

МЕТОДЫ РАСПОЗНАВАНИЯ КОНЧИКОВ АСТРОЦИТОВ НА МИКРОСКОПИЧЕСКИХ СНИМКАХ

METHODS FOR RECOGNIZING ASTROCYTE TIPS IN MICROSCOPIC IMAGES

A. Egorchev
R. Gimadutdinov
A. Fahrutdinov
D. Chikrin
A. Aganov
M. Paveliev

Summary. The article discusses the use of various machine vision methods for finding astrocyte tips in microspike images. The methods based on the convex hull, the method based on the morphological skeleton, and the method based on machine learning (neural networks) are considered. The results of the methods are studied, and conclusions are drawn based on the results of the methods. The results of the neural network turned out to be close to the results of the morphological skeleton method, and a conclusion is made about the prospects for its use on larger data sets.

Keywords: machine vision, machine learning, neural networks, processing of microscopic images, medical image analysis, astrocyte analysis, perineuronal networks.

Егорчев Антон Александрович

кандидат технических наук, директор, ФГАОУ ВО
«Казанский (Приволжский) федеральный университет»
anton@egorchev.ru

Гимадудтинов Рустем Маратович

аспирант, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет»
RuMGimadutdinov@stud.kpfu.ru

Фахрутдинов Адель Фердинантович

ведущий инженер-программист, ФГАОУ ВО «Казанский
(Приволжский) федеральный университет»
timvaz@yandex.ru

Чикрин Дмитрий Евгеньевич

кандидат технических наук, доцент, директор,
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет»
dmitry.kfu@ya.ru

Аганов Альберт Вартамович

Доктор физико-математических наук, профессор,
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский)
федеральный университет»
Albert.Aganov@kpfu.ru

Павельев Михаил Николаевич

кандидат технических наук, научный сотрудник,
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный
университет» paveliev@outlook.com

Аннотация. В статье рассматривается применение различных методов машинного зрения для нахождения кончиков астроцитов на микроскопических снимках. Рассмотрены методы на основе выпуклой оболочки, метод на основе морфологического скелета, метод на основе машинного обучения (нейросети). Исследованы результаты работы методов, получены выводы по результатам работы методов. Результаты работы нейронной сети получились близкими к результатам метода морфологического скелета, сделан вывод о перспективах ее использования на увеличенных наборах данных.

Ключевые слова: машинное зрение, машинное обучение, нейросети, обработка микроскопических снимков, анализ медицинских изображений, анализ астроцитов, перинейрональные сети.

Введение и постановка задачи

Создание программных средств для количественного анализа микроструктуры астроцитов в гистологических срезах мозга открывает возможность для широкомасштабного исследования роли астроцитов и их морфологических изменений в эпилепсии и ряде других заболеваний головного мозга [1]. В частности, распознавание отростков астроцитов позволит автоматически детектировать их колокализацию с перинейрональными сетями и синаптическими маркерами как воз-

буждающих, так и тормозных синапсов и, таким образом, количественно исследовать роль астроцитов в четырехкомпонентной структуре синапсов головного мозга в норме и патологии [2]. Кроме того, такие программные средства могут дать возможность детектировать гипертрофию тел клеток реактивных астроцитов, а также изменения структуры GFAP-положительного цитоскелета в моделях эпилепсии и других патологий мозга, а затем перейти к исследованию этих изменений морфологии в тканях мозга пациентов с различными формами астроглиоза [3].

Рассматривается задача распознавания кончиков астроцитов на перифокальных микроскопических снимках срезов мозга мышей. Требуется по исходному бинаризованному изображению т.е. маске астроцита распознать все его кончики. В примере на рис. 1 (б) показаны кончики астроцитов, которые требуется найти на исходном изображении микроскопического снимка астроцита (а).

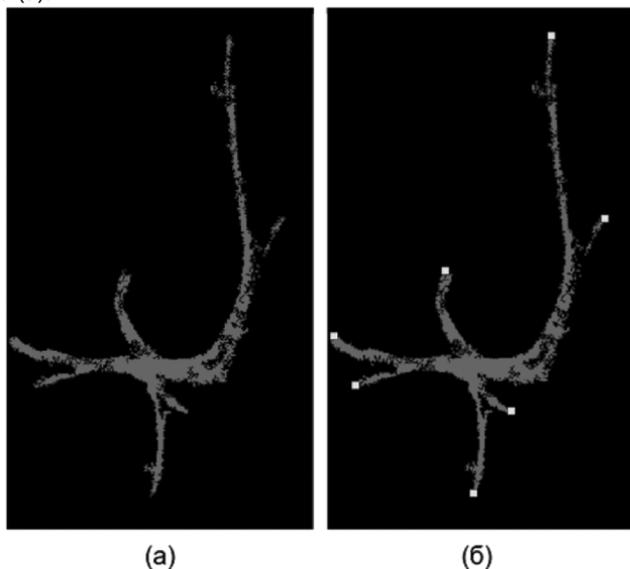


Рис. 1. (а) — исходное бинаризованное изображение астроцита, (б) — выделенные кончики астроцитов

Метод на основе выпуклой оболочки



Рис. 2. Визуализация работы алгоритма

Данный метод выделения кончиков астроцитов был реализован на языке Python с применением библиотеки алгоритмов компьютерного зрения OpenCV. Работает он следующим образом. Поскольку маска астроцита не всегда представляет собой связную фигуру и может содержать некоторые разрывы, то в первую очередь производится морфологическая операция дилатации

ядром 5x5 из единиц и затем применяется операция эрозии ядром 3x3 из единиц. После данных операций бинарное изображение астроцита становится более цельной и замкнутой фигурой. Далее на получившемся изображении выполняется извлечение контуров с помощью функции `findContours` из OpenCV и из выделенных ею контуров выбирается один контур, который имеет наибольшую площадь. После этого, с помощью функции `convexHull` строится выпуклая оболочка максимального контура, на рис. 2 вершины выпуклой оболочки показаны белым цветом, а границы самой выпуклой оболочки — светло-серым.

На рис. 3 представлены примеры результатов работы данного алгоритма на имеющемся наборе данных бинарных изображений астроцитов, белыми точками отмечены кончики астроцитов. Как можно заметить, обнаруживаются около половины кончиков астроцитов, что объясняется тем, что данный метод способен обнаруживать только внешние кончики, то есть лежащие на выпуклой оболочке.

Метод на основе морфологического скелета

Данный метод выделения кончиков основывается на анализе морфологического скелета астроцита. Скелетизацией называется процесс уменьшения толщины исследуемого объекта на изображении до одного пикселя. Такое однопиксельное представление объекта, называемое морфологическим скелетом, полезно при исследовании топологии объекта. Построение морфологического скелета позволяет отделить сам объект от его графического представления, сохраняя его структуру [5]. Одним из популярных алгоритмов для построения морфологических скелетов является алгоритм Зонга-Суня [6], который делая последовательные проходы изображения, удаляет граничные пиксели при условии, что они не нарушают связность объекта.

Чтобы получить скелет исследуемого астроцита, он должен представлять собой связную фигуру без разрывов, поэтому сначала выполняется морфологическая операция дилатации ядром 13x13 из единиц, затем операция эрозии ядром 11x11 из единиц, после чего дополнительно выполняется медианное размытие ядром 5x5 с последующей бинаризацией, чтобы сделать линии более гладкими, что уменьшает количество лишних веток при скелетизации. Далее, выполняется, собственно, скелетизация преобразованного изображения. Была использована функция `skeletonize` из библиотеки `scikit-image` является реализацией алгоритма скелетизации Зонга-Суня. После того как морфологический скелет астроцита получен, по нему достаточно просто определить кончики. Поскольку скелет имеет толщину, равную одному пикселю, то его концами являются такие принадлежащие ему пиксели, у которых в окрестности

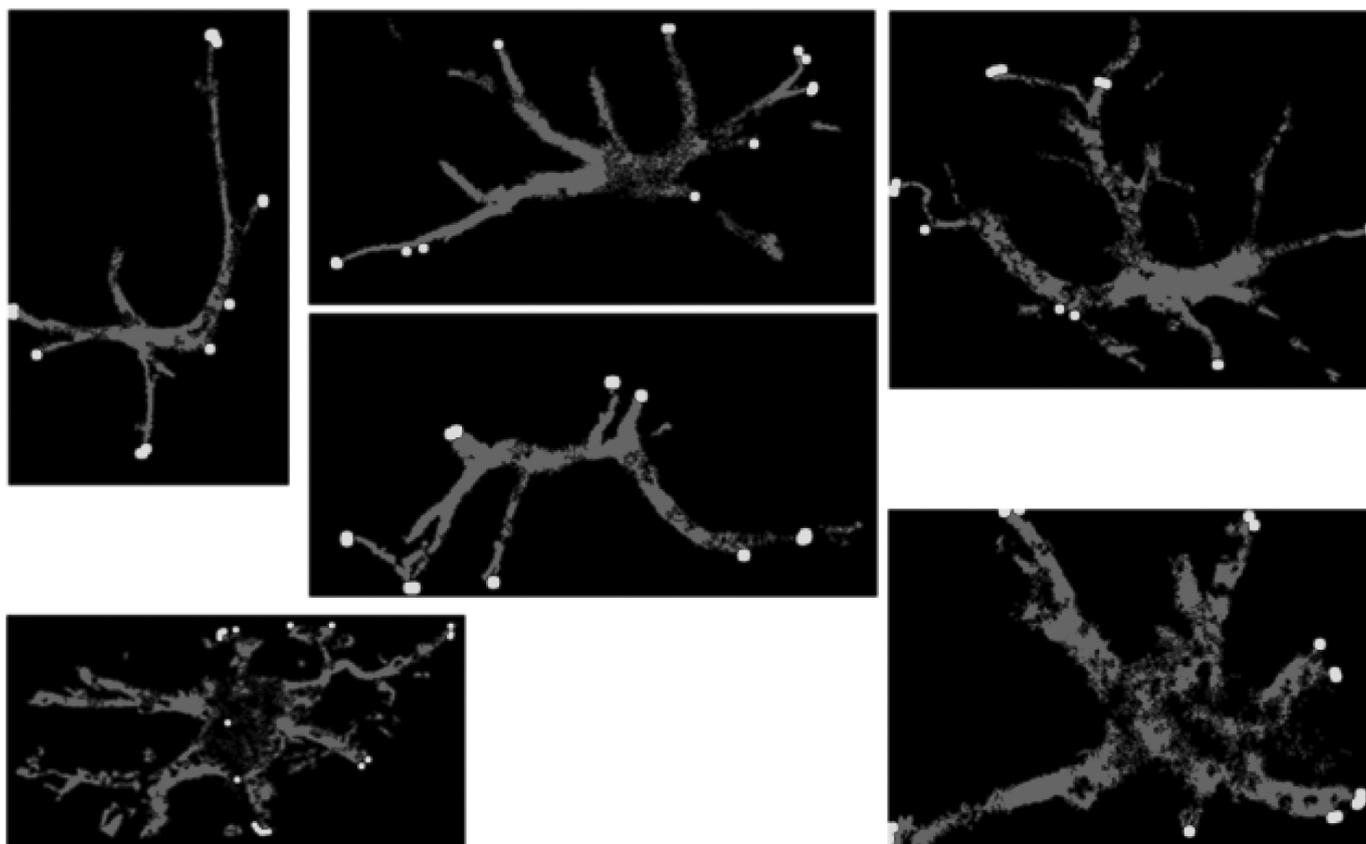


Рис. 3. Результаты работы метода

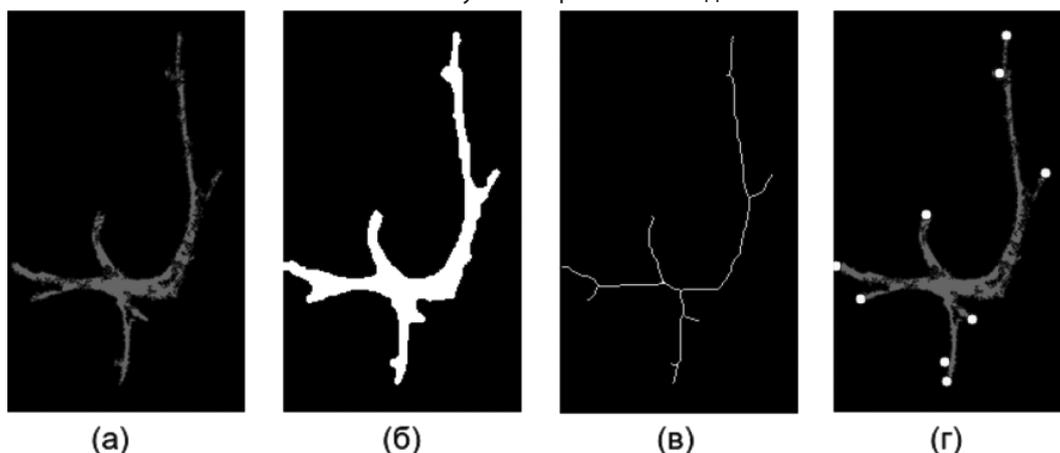


Рис. 4. Этапы работы метода. (а) — исходное изображение астроцита, (б) — изображение после предварительной обработки, (в) — морфологический скелет астроцита, (г) — результат работы алгоритма

из 8 смежных с ними по стороне и по диагонали пикселей только один пиксель принадлежит скелету.

На рис. 5 показано сравнение метода выделения кончиков астроцитов на основе выпуклой оболочки и метода на основе морфологического скелета. Как можно видеть на рисунке, метод на основе морфологического скелета, в отличие от первого метода, способен распознавать «внутренние» кончики астроцитов, то есть те, которые не выходят за пределы выпуклой оболочки. Кроме того, видно, что метод на основе морфологического

скелета не допускает ложных срабатываний там, где они есть у первого метода, однако, может находить кончики там, где их нет, из-за дефектов построенного морфологического скелета.

На рис. 6 представлены примеры результатов работы данного алгоритма на наборе данных бинарных изображений астроцитов, кончики астроцитов отмечены красными точками. Как можно визуально заметить, больше половины кончиков астроцитов успешно обнаруживаются, поскольку теперь, в отличие от метода на основе

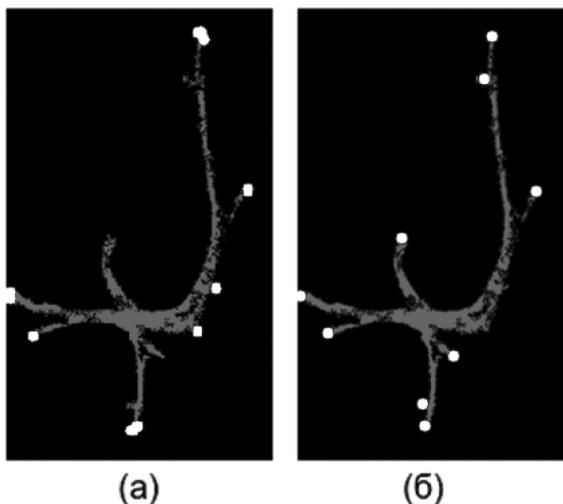


Рис. 5. Сравнение работы двух методов на примере.
 (а) — результат метода на основе выпуклой оболочки,
 (б) — результат метода на основе морфологического скелета

выпуклой оболочки, внутренние кончики обнаруживаются.

Метод на основе машинного обучения

Задачу обнаружения кончиков астроцитов можно отнести к общей задаче обнаружения объектов (object detection) компьютерного зрения. Для этой задачи существует множество методов машинного обучения с учителем. Таким образом, чтобы применить их нужно предварительно разметить исходные данные с помощью некоторого метода компьютерного зрения без учителя, либо вручную. Методы детекции объектов делятся на два подхода — двухстадийные и одностадийные. В двухстадийных методах процесс детекции объектов состоит из двух этапов: выделения областей интереса, и, собственно, детекции объектов на областях интереса, и эти задачи выполняют разные нейросети. В методах одностадийной детекции обнаружения всех объектов происходит за одной проход по нейросети.

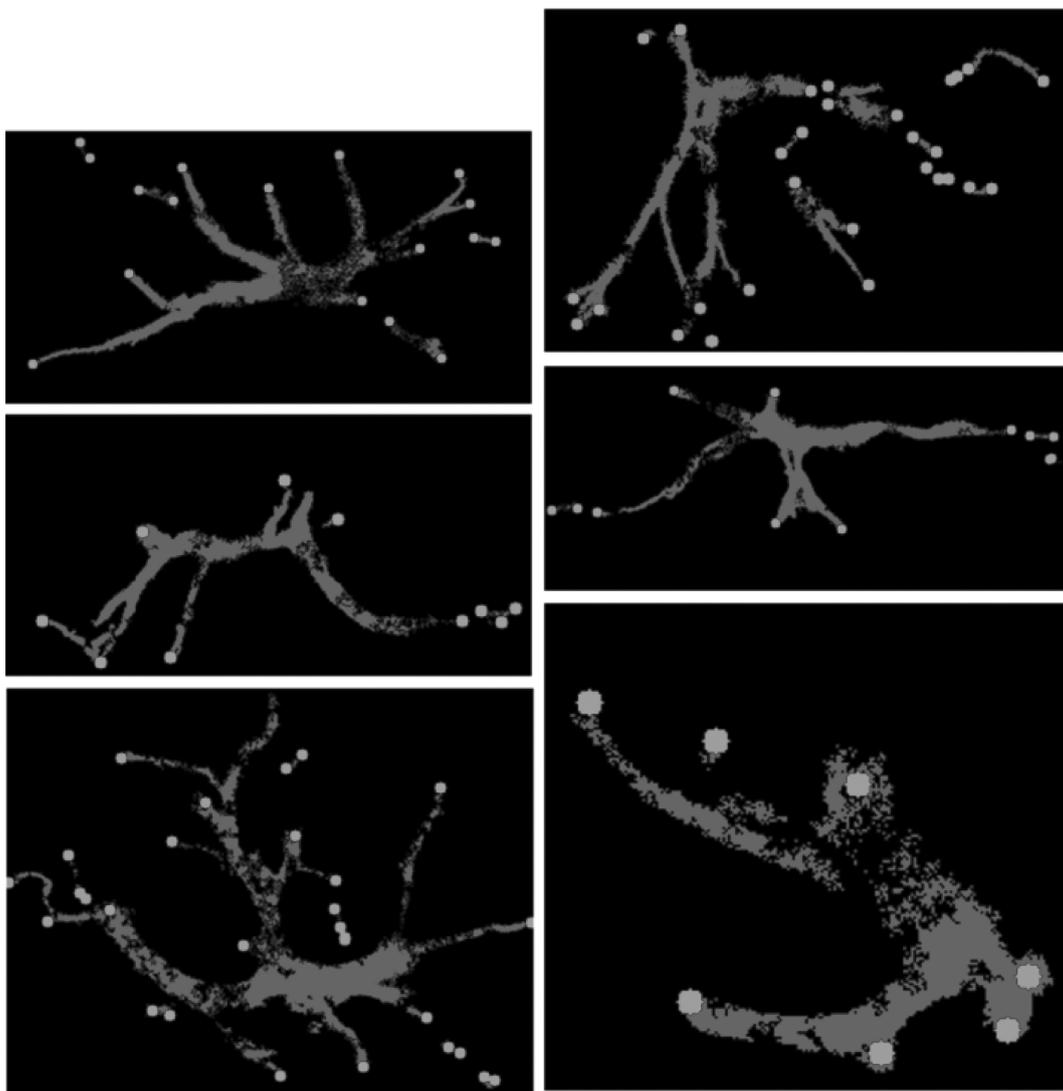


Рис. 6. Результаты работы метода

Представленная на рис. 7 используемая в данном методе архитектура нейронной сети работает следующим образом. Исходное изображение проходит через 9 слоев свертки и 6 слоев операции максимальной подвыборки, в результате чего получаются карты признаков размера 20x20 и 40x40, причем карта признаков 40x40 получается путем слияния информации с картой признаков 13x13, что позволяет получить больше значимой информации из исходного изображения. В карте признаков каждый элемент карт признаков соответствует определенной области на исходном изображении. Для каждого элемента итоговой карты признаков предсказываются смещения относительно 6 т.н. якорей — заранее определенных прямоугольных форм. Каждое предсказание области определяется $5*6+C$ числами, это: смещения координат центра, высоты и ширины предсказываемой прямоугольной области относительно якоря, вероятность наличия объекта и вектор вероятностей принадлежности объекта к каждому из C распознаваемых моделью классов. Итоговая вероятность, например наличия машины в прямоугольнике считается как условная ве-

роятность P (машина|есть объект). В результате получается множество прямоугольников, и нужно отбросить лишние, поэтому сначала прямоугольники отбрасываются по порогу: рассматриваются только те, у которых вероятность наличия объекта больше или равна пороговой. Далее используется метод Non Maximum Supression, который работает следующим образом. Находятся группы пересекающихся прямоугольников одного класса, из группы выбирается прямоугольник с максимальной вероятностью, далее для всех пересекающихся с ним прямоугольников считается IoU (Intersection over Union) т.е. отношение пересечения к объединению, и из этих прямоугольников отбрасывается те, которые имеют IoU выше некоторого порога. Полученные таким образом оставшиеся ограничивающие прямоугольники представляют собой результаты работы модели [8, 9].

Для разметки кончиков астроцитов на исходных бинарных изображениях был использован Метод 2 выделения кончиков астроцитов на основе анализа морфологического скелета. Поскольку для используемой

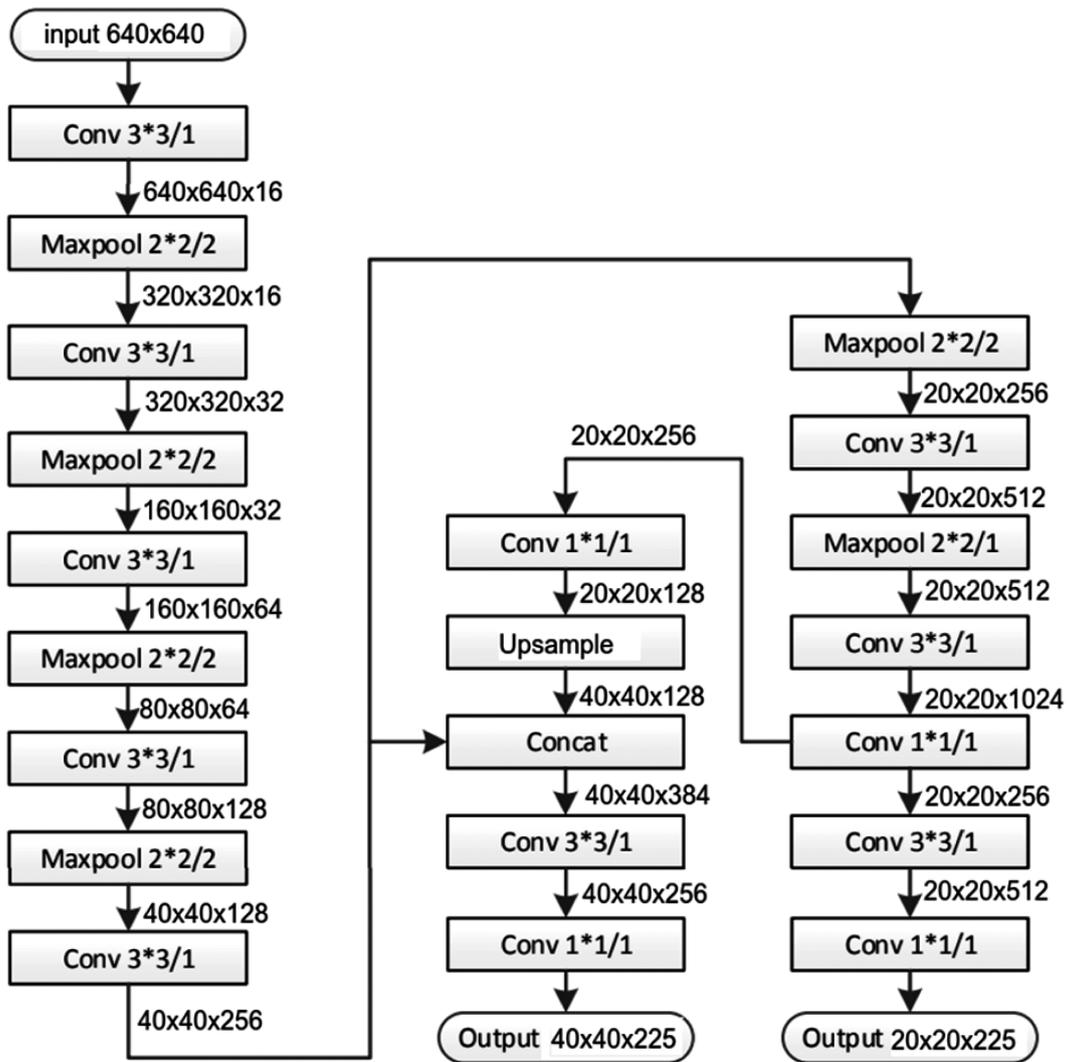


Рис. 7. Архитектура нейросети для обнаружения объектов

архитектуры обнаружения объектов, объекты нужны как некоторые области, а не как точки, то кончики выделяют в прямоугольные области размером 20x20 пикселей с центрами в точках кончиков астроцитов, определенных Методом 2. Пример из размеченного таким образом набора данных показан на рис. 8 кончики астроцитов обведены серыми прямоугольниками.

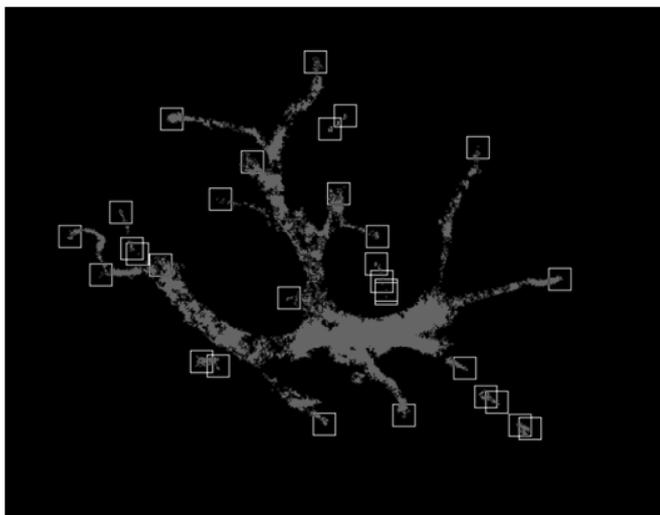


Рис. 8. Визуализация примера из набора данных

Всего в наборе данных 26 изображений, разбитых в соотношении 80 % (20 шт.) на обучающую выборку и 20 % (6 шт.) на тестовую выборку. Это относительно небольшое количество данных для обучения нейросетевой архитектуры детектирования объектов, однако подходящее для проверки применимости метода; в дальнейших исследованиях планируется увеличить обучающую выборку на порядок. Набор данных был сформирован в формате *ultralytics yolo*, и состоит из папки *images*, где находятся исходные маски, и папки *labels*, где лежат соответствующие *txt* файлы для каждого изображения, содержащие координаты прямоугольных областей всех отмеченных астроцитов на изображении.

В качестве инструмента была выбрана предобученная модель *YOLOv3-tiny* из фреймворка решения задач детектирования объектов *Ultralytics*, которая представляет собой реализацию описанной в данном разделе архитектуры для обнаружения объектов. Модель была дообучена в 100 эпох на подготовленном датасете. Дообучение заняло 2 минуты на видео ускорителе *NVIDIA RTX 4060m*. После того как модель была обучена, она была протестирована на 6 изображениях из тестовой части набора данных. Минимальный порог уверенности при детектировании объекта был установлен равным 0.3. На рис. 9 представлены результаты данного тести-

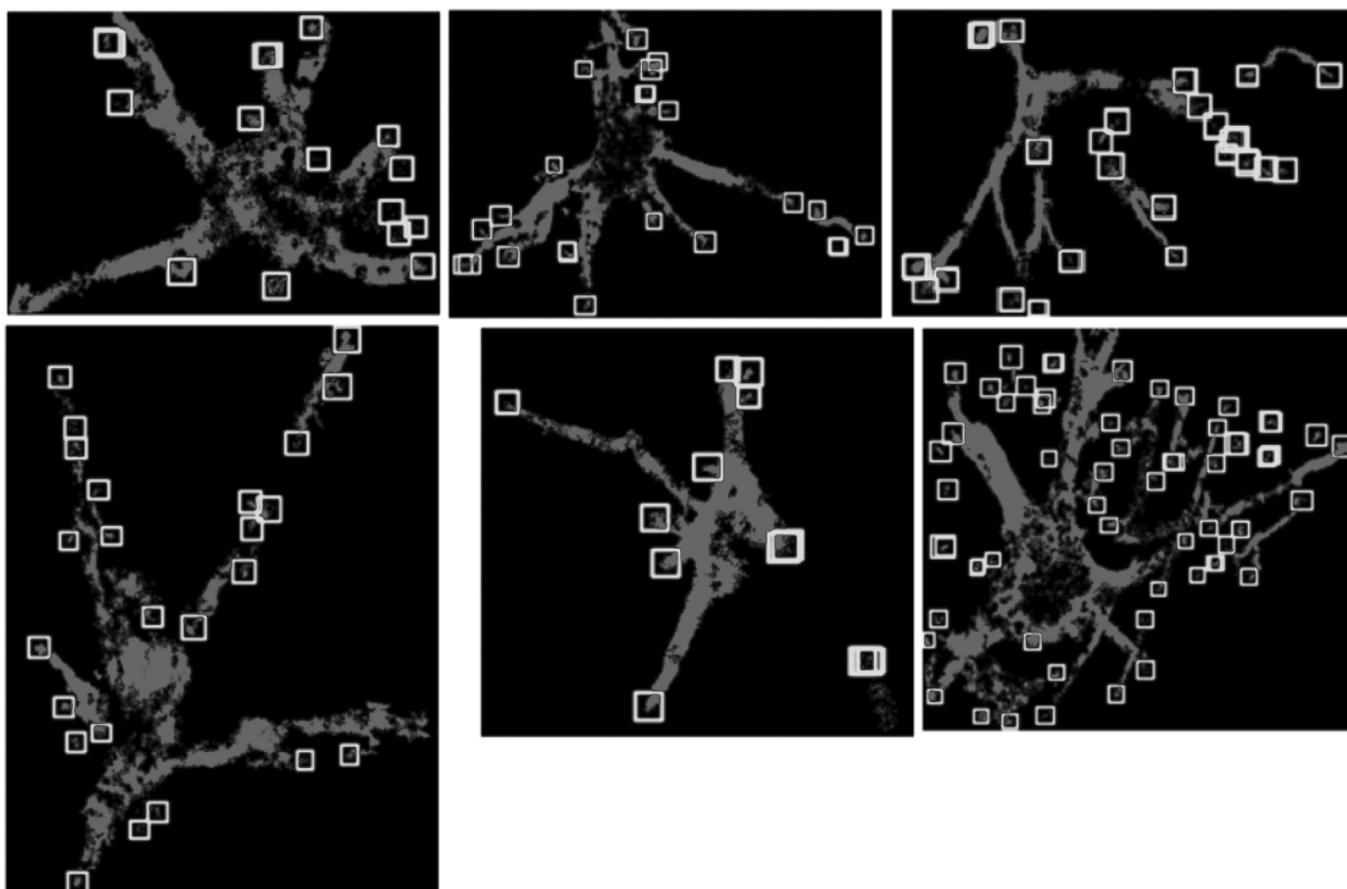


Рис. 9. Результаты тестирования обученной модели

рования модели, как видно, они близки к тем, что были полученным методом морфологического скелета, с помощью которого готовилась обучающая выборка.

Распознавание кончиков астроцитов на исходном микроскопическом снимке

Данный метод состоит в обучении архитектуры детектирования объектов из Метода 3 на исходных микроскопических снимках тех же астроцитов, маски которых использовались ранее. В предыдущих методах использовались только бинарные маски астроцитов, выделенные экспертами из определенных слоев конфокального стака. В исходных данных для каждого астроцита есть конфокальный стак снимков, где заснят именно этот астроцит, но при разной глубине проникновения микроскопа. Таким образом на разные слои стака попадают какие-то части астроцита но на некоторых снимках, обычно расположенных около середины стака астроцит виден максимально, это можно видеть на рис. 10 на слое 16, с него и была получена бинарная маска астроцита. Идея данного метода состоит в том, чтобы использовать набор данных.

Как и в методе 3, в качестве инструмента реализации применена предобученная модель YOLOv3-tiny из фреймворка Ultralytics. Модель была дообучена в 100

эпох на подготовленном датасете. До обучение заняло 2 минуты на видео ускорителе NVIDIA RTX 4060m. После того как модель была обучена, она была протестирована на 6 изображениях из тестовой части набора данных. Минимальный порог уверенности при детектировании объекта был установлен равным 0.15. На рис. 11 представлены результаты работы обученной модели на тестовой выборке. Результаты так же, как и в методе 3 близки к результатам работы метода на основе морфологического скелета, однако тот факт что порог уверенности стал ниже, говорит о том что обнаружение кончиков на исходных микроскопических снимках является более трудной задачей и требует большего объема данных для обучения, чем при использовании бинаризованных изображений астроцитов.

Выводы

Исследованы различные методы для решения задачи распознавания кончиков астроцитов на периферических микроскопических снимках. Исследованы два классических подхода к распознаванию кончиков: на основе выпуклой оболочки и на основе морфологического скелета. Метода на основе морфологического скелета показал результаты лучше и смог обнаруживать более половины кончиков астроцитов, в то время как первый метод на основе выпуклой оболочки показал неудовлет-

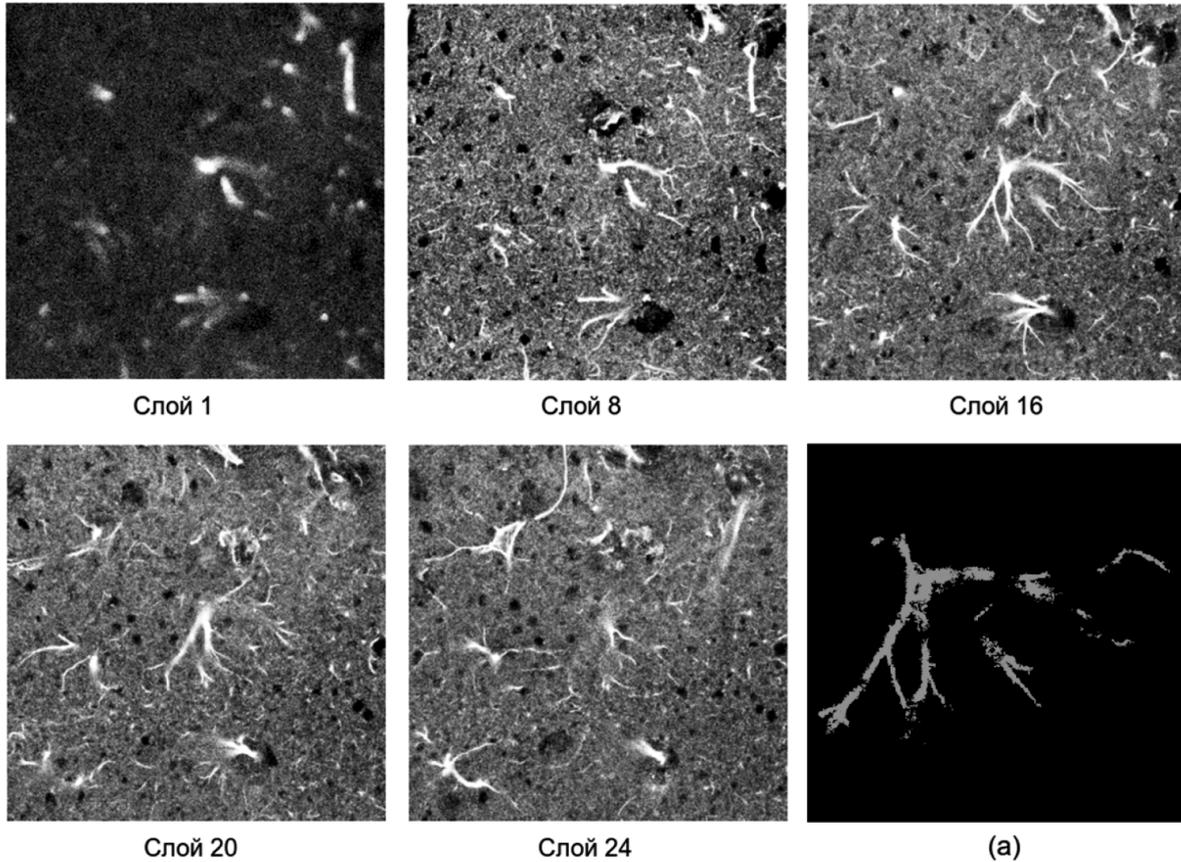


Рис. 10. Слои конфокального стака изображений астроцитов; (a) — экспертная маска данного астроцита

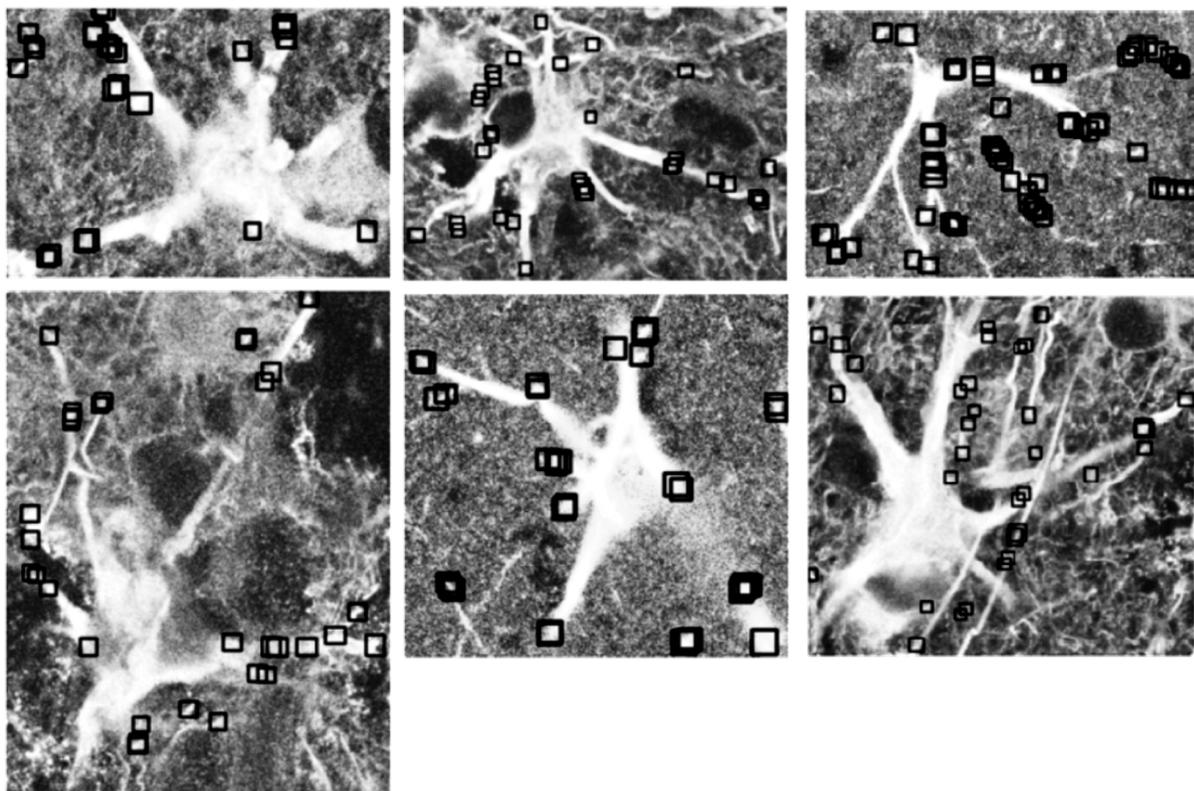


Рис. 11. Результаты работы обученной модели

ворительные результаты в силу того, что он пропускает внутренние, то есть лежащие внутри выпуклой оболочки, кончики астроцитов, в результате чего большая часть кончиков остаются нераспознанными. С помощью разработанного метода выделения кончиков астроцитов на основе морфологического скелета был подготовлен обучающий набор данных для следующего метода —

с использованием машинного обучения. в частности глубокой сверточной нейронной сети для обнаружения объектов. Результаты работы нейронной сети оказались близкими к результатам второго метода, из чего можно сделать вывод о перспективах ее использования на увеличенных наборах данных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Verkhatsky A, Butt A, Li B, Illes P, Zorec R, Semyanov A, Tang Y, Sofroniew MV. Astrocytes in human central nervous system diseases: a frontier for new therapies. *Signal Transduct Target Ther.* 2023 Oct 13;8(1):396. doi: 10.1038/s41392-023-01628-9.
2. A. Dityatev and D.A. Rusakov, "Molecular signals of plasticity at the tetrapartite synapse," *Curr. Opin. Neurobiol.*, vol. 21, no. 2, pp. 353–359, Apr. 2011, doi: 10.1016/j.conb.2010.12.006.
3. Kim J, Yoo I.D, Lim J, Moon J.S. Pathological phenotypes of astrocytes in Alzheimer's disease. *Exp Mol Med.* 2024 Feb;56(1):95-99. doi: 10.1038/s12276-023-01148-0.
4. Soumi Paul, Shrouti Gangopadhyay, Ayatullah Faruk Mollah, Subhadip Basu & Mita Nasipuri, Convexity Defects-Based Fingertip Detection and Hand Gesture Recognition, *Proceedings of International*
5. Моделирование распознавания рукописного текста на основе скрытых марковских моделей: монография / И.Я. Львович, Я.Е. Львович, А.П. Преображенский [и др.]. — Воронеж: ВИБТ, 2016. — ISBN 978-5-4446-0838-8, С. 45.
6. Zhang T.Y. A Fast Parallel Algorithm for Thinning Digital Pat-terns [Text] / T.Y. Zhang, C.Y. Suen // *Communications of the ACM*, vol. 27, no. 3, 1984, P. 236–239.
7. Обработка изображений и управление в системах автоматического обнаружения и сопровождения объектов: учебное пособие / Б.А. Алпатов, П.В. Бабаян, О.Е. Балашов, А.И. Степашкин. — Рязань: РГРТУ, 2011. — 234 с.
8. Joseph Redmon, Santosh Divvala, Ross Girshick, Ali Farhadi You Only Look Once: Unified, Real-Time Object Detection, 2016 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition.
9. Adarsh, P., Rathi, P., & Kumar, M. (2020). YOLO v3-Tiny: Object Detection and Recognition using one stage improved model. 2020 6th International Conference on Advanced Computing and Communication Systems (ICACCS), 687–694.

© Егорчев Антон Александрович (anton@egorchev.ru); Гимадутинов Рустем Маратович (RuMGimadutdinov@stud.kpfu.ru); Фахрутдинов Аделъ Фердинантович (timvaz@yandex.ru); Чикрин Дмитрий Евгеньевич (dmitry.kfu@ya.ru); Аганов Альберт Вартавович (Albert.Aganov@kpfu.ru); Павельев Михаил Николаевич (paveliev@outlook.com)
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»