

МЕТОДИКА ПОСТРОЕНИЯ КАРТЫ ПЛОТНОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЯДРЫШКОВЫХ СТРУКТУР НА ОСНОВЕ ДАННЫХ ЦИФРОВОЙ МИКРОСКОПИИ

К. С. Курочка¹, В. С. Ермашкевич¹, А. Л. Федорович²

¹Гомельский государственный технический университет имени П. О. Сухого,
Гомель, Беларусь, kurochka@gstu.by

²Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь,
alinafedorovich28082004@gmail.com

This paper deals with the technique of constructing a density map of distribution of nucleus structures in cells based on digital microscopy data using modern deep learning methods. Nucleus organisers, which are key chromosome sites for rRNA synthesis, play an important role in studying the proliferative activity of cells and their oncological transformation.

Введение

Изучение клеточных структур с использованием методов цифровой микроскопии и анализа изображений имеет важное значение для биомедицинских исследований, особенно в области онкологии. Одной из ключевых структур, играющих важную роль в клеточном метаболизме и пролиферации, являются ядрышковые организаторы (NOR, nucleolar organizer regions). Эти участки хромосом содержат гены, кодирующие рибосомальную РНК (рРНК), что делает их активность важным индикатором уровня синтеза рибосом и общей активности клетки. Увеличение количества ядрышковых организаторов в клетках свидетельствует о повышенной активности этих генов и, как следствие, ускоренном рибосомном биогенезе. Это является одним из признаков трансформации нормальных клеток в опухолевые и связано с их высоким метаболическим и пролиферативным потенциалом. Изучение изменений в структуре и количестве ядрышковых организаторов может быть важным диагностическим критерием при оценке злокачественных новообразований и прогнозировании их агрессивности.

Настоящая работа направлена на разработку методики построения карты плотности распределения ядрышковых структур на основе данных цифровой микроскопии с применением методов глубокого обучения. Предлагаемая методика дает возможность автоматизировать процесс анализа, что способствует улучшению диагностической точности и выявлению ранних признаков злокачественных изменений в клетках.

Роль ядрышковых организаторов в канцерогенезе и методика их определения с помощью нейронной сети

Ядрышковые организаторы, имеющие решающее значение для синтеза рибосомальной РНК, все чаще изучаются в онкологии благодаря их роли в биологии опухолей. Ядрышковые организаторы часто оценивают с помощью

таких методов, как окрашивание серебром (AgNOR staining), которое выявляет их связь с клеточной пролиферацией и злокачественностью. Исследования показали, что изменения в размере, количестве и организации ядрышковых организаторов могут быть использованы для оценки агрессивности различных видов рака, включая карциному молочной железы. Например, высокая вариабельность параметров AgNOR, таких как количество и размер, связана с более поздней стадией рака молочной железы [1].

Из ядрышковых организаторов развиваются ядрышки. Ядрышко – это комплекс белков и рибонуклеопротеидов, которые содержат гены рРНК. Количество ядрышек и ядрышковых организаторов в клетке может не совпадать. Ядрышко играет центральную роль в ответе клетки на различные типы стресса, что имеет ключевое значение в контексте онкологии. Поскольку оно участвует в биогенезе рибосом, этот процесс становится точкой регуляции при стрессе, так как рибосомное производство требует значительных энергетических затрат. При повреждении клетки, влияние стресса может изменить функцию и морфологию ядрышка, что может приводить к опухолевому росту.

Гипоксия (недостаток кислорода) в клетке вызывает стабилизацию гипоксиииндуцируемого фактора (HIF), который активирует гены, способствующие ангиогенезу и росту опухоли. Обычный механизм разрушения HIF нарушается, если он удерживается в ядрышке, что способствует опухолевой прогрессии.

Повреждение ДНК – одна из ключевых причин мутаций, которые могут вести к развитию рака. Ядрышко участвует в реакции на повреждение ДНК через активацию белка p53, который регулирует клеточный цикл, репарацию ДНК и апоптоз. Нарушения в этом механизме могут привести к некорректной регуляции клеточного цикла, что способствует опухолевой трансформации [2].

Для проведения анализа использовались снимки цифровой микроскопии в высоком разрешении из открытых источников. Разрешение снимков превышает 20000 пикселей, что делает задачу анализа затруднительной и ресурсоемкой. Определение объектов малого размера, а именно ядрышковых структур на снимках такого разрешения с помощью нейронной сети целиком невозможно из-за большого разрешения снимка и ограниченности контекста нейронной сети. В качестве решения данной проблемы может применяться разделение изображения на небольшие фрагменты. Для обеспечения высокой результативности обнаружения объектов малого размера необходимо перед обработкой минимизировать их разбиение на части, т.е. важно стремиться чтобы ни на одном из фрагментов, подаваемых на вход нейронной сети, объект не был разделен. Для достижения данной цели используется взаимное перекрытие фрагментов. Чем выше величина перекрытия, тем больших размеров объект может быть обнаружен без вероятности его разделения на части, что, однако потребует дополнительных вычислительных затрат [3]. Фрагмент размером 1024 на 1024 пикселей должен иметь достаточное коли-

чество мелких деталей и при этом быть довольно легковесным для работы нейронной сети. Для сохранения информации на границе фрагмента используется перекрытие 25%. Каждый такой фрагмент сохраняется отдельно, и вся работа с ним выполняется независимо от других. Данный подход имеет сходство с алгоритмом работы нейронной сети YOLO. Принцип её работы состоит в разбиении изображения на фиксированные области, в которых затем происходит поиск наличия объекта. Далее найденные ячейки идентифицируются как принадлежащие к разным объектам. Соседние ячейки, содержащие части одного объекта, объединяются. После объединения обнаруженные объекты передаются классификатору. Таким образом, классификатору передаются лишь фрагменты изображения, гарантированно содержащие объекты, а не все изображение [4].

На фрагменте исходного изображения можно видеть небольшие объекты округлой формы оранжевого цвета – это и есть ядро, а внутри небольшие черные вкрапления – это ядрышковые структуры (рис. 1).

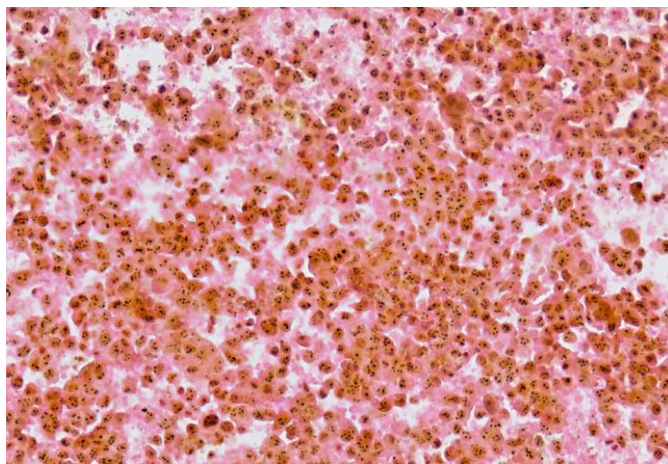


Рис. 1 – Пример фрагмента исходных данных

Предлагается использовать предобработку фрагмента изображения, а именно: автоматическую коррекцию яркости и контрастности, шумоподавление на основе фильтра Гаусса и медианного фильтра, всё это позволяет уменьшить высокочастотный шум и удалить импульсные шумы, сохраняя границы. Можно применить фильтрацию и сегментацию к каждому фрагменту, это значительно упростит работу и улучшит результаты.

Следующим этапом является сегментация ядер, отделение целостных ядер от ядер с размытыми границами. Далее по каждому сегментированному ядру необходимо посчитать количество ядерных структур. Изображение делится сеткой на небольшие области, с целью построения карты плотности, каждая такая область должна вмещать в себя несколько ядер. На основе полученных данных поэлементно фильтруются области со значением целостных ядер

менее заданного, т.е. перестают учитываться регионы, где ядер нет или их слишком мало для репрезентативности результатов. По итогам фильтрации вычисляется среднее значение ядерных структур каждой области, если область входит в часть фрагмента перекрытия с другим фрагментом, то вычисляется среднее значение перекрывшихся областей разных фрагментов. Из полученных результатов строится карта плотности распределения ядерных структур.

При наличии достаточных вычислительных мощностей есть возможность параллельной обработки фрагментов с использованием многопоточности или распределенных вычислений.

Заключение

Предложенная методика построения карты плотности распределения ядерных структур на основе данных цифровой микроскопии с использованием нейронных сетей является эффективным инструментом для визуализации распределения ядерных структур и анализа их участия в канцерогенезе. Этот подход позволяет автоматизировать процесс обработки данных цифровой микроскопии и повысить точность результатов. Дальнейшие исследования в этом направлении могут улучшить наши знания о клеточных процессах и способствовать развитию методик определения онкологии.

Список использованных источников

1. Winzer, K. Long-term analysis to objectify the tumour grading by means of automated microscopic image analysis of the nucleolar organizer regions (Ag-NORs) in the case of breast carcinoma / K. Winzer, J. Bellach, P. Hufnagl // Diagnostic Pathology. – 2013. – Vol. 56, № 8.
2. Weeks, S. E. The nucleolus: a central response hub for the stressors that drive cancer progression / S. E. Weeks, B. J. Metge, R. S. Samant // Cellular and Molecular Life Sciences. – 2019. – Vol. 76. – P. 4511–4524.
3. Богущ, Р. П. Обнаружение объектов на изображениях с большим разрешением на основе их пирамидально-блочной обработки / Р. П. Богущ, И. Ю. Захарова, С. В. Абламейко // Информатика. – 2020. – Т. 17, № 2. – С. 7–16.
4. Курочка, К. С. Нейросетевая обработка данных: учеб.-метод. пособие / К. С. Курочка, К. А. Панарин // Гомель: ГГТУ им. П. О. Сухого. – 2021. – С. 212.

УДК 620

СТАЦИОНАРНЫЙ ТЕПЛООБМЕН МЕЖДУ ШАРАМИ И ПОТОКОМ ВОЗДУХА

К. Джамбиев, А. Матьякубов, Г. Байрамов, С. Батыров

This scientific article is devoted to the experimental study of heat exchange between balls and air flow under stationary conditions. The main objectives of this study were to clarify the available data on stationary heat exchange.