7 % à 99,97 % avec une architecture U-Net sur des images DAPI synthétiques, grâce à la qualité contrôlée des données. En revanche, nos données réelles, plus variables et affectées par des facteurs comme le bruit et l'éclairage, posent des défis supplémentaires, qui ne sont pas pris en compte dans ces bons résultats.

3.4 Performances de la méthode

Nous avons évalué les performances de notre approche globale en prenant en compte à la fois la détection et la segmentation : une non-détection marque le chromosome correspondant comme une segmentation entièrement négative, et les segmentations ne sont effectuées que sur les chromosomes correctement détectés.

En combinant les deux réseaux, nous obtenons sur notre ensemble de test avec 1 150 chromosomes, une précision de 98.2%, un rappel de 99.5% et un F1-score de 98.8% (voir Fig. 4).



(a) Image avec les canaux DAPI (B), FITC (G), SpO (R).

(b) Image segmentée.

FIGURE 4 : Résultat de la segmentation : (a) métaphase avec coloration des télomères et des centromères, et les chromosomes sont contre-colorés avec DAPI; (b) individualisation de tous les chromosomes après notre processus de segmentation, avec une attribution de couleurs spécifique à chaque classe de chromosomes.

4 Conclusion

L'application de deux réseaux successifs dans notre étude a donné des résultats prometteurs. En combinant YOLO pour la détection initiale des chromosomes et U-Net pour la segmentation fine, nous avons obtenu une bonne précision dans l'identification et la caractérisation des chromosomes et des aberrations sur des images cytogénétiques complexes. Cette approche a permis de surmonter les défis liés à la variabilité de la taille et de la forme des chromosomes.

Dans la suite de nos travaux, nous prévoyons d'améliorer la précision de nos réseaux et d'explorer d'autres stratégies. Certaines images de métaphases sont inutilisables en raison du flou ou de chromosomes collés, nous souhaitons donc classifier ces images afin d'éliminer celles de mauvaise qualité. Enfin, nous envisageons de combiner notre approche avec la coloration mFISH en complément du marquage actuel afin de classifier le numéro des chromosomes et d'automatiser l'établissement du caryotype.

Références

- [1] H. CAO *et al.* : Segmentation of M-FISH Images for Improved Classification of Chromosomes With an Adaptive Fuzzy C-means Clustering Algorithm. *IEEE Trans. Fuzzy Syst.*, 20(1):1–8, février 2012.
- [2] R. EILS *et al.* : An optimized, fully automated system for fast and accurate identification of chromosomal rearrangements by multiplex-FISH (M-FISH). *Cytogenet Genome Res*, 82(3-4):160–171, 1998.
- [3] Kaiming HE *et al.* : Deep residual learning for image recognition. *In Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*, pages 770–778, 2016.
- [4] P. KARVELIS *et al.* : Enhancement of the classification of multichannel chromosome images using support vector machines. pages 3601–3604, septembre 2009.
- [5] Tsung-Yi LIN *et al.* : Microsoft coco : Common objects in context. *European conference on computer vision (ECCV)*, pages 740–755, 2014.
- [6] Tsung-Yi LIN *et al.* : Focal Loss for Dense Object Detection. 2017.
- [7] Wei LIU *et al.* : SSD : Single Shot MultiBox Detector. 2015.
- [8] Radhia M'KACHER *et al.* : New tool for biological dosimetry : Reevaluation and automation of the gold standard method following telomere and centromere staining. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 770:45–53, 2014.
- [9] J. PIPER *et al.* : Automation of chromosome analysis. *Signal Processing*, 2(3):203–221, juillet 1980.
- [10] E. POLETTI *et al.* : A review of thresholding strategies applied to human chromosome segmentation. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 108(2):679–688, novembre 2012.
- [11] Joseph REDMON *et al.* : You only look once : Unified, real-time object detection. pages 779–788, 2016.
- [12] Shaoqing REN *et al.* : Faster R-CNN : Towards real-time object detection with region proposal networks. 2015.
- [13] Olaf RONNEBERGER *et al.* : U-Net : Convolutional Networks for Biomedical Image Segmentation. 2015.
- [14] Mark SANDLER *et al.* : MobileNetV2 : Inverted residuals and linear bottlenecks. *In Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition*, pages 4510–4520, 2018.
- [15] X. SUN *et al.* : Segmentation of overlapping chromosome images using U-Net with improved dilated convolutions. *IFS*, 40(3):5653–5668, mars 2021.
- [16] P. WANG *et al.* : Enhanced rotated mask r-cnn for chromosome segmentation. pages 2769–2772, novembre 2021.
- [17] N. XIE *et al.* : Statistical Karyotype Analysis Using CNN and Geometric Optimization. *IEEE Access*, 7:179445–179453, 2019.
- [18] Yutong XIE *et al.* : Attention mechanisms in medical image segmentation : A survey. *arXiv preprint arXiv :2305.17937*, 2023.
- [19] Zongwei ZHOU *et al.* : UNet++ : A Nested U-Net Architecture for Medical Image Segmentation. 2018.