УДК 004.93

СИСТЕМА МАШИННОГО ЗРЕНИЯ ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ ТРЕХМЕРНОЙ СТРУКТУРЫ ПЕРИНЕЙРОНАЛЬНЫХ СЕТЕЙ

© 2025 А.А. Егорчев, А.Р. Кашипов, Д.Е. Чикрин, А.В. Аганов, М.Н. Павельев

Казанский (Приволжский) Федеральный университет, г. Казань, Россия

Статья поступила в редакцию 10.01.2025

В статье предложена система, представляющая комплекс алгоритмов для детектирования границ ячеек перинейрональных сетей на различных слоях микроскопических снимков, представления ячейки в трехмерной структуре, трехмерной визуализации ячейки перинейрональных сетей. В качестве исходных данных использованы слои-изображения конфокальных стеков головного мозга мышей. В процессе работы проведено исследование применимости нейронных сетей для решения задачи выделения масок внутренней структуры ячеек перинейрональных сетей. В данной статье представлен алгоритм выделения масок, основанный на решении задачи семантической сегментации посредством, популярной в биомедицине нейросети на архитектуре U-Net. Предложены архитектурные решения, позволяющие нивелировать проблему переобучения в условиях малого размера выборки. Предложено два алгоритма для исследования ячеек перинейрональных сетей по дискретным измерениям распределения сигнала окраски по толщине конфокального стека, а также алгоритм обнаружения самой ячейки в толще полученных слоев-изображений. Предложен алгоритм обработки полученных масок для создания трехмерного облака точек и метод последующей реконструкции ячейки альфа формами для трехмерной визуализации.

Ключевые слова: U-Net, альфа формы, анализ биомедицинских изображений, конфокальные стеки, микроскопические изображения, перинейрональные сети.

DOI: 10.37313/1990-5378-2025-27-2-156-169 EDN: INQQEW

1. ВВЕДЕНИЕ

Одним из важнейших направлений современной молекулярной нейробиологии является исследование роли внеклеточного матрикса в функции головного и спинного мозга в норме и патологии. Особое место в этой тематике занимает изучение структуры и функции перинейрональных сетей (далее PNN – аббревиатура от Perineuronal net) — высокоструктурированного типа внеклеточного матрикса, покрывающего большие субпопуляции нейронов центральной нервной системы и окружающего синапсы на телах нейронов и проксимальных сегментах дендритов. На сегодняшний день показана важнейшая роль перинейрональных сетей в механизмах нейрональной пластичности ЦНС в онтогенезе, а также их участие в синаптической пластичности и патофизиологии ряда заболеваний — шизофрении, эпилепсии, инсульта, болезни Альцгеймера, дефицита посттравматической регенерации спинного мозга - патологий, несущих огромную социальную нагрузку на общество.

В ряде структурных исследований было показано, что ячейка перинейрональной сети создает пространственную оболочку синапса на поверхности плазматической мембраны нейрона. Совокупность данных микроскопии, молекулярной биологии и электрофизиологии позволяет сделать вывод о важном влиянии ячеек перинейрональной сети на синаптическую передачу и синаптическую пластичность в головном мозге. При этом пространственная структура ячеек перинейрональной сети, окружающих синапсы, оставалась полностью неизученной до недавнего времени.

Авторы нашей группы опубликовали первое в мире количественное исследование микроструктуры ячеек перинейрональной сети, за которым последовали работы других групп [1, 2, 3]. Далее был разработан набор количественных методов для полуавтоматического анализа микроструктуры ячеек перинейрональной сети [4], а также комплекса пресинаптической терминали с окружающей

Егорчев Антон Александрович, кандидат технических наук, директор института вычислительной математики и информационных технологий. E-mail: anton@egorchev.ru

Кашипов Айдар Рафаэлевич, техник-программист института вычислительной математики и информационных технологий. Чикрин Дмитрий Евгеньевич, доктор технических наук, доцент, директор института искусственного интеллекта, робототехники и системной инженерии.

[.] Аганов Альберт Вартанович, доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской физики. Павельев Михаил Николаевич , кандидат технических наук, научный сотрудник Института физики.

ячейкой перинейрональной сети [5]. При этом было показано изменение микроструктуры ячеек в экспериментальной модели шизофрении [4] и неонатальной сенсорной депривации [5]. Были исследованы параметры двумерной геометрии перинейрональных сетей в конфокальной плоскости, такие как площадь и форма ячеек, распределение интенсивности флуоресцентного сигнала специфичных маркеров хондроитинсульфатов, а также параметры трехмерной геометрии — толщина ячеек и распределение локальных максимумов яркости окраски хондроитинсульфатов в трехмерном пространстве конфокальных стаков. В дополнение к этому мы провели сравнительный анализ двух разработанных нами методов обведения ячеек [6].

На сегодняшний день мы перешли к следующему этапу анализа микроструктуры перинейрональных сетей — созданию автоматического метода аннотации контура ячейки и измерения толщины ячейки с использованием методов машинного обучения. Такой метод позволит значительно ускорить анализ микроструктуры перинейрональных сетей, а также станет первым в мире методом для решения таких задач с использованием искусственного интеллекта. Это исследование может стать началом нового этапа в структурных исследованиях синаптических контактов и окружающего их внеклеточного матрикса в норме и патологии. В настоящей работе мы проводим сравнение двух методов анализа контуров перинейрональных сетей на основе алгоритмов машинного обучения. Это позволит в дальнейшем перейти к изучению структуры перинейрональных сетей в кетаминовой модели шизофрении.

Поскольку перинейрональные сети могут рассматриваться как новый биомаркер и объект фармакологического воздействия, понимание структурно-функциональных аспектов работы перинейрональных сетей необходимо для разработки методов диагностики и терапии заболеваний, связанных с нарушением их функционирования.

В рамках данной работы исследуется применение алгоритмов машинного обучения: нейросетевой модели с архитектурой U-Net, для решения обнаружения внутренней структуры ячейки перинейрональных сетей, алгоритма кластеризации для поиска ячейки перинейрональной сети по толщине конфокального стека, невыпуклой триангуляции для трехмерной визуализации полученных измерений толщины, а также алгоритмов, сопутствующих предыдущим.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материалы

В этом разделе мы описываем используемые наборы данных (примеры представлены на рисунке 1), а также методы применение которых привело к получению конечного результата.

Мы рассматриваем три соответствующих набора данных. Первый составлен из уникальных конфокальных стаков перинейрональных сетей - PNN для парвальбумин-положительных нейронов IV и V слоев коры головного мозга мышей, описанных в [4]. Размер конфокального снимка 100×100 микрометров (1024×1024 пикселя). Размер одного вокселя 99×99×170 нанометров. Конфокальный снимок состоит из 20 изображений-слоев. Исследуемые ячейки перинейрональной сети на одном стеке размещены на протяжении ограниченного числа слоев от слоя с индексом а до слоя с индексом b, включая все промежуточные. Набор данных состоит из 28 конфокальных стаков или 560 изображений-слоев.

Второй набор данных состоит из 7789 выделенных областей конфокального стака перинейрональной сети, отмеченных специалистами нейробиологами, как содержащих внутри выделенной области одну интересующую ячейку перинейрональной сети. Выделенная область конфокального стака также состоит из 20 слоев-изображений, размер одного слоя-изображения 32×32 пикселя. Как особенность имеющихся данных следует выделить ряд следующих фактов:

Исследуемая ячейка перинейрональной сети является объемным объектом, распределенным по слоям-изображением своей толщиной.

Каждое слой-изображение - дискретное по отсчету толщины измерение распределения сигнала окраски хондроитин-сульфатов по срезу вдоль структуры перинейрональной сети.

Толщина ячейки количественно измеряется относительно присутствия структуры ячейки на слое-изображении.

Ячейка перинейрональной сети на одном слое-изображении может содержаться не всем замкнутым кольцом (Рис. 2 (а)), а лишь какой-то из своих частей (Рис. 2 (б)).

Трудность получения безошибочной визуальной идентификации части ячейки PNN усугубляется ее малым размером и неравномерным распределением сигнала окраски.

Третий набор данных состоит из двух подмножеств - малого подмножества, содержащего 569 аннотированных специалистами нейробиологами изображений формы отдельных ячеек PNN на слое-изображении (см. Рис 1 (в)), а так же большого подмножества содержащего 7220 изображений формы отдельных ячеек, являющихся результатом работы полуавтоматического алгоритма [4],

пройденных этап ручного отбора специалистом. Данные наборы не представляют собой сквозную аннотацию ячейки на выделенной области конфокального стека по каждому слою-изображению, а являются аннотацией отдельных ячеек PNN.

Особенно важно отметить, что сами перинейрональные сети нелегко найти, Luca Ciampi и Fabio Carrara, например, в работе [7] выделялась проблема ошибок в аннотации, а именно неоднозначность присутствия перинейрональной сети на изображении. Оценка зависит от мнения эксперта в прикладной области, таким образом главная особенность, как больших, так и малых наборов данных заключается в том, что аннотация внутренней структуры PNN в еще большей степени зависит от эксперта и иногда не отражает структуры, проглядываемой на фактуре изображения.







Рис. 2. Область, содержащая внутреннюю структуру ячейки перинейрональной сети: а) на слое изображении содержится цельное кольцо ячейки; б) ячейка содержится на слое изображении прерывающимися частями

2.2. Аннотация внутренней структуры ячейки PNN

В этом разделе описывается алгоритм аннотации внутренней структуры ячейки PNN на отдельном слое-изображении выделенной области интереса конфокального стека перинейрональной сети. Выбранным объектом исследования для решения задачи выделения внутренней структуры вы-

брана одна из наиболее значимых архитектурных вариаций полносвязной сверточной нейронной сети U-Net. С момента выпуска в 2015 году U-Net [8] нашла широкое применение в задачах сегментации биомедицинских изображений. Архитектура нейросети, выстроена из двух частей: энкодера, принимающего на вход исходное изображение, и декодера, восстанавливающего из вектора высокой размерности аннотированную карту, того же размера что и входное изображение. Слои декодера и энкодера от выхода каждого блока энкодера к входу каждого блока декодера дополнительно объединены с помощью skip connection . Skip connection - передача для последующей конкатенации тензора признаков из ранних слоев модели в более поздние, игнорируя преобразования промежуточных слоев.

Энкодер, путем свертки входного тензора с ядрами фильтров размера 3×3 на каждом слое нейронной сети и последующего уменьшения карты признаков за счет слоев maxpulling (формула 1), кодирует изображение в вектор эмбеддинг, содержащий ключевые признаки изображения, из которых декодер путем сверточных слоев с тем же размеров ядер фильтров и слоев деконволюции (формула 2)[9], попиксельно извлекает карту сегментированного изображения.

 $out(N_i, C_j, h, w) = pool2d(input(N_i, C_j, h + m, w + n)) = input(N_i, C_j, h + m, w + n), (1)$ где входная карта признаков представляет из себя тензор размерности (N, C, H, W).

kH, kW – размер окна пулинга

N – номер изображения в батче

С – номер канала (фильтра)

Н, *W* – высота и ширина карты признаков

m – локальная координата внутри окна пулинга (смещение по высоте)

n – локальная координата внутри окна пулинга (смещение по ширине)

out – выходной тензор после пулинга, для каждого окна (kH, kW) выбирается максимальное значение, что уменьшает размер карты признаков

$$C1(y_i) = \frac{\lambda}{2} \sum_{c=1}^{K_0} \left| \left| \sum_{k=1}^{K_1} z_k^i \oplus f_{k,c} - y_c^i \right| \right|_2^2 + \sum_{k=1}^{K_1} \left| z_k^i \right|^p,$$
(2)

где z_k^i – карта объектов (тензор низкой размерности, полученный от энкодера)

 $f_{k,c}$ – ядра фильтров с оптимизированными весами

🕀 - операция деконволюции

у^{*i*} – целевая карта признаков (аннотация)

λ − коэффициент регуляризации

 $z_k^i \Big|^p$ – Lp норма для предотвращения переобучения

Оптимизированная архитектура

В результате ряда экспериментов мы удостоверились, что полученных наборов данных по причине слабой достоверности в аннотации недостаточно для получения стабильного решения с нуля. Блок энкодера полностью заменен на первые пять блоков типичного для обработки изображений классификатора vgg 16 [10] с каскадом из 2 или 3 сверточных слоев в каждом блоке. Проведенный анализ, в ходе которого изображения из датасета сворачивались с ядрами фильтров первого слоя этого классификатора, показал, что vgg 16 хорошо справляется с выделением простых форм на изображении. Однако построение линейной регрессионной модели на этих весах не показало убедительной обобщаемости, поэтому было принято решение выстроить вокруг них нелинейную модель.

Для выделения внутренней структуры была разработана модернизированная под работу с PNN нейросетевая модель на архитектуре U-Net.

Энкодер в архитектуре нейронной сети

Схематически энкодер представлен на рисунке 2. Каждая последовательность внутри энкодера состоит из сверточного слоя, батч нормализации с нулевым средним и единичным среднеквадратическим отклонением, а также нелинейной функции активации ReLU [11] (как показано на рисунке 2(a)). Каждый блок (2(b)) состоит из трех последовательностей и выходного слоя max pulling размера 2 × 2. В нашей задаче широко известная проблема «горлышка бутылки», а именно вектора признаков размерности 1024 × 1 решена за счет передачи в декодер тензора 2 × 2 × 512, а также добавочного слоя в виде обучаемого слоя drop out [12], что помогло избавиться от нестабильности обучения модели. Присутствие skip connection с первого блока в ходе исследования показало тенденцию к переобучению, следовательно соединение было удалено.

Гипер параметры модели.

Функция ошибки модели (см. формулу 3)

$$l(x,y) = L = [1..., l_N]^T,$$
 (3)

где l_N функция ошибки для одного изображения. Функция ошибки энкодер-декодера для U-Net (формула 4).



Рис. 3 Схема архитектуры используемой нейронной сети на базе U-Net

$$l_n = -w_n [y_n \cdot lg \ lg \ x_n + (1 - y_n) \cdot lg \ lg \ (1 - x_n)] + 1 - \frac{2 \cdot y_n \cdot x_n + 1}{y_n + x_n + 1} + \lambda \cdot |x_n - y_n|$$
(4)

Формула сочетает в себе несколько частей: взвешенную бинарную кросс энтропию (ВСЕ), метрику Dice и L1 регуляризатор.

Первое слагаемое (ВСЕ):

У_п – истинная метка пикселя (0 или 1)

*x*_{*n*} – предсказанная вероятность пикселя (от 0 до 1)

w_n – вес для балансировки классов Второе слагаемое (Dice):

Определяет меру совпадения между предсказанием x_n и истиной y_n . Чем ближе к 1, тем лучше Третье слагаемое (L1):

^λ – коэффициент регуляризации

 $|x_n - y_n|_{-$ абсолютная ошибка

ВСЕ - обеспечивает точность классификации пикселей, Dice – улучшает сегментацию за счет учета перекрытия областей и L1 – уменьшает шум в предсказаниях Остальные гипер параметры представлены в таблице 1.

Процесс обучения

Процесс обучения состоит из двух попеременных этапов:

Первый этап предполагает фиксацию в константном положении весов на ядрах фильтров всех сверточных слоев энкодера и оптимизации весов на ядрах фильтров сверточных слоев декодера. Длительность данного этапа 20 эпох.

	U-Net
Оптимизатор	Adam
Adam's β	$\beta_1 = 0.05 \beta_2 = 0.99$
Learning rate	0.0002
L1 λ	30
Batch size	64

Таблица 1. Остальные гипер параметры

Второй этап предполагает фиксацию в константном положении весов на ядрах фильтров сверточных слоев декодера и оптимизации весов на ядрах фильтров сверточных слоев энкодера. В условиях небольшого размера выборки переобучение на этом этапе может возникнуть на дистанции уже в 5-6 эпох, вызывая непоправимый коллапс в обучении модели. Длительность данного этапа варьируется от 1 до 5 эпох и зависит от значения функции ошибки на обучении и валидации.

Отследить изменения в значении функции ошибки на обучении и валидации можно на рисунке 4.



Рис. 4 График значений функции ошибки нейросетевой модели на обучении и валидации

2.3 Обнаружение положения ячейки на конфокальном стеке PNN

Как было указано выше, положение ячейки PNN на конфокальном стеке не детерминировано и может принимать значения на слоях-изображениях с индексами от "a" до "b" в любом положении. Возникает проблема обнаружения границ расположения ячейки в рамках 20 слоев конфокального стека. В этом разделе описывается ряд методов решения данной проблемы.

Общим для всех предлагаемых алгоритмов оказывается процесс обработки выходных матриц нейросетевой модели. Маски внутренней структуры ячейки PNN вычисляются за счет бинаризации по формуле 5 изображения, полученного после отработки нейросети (выходной матрицы). Так как выходная матрица содержит вероятность пикселя принадлежать внутренней структуре за порог выбирается значение в 0.5.

Алгоритм обнаружения положения ячейки на основе пороговой фильтрации по значениям яркости пикселей

Описываемый алгоритм направлен на работу с представлением внутренней структуры ячейки PNN, в виде ее внешней границы, считая данное упрощение позволительным в рамках задачи обнаружения ее положения по толщине конфокального стека.

Учитывая вышесказанное упрощение, на первом этапе от бинарной маски каждого слоя-изображения оставляется лишь ее однопиксельная внешняя граница ячейки PNN. На втором этапе из полученных границ всех слоев-изображений выбирается граница с наибольшим периметром и по ней составляется развертка следующего вида:

По координате "х" располагается номер пикселя в периметре.

По координате "у" индекс слоя-изображения конфокального стека перинейрональной сети, с которого берется измерение внутренней структуры, а соответственно периметра границы.

Значением на пересечении каждого узла сетки по "х" и "у" является значение яркости соответствующего пикселя на слое-изображении. Развертка продемонстрирована на рисунке 5.



Рис. 5. Развертка пикселей периметра ячейки (строки) по дискретным измерениям толщины (столбцы)

На третьем этапе, для каждого пикселя периметра на протяжении всех дискретных измерений по толщине ячейки на слоях-изображениях конфокального стека (столбцу развертки) отыскивается граница расположения ячейки PNN по следующему принципу:

По строке развертки выбирается номер слоя-изображения с наибольшим средним значением яркости пикселей периметра - он же считается условной "серединой" ячейки относительно измеряемой толщины (желтая линия на рисунке 5).

Относительно каждого пикселя "срединной" строки развертки по столбцу отыскиваются граничные пиксели ячейки по пороговому значению (формула 5)

$$\begin{cases}
 I_r \leq pI_c, \text{ если такое } z \text{ существует} \\
 I_r \in \emptyset, \text{если подходящего } z \text{ нет}
 \end{cases}$$
 (5)

где I_r – граничный пиксель по столбцу, I_z – пиксели столбца, I_c – пиксель на пересечении "срединной" строки и столбца, p = 0.6, для z, c $\in \{0, 1, ... 20\}$. Отфильтрованные пиксели (граничные) подчеркнуты на рисунке 6 зеленым цветом.

Столбцы, не прошедшие фильтрацию подвергаются повторной обработке по принципу описанному в формуле 6.

$$\begin{cases} |I_{r} - I_{c}| \leq \sigma, \text{если} \frac{\sum_{z=0}^{20} I_{cz}}{20} < \frac{\sum_{c=0}^{p} \sum_{z=0}^{20} I_{cz}}{p}, \\ I_{r} = I_{z}, \text{где } z = 20 \text{ или } z = 0 \end{cases},$$
(6)

если среднее значение яркости пикселей столбца меньше среднего по столбцам, пороговое значение изменяется с 0.6 до 1 среднеквадратичного отклонения; в ином случае, неопознанная граница считается последним пикселем столбца с нераспознанного конца.

Важно учитывать, что ограничения, накладываемые на составление развертки принуждают при использовании данного метода отказаться от исследования внутренней структуры ячейки на выделенной области конфокального стека по каждому слою-изображению. Для всех слоев используется одинаковая форма однопиксельной границы, то есть упускается возможное разнообразие форм.

Алгоритм обнаружения положения ячейки на основе кластеризации

Описываемый алгоритм, в отличие от предыдущего, напрямую направлен на работу с внутренней структурой ячеек PNN, полученной на каждом слое-изображении с использованием бинарных масок. В таком представлении данных информация о ячейке PNN на масках ее структуры по каждому слою-изображению наиболее подходящим образом описывается положением в координатах изображения.

Учитывая это, на первом этапе бинарная маска из матрицы раскладывается по строкам в одномерный вектор размерности 1×1024, со значениями выхода нейросетевой модели, в случае, когда пиксель по бинарной маске интерпретируется, как часть структуры ячейки, и 0 в противном.

Кластеризация DBSCAN.

Вектора, полученные с каждого слоя-изображения, преобразуются в облако точек на 1024 мерном пространстве и кластеризуются с помощью алгоритма пространственной кластеризации на основе плотности с шумом DBSCAN [13]. Алгоритм кластеризации DBSCAN опирается на 6 установленных в оригинальной статье утверждений, определяющих, благодаря изначально заданным параметрам минимального количества точек кластера, а также минимального расстояния для точек по плотности, следующие понятия: соседствование точек по плотности (рис.6 (а)), достижимость точек по плотности (рис.6 (б)), цепь точек, связанность точек, кластер точек и шумовые точки.



Рис. 6. DBSCAN: определяемые понятия: а) соседствование точек а и б по плотности; б) достижимость точек по плотности; б соседствует с а и в, а достижима для в и наоборот.

Таким образом кластер определяется, как набор точек, соединенных плотностью, которая является максимальной по отношению к достижимости плотности, а шум в свою очередь определяется относительно данного набора кластеров просто, как набор точек, не принадлежащих ни к одному из кластеров, достижимых по плотности.

Слои, на которых располагается ячейка PNN, определяются как слои наибольшего по мощности из обнаруженных алгоритмом кластеров на слоях конфокального стека.

Исследование отростков на слоях, не принадлежащих к кластеру ячейки.

Описанный алгоритм основывается на физическом смысле проводимых замеров распределения сигнала окраски хондроитин-сульфатов, а именно того факта, что сигнал, исходящий от структуры PNN, является на дискретном срезе конфокального стека наиболее интенсивным.

Алгоритм фильтрации отростков на слоях конфокального стека размера 32×32 пикселя, близлежащих к выделенному кластеру ячейки PNN, представлен в виде блок схемы на рисунке 7.

Здесь, model_ouputs - трехмерный тензор, составленный конкатенацией матриц выделенной структуры на слое-изображении конфокального стека PNN (отфильтрованной по маске выходной матрицы нейросетевой модели), masks - трехмерный тензор, составленный конкатенацией матриц масок, first_index и last_index - индекс первого и последнего слоя найденного кластера ячейки PNN, соответственно, max_index - индекс последнего слоя конфокального стека. Filtering - функция применяемая ко всем слоям-изображениям вне обнаруженного кластера ячейки.

Итерационный алгоритм отфильтровывает выделенную нейросетевым алгоритмом структуру PNN по каждому слою на основе пересечения маски с маской предыдущего слоя и порогом, рассчитанным по двум среднеквадратичным отклонениям их совместной функции распределения.

2.4 Трехмерная визуализация ячейки перинейрональной сети

Описанный алгоритм трехмерной визуализации по аналогии с [14] реализован за счет реконструкции поверхности ячейки PNN по дискретным измерениям распределения сигнала окраски на слоях с фиксированным значением толщины, т.е координаты z. Выбор под данную задачу алгоритма α-форм обоснован равномерным распределением точек внутренней структуры перинейрональной сети на одном слое-изображении, удовлетворяющим граничным условиям описанным в [15]:

в координатах х и у изображения можно воссоздать сеточный граф с ребром 1, они же берутся координатами выстраиваемого облака точек;

за координату z для удовлетворения граничных условий работы алгоритма α-форм выбирается выбирается индекс слоя на конфокальном стеке перинейрональной сети, так чтобы расстояние между слоями также приравнивалось к 1.

Таким образом задача реконструкции ячейки PNN формируется как задача покрытия полученного облака точек трехмерными α-формами.

В **R**³ α-форма определяется, как α шар с контролируемым радиусом α, сопутствующими определениями выступает понятия нулевого шара - точки, а также понятие [∞]-шара - открытого полупространства. Данные определения необходимы для более глубокого понимания алгоритма, в случае нулевого шара выходом алгоритма α-форм выступает исходное облако точек, а в случае [∞]-шара внешняя оболочка.

true



Filtering(index, control_index, reversed, model_outputs, masks)



В своем оригинальном понимании алгоритм α-форм можно интерпретировать, как "выделение" из начального пространства (в нашем случае *R*³, в котором содержится исследуемое облако точек) пространства, содержащегося внутри облака точек. α-шар в такой интерпретации выступает в роли ножа, который упирается в тройки точек из облака. Такой подход к построению алгоритма α-форм нуждается в определении открытого и не открытого шара, и шар считается пустым, если содержит точки исходного облака только на границах своей сферы, и считается не пустым в иных случаях. И так оригинальный алгоритм α форм подразумевает покрытие облака точек пустыми α-шарами. Однако такой алгоритм не является численно стабильным, и в нашем исследовании использовалась его оптимизация описанная Эдельсбруннером [16], основанная на доказанном в [15] равенстве α-формы с α-комплексом, полученным после триангуляции Делоне.

Алгоритм состоит из следующих этапов:

Вычисление триангуляции Делоне, мы знаем, что в ней содержится граница искомой α формы. Затем определяется α-комплекс, проверяя все симплексы триангуляции Делоне по следующим пунктам:

αТ - шар вокруг μТ - центра шара, является пустым

 $\alpha T < \alpha$, это α —тест

мы принимаем симплекс как элемент α-комплекс вместе со всеми его гранями.

Все симплексы α-комплекса, в соответствии с доказанным выше, образуют внутреннюю часть α-формы. Все симплексы на границе дифференцированного α-комплекса образуют дифференцированную α-форму.

Первые два этапа являются простыми, однако третий совсем не тривиален и требует введения ряда новых определений и эвристик, описание в данной статье которых мы считаем избыточным, так как целью статьи не является описание алгоритма α-форм. Для детального ознакомления мы просим читателя обратиться к оригинальной статье [16].

3. РЕЗУЛЬТАТЫ.

3.1 Выход модели

Результат работы нейросети продемонстрирована на рисунке 7. Также продемонстрированы изображения вокселя, подаваемые на вход модели, и изображения представляющие аннотированные воксели на одном слое-изображении.

Модель на архитектуре нейронной сети U-Net использовалась для решения задачи семантической сегментации внутренней структуры ячеек PNN. Выходом модели является матрица размера передаваемого изображения, каждое значения которой интерпретируется как уверенность модели в принадлежности пикселя к внутренней структуре ячейки на соответствующей позиции. На рисунке 8 в соответствующей колонке продемонстрирован результат решения поставленной задачи.



Рис. 8. Результат работы нейросетевой модели на архитектуре U-Net (соответствующий столбец U-Net): выходная матрица интерпретируется как значения вероятности каждого пикселя принадлежать границе ячейки

3.2 Вычисление метрик модели

В предыдущей работе наша группа опубликовала результаты работы полуавтоматического алгоритма выделения границ ячеек перинейрональной сети.[4]. В данной секции представлено сравнение работы нейросетевого алгоритма, из результата работы которого в п. 2.3.1 была выделена внешняя граница ячейки PNN, с полуавтоматическим алгоритмом. Для сравнения использовались следующие метрики:

Площадь ячейки

Периметр ячейки

Округлость ячейки

Соотношение осей

На рисунке 8 представлены результаты сравнения аннотированных границ ячейки PNN в рамках одного слоя на основе архитектуры сверточной нейронной сети U-Net с полуавтоматическим алгоритмом. Для расчета корреляции между результатом предыдущей полуавтоматической и представленной модели использовались коэффициент корреляции Пирсона R (см. Рис. 9(c-f)) и коэффициент корреляции Спирмена Sp (см. Рис. 9(c-f)).



Рис. 9. Результат измерения метрик U-Net: а) площадь ячейки б) периметр ячейки в) график корреляции площадей ячейки г) график корреляции периметра ячейки д) график корреляции округлости е) график корреляции соотношение осей

3.3 Результат алгоритма кластеризации

На рисунке 10 продемонстрирован результат кластеризации, а соответственно и определения местоположения ячейки PNN на дискретных измерениях (слоях-изображениях) по толщине конфокального стека, описанный в пункте 2.3.2.1.

Результат выполнения алгоритма фильтрации частей внутренней структуры перинейрональной сети

На рисунке 11 продемонстрирован результат работы итерационного алгоритма, описанного в Маска слоя с индексом 4 конфокального стека (см. рис. 11(б)) за счет маски, полученной со слоя с



Рис. 10. Результат кластеризации слоев одного конфокального стека;

по оси у отложен индекс слоя; "красным" цветом выделен кластер ячейки PNN;

"зеленым" цветом выделен кластер ячейки на которой содержится схожая структура отростков ячейки;

"синим" цветом отмечены кластеры шума.



Рис. 11. Процесс фильтрация маски слояизображения для обнаружения части ячейки PNN:
а) маска слоя с индексом 4;
б) маска слоя с индексом 5;
в) отфильтрованная маска слоя с индексом 4;
г) пересечение масок;
д) фильтрация по двум среднеквадратичным отклонениям.

индексом 5 (индекс первого слоя обнаруженного кластера ячейки PNN) проходит итерацию фильтром (см. рис 11(в)), и впоследствии используется с той же целью, что маска со слоя с индексом 5 в описанной итерации. Как было описано ранее, ячейка PNN может заходить на слои конфокального стека, не принадлежащие кластеру лишь какой-то из своих частей. Полученная маска помогает обнаружить выходящую за основной кластер внутреннюю структуру ячейки PNN.



Рис. 12. Результат трехмерной визуализации

3.4 Результат триангуляции

На рисунке 12 продемонстрирован результат триангуляции полученных дискретных измерений по толщине конфокального стека перинейрональной сети, как облака точек с координатами х и у - номеров строк и столбцов матриц масок, z - индексов слоя-изображения, по которому на предыдущих этапах была сформирована маска структуры ячейки.

выводы

Использование нейронных сетей для выделения внутренней структуры ячеек перинейрональных сетей является новым подходом в указанной области. Существующий алгоритм был реализован на основе направленных градиентов, исследовал однопиксельную внешнюю границу и имел тенденцию к выделению более округлых границ, даже в случаях, когда ячейка округлой формы не имела. Рассматриваемый в этой статье алгоритм помог справиться с данной проблемой, что видно при сравнении результатов вычисления метрики округлости. Решение задачи поиска внутренней структуры ячейки PNN показывает соизмеримые по качеству результаты с полуавтоматическим алгоритмом. Более того решение на основе архитектуры U-Net предоставляет хороший инструментарий для дальнейшего устранения проблемы неоднозначности внутренней структуры, а также настройки алгоритма под различные критерии определения внутренней структуры перинейрональной сети. Из предложенных алгоритмов определения положения ячейки PNN по толщине конфокального стека наиболее предпочтительным оказался алгоритм на основе кластеризации, мы считаем, что исследование объемной структуры дает более широкую картину о деформации ячейки, а восстановление трехмерной структуры по дискретным измерениям распределения сигнала окраски позволит в будущем с большей точностью исследовать толщину ячейки PNN.

БЛАГОДАРНОСТИ

Мы благодарны Александру Дитяеву за предоставление набора данных конфокальных снимков.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Arnst N, Kuznetsova S, Lipachev N, Shaikhutdinov N, Melnikova A, Mavlikeev M, Uvarov P, Baltina TV, Rauvala H, Osin YN, Kiyasov AP, Paveliev M. Spatial patterns and cell surface clusters in perineuronal nets. Brain Res. 2016 Oct 1;1648(Pt A):214-223. doi: 10.1016/j.brainres.2016.07.020. Epub 2016 Jul 15. PMID: 27425428.
- Dzyubenko E., Manrique-Castano D., Kleinschnitz C., Faissner A., Hermann D.M. Topological remodeling of cortical perineuronal nets in focal cerebral ischemia and mild hypoperfusion // Matrix Biol. – 2018. – V. 74 – P. 121–132. – doi: 10.1016/j.matbio.2018.08.001.
- Sigal Y.M., Bae H., Bogart L.J., Hensch T.K., Zhuang X. Structural maturation of cortical perineuronal nets and their perforating synapses revealed by superresolution imaging // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2019. – V. 116, No 14. – P. 7071–7076. – doi: 10.1073/pnas.1817222116.
- 4. *Kaushik R, Lipachev N, Matuszko G, Kochneva A, Dvoeglazova A, Becker A, Paveliev M, Dityatev A*. Fine structure analysis of perineuronal nets in the ketamine model of schizophrenia. Eur J Neurosci. 2021 Jun;53(12):3988-4004. doi: 10.1111/ejn.14853. Epub 2020 Jun 25. PMID: 32510674.
- Lipachev N., Melnikova A., Fedosimova S., Arnst N., Kochneva A., Shaikhutdinov N., Dvoeglazova A., Titova A., Mavlikeev M., Aganov A., Osin Yu., Kiyasov A., Paveliev M. Postnatal development of the microstructure of cortical GABAergic synapses and perineuronal nets requires sensory input. Neurosci. Res., 2022, vol. 182, pp. 32–40. doi: 10.1016/j.neures.2022.06.005.
- 6. *Lipachev, N.S. & Dvoeglazova, A.S. & Sadreeva, A.A. & Aganov, A.V. & Paveliev, Mikhail.* (2022). Comparative Analysis of the Methods for Quantitative Study of the Perineuronal Net Microstructure. Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki. 164. 519-534. 10.26907/2542-064X.2022.4.519-534.
- 7. *Luca, C., Fabio, C., Valentino, T., Mazziotti, R. A. F. F. A. E. L. E., Leonardo, L., Carlos, S., ... & Claudio, G.* (2022). Learning to count biological structures with raters' uncertainty. MEDICAL IMAGE ANALYSIS, 80, 0-0.
- 8. *Weng, W., & Zhu, X.* (2021). INet: convolutional networks for biomedical image segmentation. Ieee Access, 9, 16591-16603.
- 9. Zeiler, M. D., Krishnan, D., Taylor, G. W., & Fergus, R. (2010, June). Deconvolutional networks. In 2010 IEEE Computer Society Conference on computer vision and pattern recognition (pp. 2528-2535). IEEE.
- 10. *Simonyan, K., & Zisserman, A.* (2014). Very deep convolutional networks for large-scale image recognition. arXiv preprint arXiv:1409.1556.
- 11. *Shi, W., Caballero, J., Huszár, F., Totz, J., Aitken, A. P., Bishop, R., ... & Wang, Z.* (2016). Real-time single image and video super-resolution using an efficient sub-pixel convolutional neural network. In Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition (pp. 1874-1883).
- 12. *Isola, P., Zhu, J. Y., Zhou, T., & Efros, A. A.* (2017). Image-to-image translation with conditional adversarial networks. In Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition (pp. 1125-1134).
- Ester M. et al. A density-based algorithm for discovering clusters in large spatial databases with noise //kdd. 1996.
 − T. 96. Nº. 34. C. 226-231.
- 14. *Van De Weygaert, Rien, et al.* "Alpha, betti and the megaparsec universe: on the topology of the cosmic web." Transactions on Computational Science XIV: Special Issue on Voronoi Diagrams and Delaunay Triangulation (2011): 60-101.
- 15. *Fischer, Kaspar.* "Introduction to alpha shapes." Department of Information and Computing Sciences, Faculty of Science, Utrecht University 17 (2000): 4
- 16. *Edelsbrunner, Herbert, and Ernst P. Mücke.* "Three-dimensional alpha shapes." ACM Transactions On Graphics (TOG) 13.1 (1994): 43-72.

MACHINE VISION SYSTEM FOR RECOGNITION OF THREE-DIMENSIONAL STRUCTURE OF PERINEURONAL NETWORKS

© 2025 A.A. Egorchev, A.R. Kashipov, D.E. Chikrin, A.V. Aganov, M.N. Paveliev

Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

The article proposes a system representing a set of algorithms for detecting the boundaries of perineuronal network cells on different layers of microscopic images, representing a cell in a three-dimensional structure, and three-dimensional visualization of a perineuronal network cell. The initial data are layers of confocal stacks of the mouse brain. In the course of the work, the applicability of neural networks for solving the problem of extracting masks of the internal structure of perineural network cells was studied. This article presents an algorithm for extracting masks based on solving the problem of semantic segmentation using a neural network on the U-Net architecture, which is popular in biomedicine. Architectural solutions are proposed that allow mitigating the problem of overfitting in conditions of a small sample size. Two algorithms are proposed for studying perineural network cells based on discrete measurements of the color signal distribution across the thickness of the confocal stack, as well as an algorithm for detecting the cell itself in the thickness of the obtained image layers. An algorithm for processing the obtained masks to create a three-dimensional point cloud and a method for subsequent reconstruction of the cell using alpha forms for three-dimensional visualization are proposed.

Keywords: U-Net, alpha forms, biomedical image analysis, confocal stacks, microscopic images, perineural networks.

DOI: 10.37313/1990-5378-2025-27-2-156-169 EDN: INQQEW

Anton Egorchev, Ph.D., Director of the Institute of Computational Mathematics and Information Technology. Aidar Kashipov, Software Technician, Institute of Computational Mathematics and Information Technology. Dmitry Chikrin, D.Sc. (Engineering), Associate Professor, Director of the Institute of Artificial Intelligence, Robotics and Systems Engineering.

Albert Aganov, DSc, Professor, Head of the Department of Medical Physics.