

ДЕТЕКЦІЯ КОЛОЇДНИХ ГЕЛЕВИХ СТРУКТУР НА МІКРОСКОПІЧНИХ ЗОБРАЖЕННЯХ

К. А. Каюк¹, О. А. Яворський¹

¹ Навчально-науковий Фізико-технічний інститут

Анотація

На відміну від сегментації клітин, яка активно розвивається, наразі не існує загальноприйнятого підходу саме для детекції гелю в біомедичних зображеннях. Ця задача є технічно складною через неоднорідність зображень і відсутність чітких візуальних критеріїв для виділення гелевих утворень. Така складність зумовила розробку двогілкового алгоритму обробки, що дозволяє незалежно аналізувати клітинні елементи та гелеву основу. Розроблений підхід демонструє високу точність, достатню для подальшого просторового аналізу гелевих структур.

Ключові слова: сегментація, гелеві структури, клітини, контури, кластеризація.

Вступ

Проблема автоматизованої сегментації гелевих структур на мікроскопічних зображеннях є однією з актуальних у сучасній біоінформатиці та цифровій морфометрії через складність виділення об'єктів у неоднорідних, часто зашумлених умовах. Значна частина існуючих рішень у галузі аналізу біологічних зображень, таких як *CellProfiler* [1] чи *Cellpose* [2], сконцентрована на точному виділенні клітинних структур, передусім ядер, мембран або цитоплазми. Глибокі нейронні мережі, включно з архітектурами на кшталт UNet++ [3] або *nucleAIzer* [4], значно просунулись у задачах сегментації в медичних та біологічних зображеннях, проте здебільшого тренувалися на даних з чіткими контурами об'єктів і однорідною текстурою.

Однак сегментація навколишніх структур, таких як **гель**, що оточує клітини в тканинних або лабораторних зразках, залишається методологічно складною задачею. Колоїдні гелі – це багатокомпонентні системи, де тверді наночастинки або біомолекули зібрані в тривимірну сітчасту структуру, заповнену рідиною. Вони активно використовуються в біологічних дослідженнях, зокрема як *матриці для клітинної культури*, середовища для *транспорту молекул*, моделювання *екстрацелюлярного матриксу*, а також у фармацевтичних і тканинно-інженерних застосуваннях. Відстеження морфології, щільності та просторової організації гелю має критичне значення для розуміння клітинно-матричної взаємодії, контролю мікрооточення клітин, а також для оцінки механічних властивостей середовища, в якому ці клітини ростуть і функціонують.

На відміну від клітин, гель зазвичай не має флуоресцентних міток або чітких меж, часто характеризується *неоднорідною текстурою*, слабким контрастом та змінним освітленням. Додаткові труднощі ство-

рює перекриття з клітинними структурами, артефакти зображення та варіативна якість вхідних даних. Такі особливості значно обмежують ефективність класичних методів обробки, заснованих на пороговій фільтрації чи контурному виділенні, а також ускладнюють застосування нейронних мереж без ретельного перенавчання.

На сьогодні відсутні загальноприйняті методи автоматизованої сегментації саме гелевих структур, що обумовлено відсутністю специфічних архітектур, оптимізованих під цю задачу. У відповідь на цю проблему, у даній роботі пропонується підхід, що поєднує методи попередньої обробки, сегментації та просторового аналізу, адаптований спеціально для виявлення колоїдних гелевих утворень у присутності клітин. Особливу увагу приділено тому, як виділяти такі малокоонтрастні області в умовах варіативної інтенсивності сигналу, структурної неоднорідності та перекриття з клітинними об'єктами.

Таким чином, основною метою даного дослідження є розробка і апробація підходу, який дозволяє автоматично ідентифікувати гелеві структури на світлопольних зображеннях з урахуванням складного морфологічного фону та присутності клітин. Запропоноване рішення базується на техніках аналізу зображень, таких як модифіковані сегментаційні алгоритми з обліком локального контексту, але переосмислює їх застосування в новому контексті – для задачі, де традиційна об'єктна модель втрачає ефективність. У цій роботі особливу увагу приділено тому, як за допомогою відповідної підготовки та трансформації вхідних даних можна адаптувати наявні інструменти сегментації до виявлення слабо-контрастних і структурно варіативних областей.

1. Експериментальна частина

У дослідженні аналізувалися мікроскопічні зображення клітин печінки, вирощених на гелевій основі та зафіксованих у світлому полі. Такі зображення поєднують три основні компоненти: скупчення клітин, зернисті гелеві структури та ділянки з фоновим шумом. Основне завдання – відокремити клітинну частину від гелю для подальшого морфометричного аналізу.

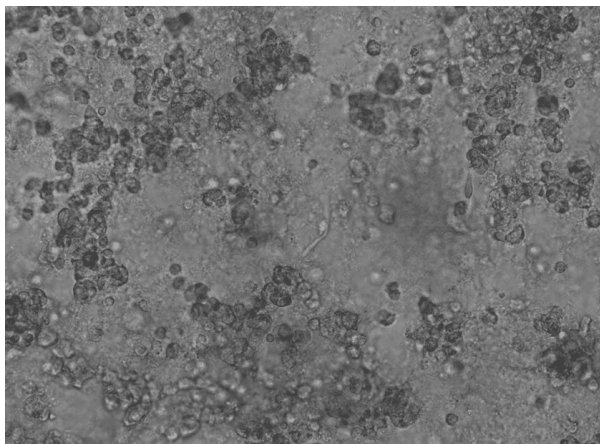


Рис. 1. Приклад вхідного зображення

1.1. Гілка 1: Виділення клітинної складової

Для сегментації клітин застосовувалась модель *Cellpose*, яка добре підходить для обробки зображень без спеціального фарбування. Щоб покращити якість виявлення клітин, зображення спочатку переводилося в градації сірого, оброблялося алгоритмом *Canny* для виявлення контурів та підсилювалося локальним контрастуванням методом *CLAHE*.

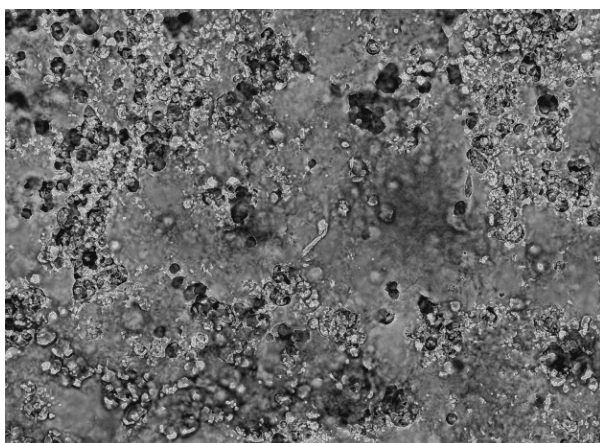


Рис. 2. Обробка, адаптована для сегментації клітин

Після цього межі клітин додатково акцентувалися шляхом зваженого поєднання контрастного зображення з картою контурів:

$$I_{\text{edges}} = \alpha \cdot I_{\text{enhanced}} + \beta \cdot I_{\text{canny}}, \quad \alpha = 0.8, \beta = 0.5.$$

Отримане зображення подавалося на вхід *Cellpose* із зазначенням середнього діаметра клітин (25 пікселів) та порогів для відсікання слабких меж. Результатом були бінарні маски, що точно окреслювали клітинні області.

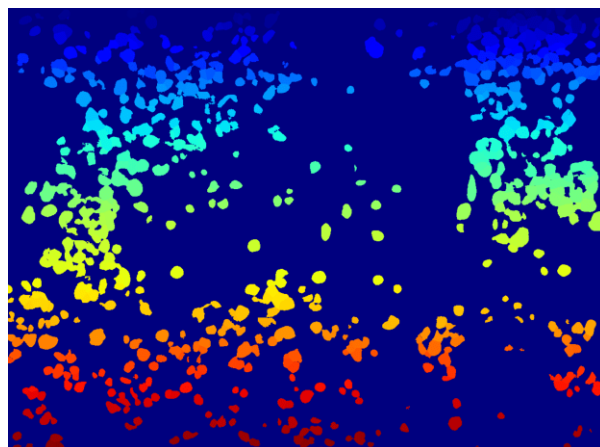


Рис. 3. Результат сегментації клітин

Маска клітин дозволяла виключити ці області з подальшого аналізу гелевої структури.

1.2. Гілка 2: Підготовка до виявлення зернистої структури гелю

Для аналізу гелю важливо було посилити слабо виражені варіації інтенсивності, характерні для його мікроструктури. З цією метою використовувалося адаптивне вирівнювання гістограми (*CLAHE*), після чого застосовувалося згладжування та підсилення контрасту за формулою:

$$I_{\text{sharpened}} = 1.5 \cdot I_{\text{equalized}} - 0.5 \cdot \text{GaussianBlur}(I_{\text{eq}}, \sigma = 3).$$

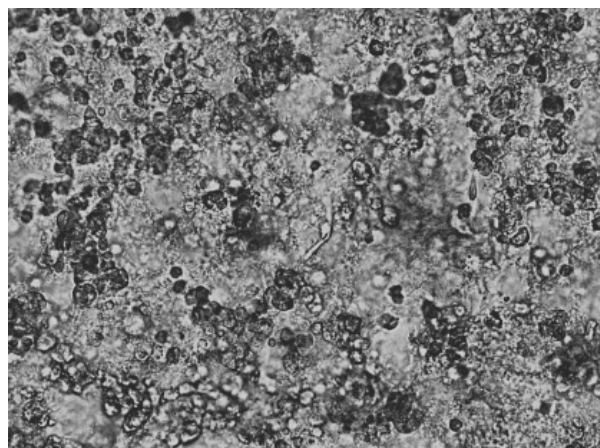


Рис. 4. Обробка, адаптована для виявлення зернистої структури гелю

Після завершення обробки на вихідне зображення накладається маска клітин, і всі відповідні пікселі видаляються. Порожні ділянки, що залишаються,

замінюються значеннями NaN. Таке зображення використовується як вхід для відслідковування структури гелю.

1.3. Обчислення зернистості гелю

Для кількісного опису зернистості будувалася карта локальної варіативності інтенсивності – з використанням стандартного відхилення в піксельному вікні 5×5 :

$$\sigma_{x,y} = \sqrt{\frac{1}{|W|} \sum_{(i,j) \in W} (I_{i,j} - \mu_W)^2}. \quad (1)$$

Потім формувалася бінарна маска зернистих ділянок, які мали найвищі значення варіативності (вище 85-го перцентиля):

$$G_{x,y} = \begin{cases} 1, & \text{якщо } \sigma_{x,y} > T \text{ і } I_{x,y} \in \text{фон гелю,} \\ 0, & \text{інакше,} \end{cases} \quad (2)$$

де T – адаптивний поріг.

1.4. Кластеризація зернистих ділянок

Отримана бінарна маска зернистості містить як потенційно цікаві гелеві структури, так і численні шумові пікселі, що не належать до жодної цілісної області, що можна побачити на рис. 5.

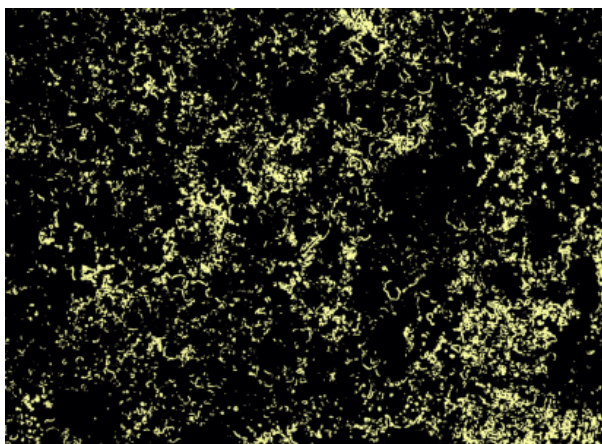


Рис. 5. Результат відслідковування зернистості гелю (бінарна карта)

Для виділення осмислених кластерів зернистості це зображення передається в алгоритм DBSCAN($\text{eps}=19, \text{min_samples}=200$).

Запропонований підхід дозволяє ефективно локалізувати ділянки гелю з вираженою структурою, відокремивши їх від клітин та фону, що відкриває можливість подальшого кількісного аналізу.

2. Результати

Початкове зображення (рис. 7) відображає мікроскопічну картину з високою щільністю клітин, зернистими ділянками гелю та нерівномірним освітленням. За таких умов візуальне виявлення гелевих структур



Рис. 6. Блок-схема повної обробки зображення для детекції гелевих структур

ускладнюється через перекриття клітин і наявність фонового шуму.

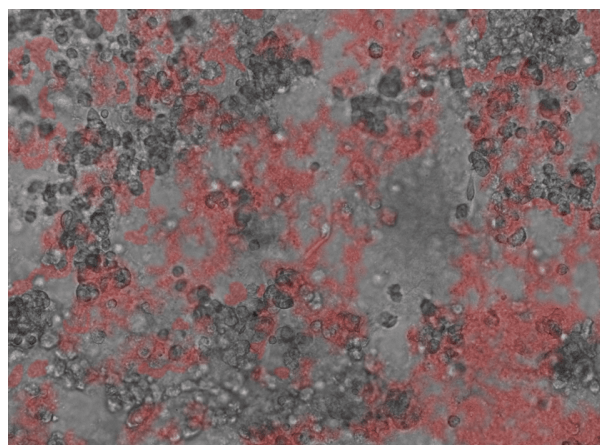


Рис. 7. Гелеві структури, відмічені на основі експертної розмітки

Результати повної обробки зображення подано на рис. 8. Зображення ілюструє кластеризовану карту, де кожен кластер позначено окремим кольором. Частина кластерів демонструє хорошу відповідність до реальних гелевих утворень, зокрема компактні зони зі сталою щільністю. Водночас виявлено також менші розсіяні скупчення, що свідчить про просторову різномірність структури гелю. Такий розподіл зумовлений локальними варіаціями в умовах полімеризації або неоднорідністю компонентів середовища.

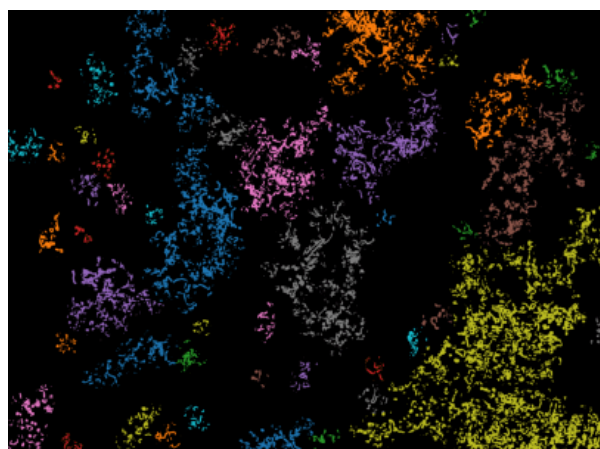


Рис. 8. Автоматично виявлені гелеві структури після обробки

Для оцінки точності виявлення структур використовувалась метрика Intersection over Union (IoU). Середнє значення IoU склало 87%, що свідчить про

високу точність методу. Решта 13% похибки пояснюється кількома чинниками: по-перше, обмеженою чутливістю моделі до фрагментованих або затемнених ділянок; по-друге, схожістю окремих фонових артефактів із гелевими структурами, що може спричинити помилкову класифікацію.

3. Висновки

У цьому дослідженні була поставлена проблема автоматичного виявлення гелевих структур на мікроскопічних зображеннях клітин печінки, вирощених на гелевій основі. Основна складність полягала у високій щільності клітинного шару, неоднорідному освітленні та фонових артефактах, що ускладнювали візуальне та алгоритмічне розділення клітинної й позаклітинної (гелевої) частин зображення. Враховуючи ці виклики, метою було створити підхід, що дозволив би надійно ізолювати клітини та провести подальший морфометричний аналіз гелю.

Для вирішення поставленого завдання було запропоновано двогілковий метод обробки. Перша гілка відповідала за виявлення та видалення клітинної складової, друга – за підсилення мікроструктур гелю та кластеризацію зернистих ділянок. Такий поділ дозволив ізолювати фонову гелеву матрицю для подальшого аналізу без впливу клітинної морфології.

Було реалізовано наступні етапи. Спершу, зображення переводилось у градації сірого, оброблялося за допомогою CLANE та оператора Canny для посилення клітинних контурів. Отримане зображення передавалось до моделі *Cellpose* зі специфікованими параметрами (середній діаметр клітин — 25 пікселів), що дозволило сформувати бінарні маски клітин. Виявлені клітини потім вилучались із зображення шляхом заміни відповідних пікселів на значення NaN.

У другій гілці обробки зображення з підсиленням контрастом та згладженими флуктуаціями використовувалося для обчислення карти локального стандартного відхилення в піксельному вікні 5×5 . Після нормалізації й визначення 85-го перцентилу інтенсивностей варіативності було сформовано бінарну карту зернистості. Щоб виокремити осмислені утворення гелю серед шуму, на цю карту було застосовано кластеризацію методом DBSCAN з параметрами `eps=19`, `min_samples=200`.

На виході було отримано методологію, що включає повну обробку зображення — від сегментації клітин до формування карти гелевих кластерів. Результати демонструють високу відповідність автоматично виявлених структур еталонній розмітці. Просторове розташування кластерів відображає внутрішню

неоднорідність гелевої матриці, яка виникає внаслідок локальних варіацій у полімеризації або розподілі компонентів середовища. Також виявлено крупні та щільні кластери, що можуть свідчити про специфічні механічні або фізико-хімічні умови в цих ділянках.

Для оцінки якості детекції було обрано метрику IoU, яка становить 87%, що свідчить про високу точність методу. Основні похибки спостерігались у зонах з фрагментованою або затемненою текстурою, де алгоритм втрачав чутливість, а також у випадках, коли фонові артефакти мали схожість з гелевими структурами.

У подальшому, необхідним кроком є додавання метрик оцінки якості методів обробки та вдосконалення підходу в напрямку покращення виявлення слабо виражених або фрагментованих структур. Крім того, запропонований підхід може бути адаптований для аналізу інших типів гелевих або тканинних матриксів, включно з тривимірними культурами. Подальше вдосконалення параметрів фільтрації, контрастного підсилення та кластеризації дозволить точніше відображати структурні особливості гелю та забезпечить надійне розділення його зон неоднорідності. Запропонована методологія, таким чином, формує основу для автоматизованого аналізу гелю як біологічного середовища й підтримує подальше вивчення взаємодій між матрицею та клітинною поведінкою.

Перелік використаних джерел

1. CellProfiler 3.0: Next-generation image processing for biology / C. McQuin, A. Goodman, V. Chernyshev, et al. // PLOS Biology. — 2018. — Т. 16, № 7. — e2005970. — DOI: [10.1371/journal.pbio.2005970](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2005970).
2. Cellpose: a generalist algorithm for cellular segmentation / C. Stringer, T. Wang, M. Michaelos, M. Pachitariu // Nature Methods. — 2021. — Т. 18, № 1. — С. 100—106. — DOI: [10.1038/s41592-020-01018-x](https://doi.org/10.1038/s41592-020-01018-x).
3. UNet++: A Nested U-Net Architecture for Medical Image Segmentation / Z. Zhou, M. M. R. Siddiquee, N. Tajbakhsh, J. Liang // Deep Learning in Medical Image Analysis and Multimodal Learning for Clinical Decision Support. — Springer, Cham, 2018. — С. 3—11. — DOI: [10.1007/978-3-030-00889-5_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-00889-5_1).
4. nucleAIzer: A parameter-free deep learning framework for nucleus segmentation using image style transfer / R. Hollandi, A. Szkalitsity, T. Toth, et al. // Cell Systems. — 2020. — Т. 10, № 5. — С. 453—458. — DOI: [10.1016/j.cels.2020.04.003](https://doi.org/10.1016/j.cels.2020.04.003).