Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет радіоелектроніки

Факультет Комп'ютерних наук
(повна назва)
Кафедра Штучного інтелекту
(повна назва)

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
Пояснювальна записка

рівень вищої освіти другий (магістерський)

Інтелектуальний аналіз трекінгу клітин при кріоконсервації
(тема)

Виконав:
студент 2 курсу, групи СШІм-22-2
Купріянов С.В.
(прізвище, ініціали)

Спеціальність 122 Комп'ютерні науки
(код і повна назва спеціальності)
Тип програми освітньо-наукова
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)
Освітня програма Системи штучного інтелекту
(повна назва спеціалізації)
Керівник проф. Аврунін О.Г.
(посада, прізвище, ініціали)

Допускається до захисту

Зав. кафедри _____ В.О. Філатов
(підпис) (прізвище, ініціали)

2024 р.

Харківський національний університет радіоелектроніки

Факультет Комп'ютерних наук
(повна назва)

Кафедра Штучного інтелекту
(повна назва)

Рівень вищої освіти другий (магістерський)

Спеціальність 122 Комп'ютерні науки
(код і повна назва)

Тип програми освітньо-наукова
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Освітня програма Системи штучного інтелекту
(повна назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ:
Зав. кафедри _____
(підпис)
«_____» _____ 20 ___ р.

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ

студентові Купріянову Сергію Валерійовичу
(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Інтелектуальний аналіз трекінгу клітин при кріоконсервації

затверджена наказом університету від 1 квітня 20 24 р. № 260Ст

2. Термін подання студентом роботи до екзаменаційної комісії 14 червня 20 24 р.

3. Вихідні дані до роботи цифрові зображення клітин при кріоконсервації розміром 640x512 пікселів кількістю 211 файлів

4. Перелік питань, що потрібно опрацювати в роботі

1) Теоретичні основи кріоконсервації та трекінгу клітин

2) Методи штучного інтелекту для трекінгу клітин

3) Сегментація зображень у трекінгу клітин

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів роботи	Терміни виконання етапів роботи	Примітка
1	Отримання завдання на кваліфікаційну роботу	01.04.2024	виконано
2	Аналіз предметної галузі	05.04.2024	виконано
3	Аналіз підходів вирішення задачі	10.04.2024	виконано
4	Експериментальне моделювання та навчання	12.04.2024	виконано
	моделі		
5	Оформлення пояснювальної записки	15.05.2024	виконано
	магістерської кваліфікаційної роботи		
6	Перевірка на академічний плагіат	06.06.2024	виконано
7	Нормоконтроль	07.06.2024	виконано
8	Рецензування	10.06.2024	виконано
9	Підготовка презентації та доповіді	11.06.2024	виконано
10	Попередній захист	12.06.2024	виконано
11	Захист перед екзаменаційною комісією	14.06.2024	

Дата видачі завдання 1 квітня 2024 р.

Студент _____
(підпис)

Керівник роботи _____ проф. Аврунін О.Г.
(підпис) (посада, прізвище, ініціали)

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка: 87 с., 8 рис., 2 табл., 3 дод., 39 джерел.

ДАТАСЕТ, СЕГМЕНТАЦІЯ, ТРЕКІНГ В РЕЖИМІ РЕАЛЬНОГО ЧАСУ, ТРЕКІНГ КЛІТИН, CNN, YOLO.

Об’єкт дослідження – зміна форми та динаміка руху клітин під час процесу кріоконсервації.

Предмет дослідження – аналіз цифрових файлів, що містять зображення набору клітин, зафіксованих під час процесу кріоконсервування.

Мета роботи – аналіз та оцінка сучасних методів та інструментів штучного інтелекту для інтелектуального аналізу трекінгу клітин, огляд доступних технологій та методологій для аналізу руху та зміни форми клітин під час кріоконсервації.

Методи дослідження – аналіз літературних джерел, емпіричні методи, програмна інженерія, методи машинного та глибокого навчання, валідація та верифікація.

ABSTRACT

Master’s thesis contains: 87 pp., 8 fig., 2 tabl., 3 ann., 39 references.

CELL TRACKING, CNN, DATASET, REAL-TIME TRACKING, SEGMENTATION, YOLO.

The object of research is the change in shape and dynamics of cell movement during the cryopreservation process.

The subject of the study is the analysis of digital files containing images of a set of cells recorded during the cryopreservation process.

The purpose of the work is the analysis and assessment of modern methods and tools of artificial intelligence for the intelligent analysis of cell tracking, an overview of available technologies and methodologies for the analysis of movement and changes in the shape of cells during cryopreservation.

Research methods – analysis of literary sources, empirical methods, software engineering, machine and deep learning methods, validation and verification.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів 8
Вступ 10
1 Теоретичні основи кріоконсервації та трекінгу клітин 12
1.1 Кріоконсервація: визначення, історія та сучайний стан 12
1.2 Основи трекінгу клітин: методи та задачі 13
1.3 Вплив кріоконсервації на клітини: біологічні та фізичні аспекти 13
1.4 Виклики та проблеми трекінгу клітин під час кріоконсервації 14
2 Методи штучного інтелекту для трекінгу клітин 15
2.1 Конволюційні нейронні мережі для аналізу зображень клітин 15
2.2 Рекурентні нейронні мережі для аналізу послідовностей зображень 17
2.3 Використання YOLO для реального часу виявлення клітин 19
2.4 Алгоритми трекінгу об'єктів 22
2.4.1 Алгоритм Канаде-Лукаса-Томасі 22
2.4.2 Алгоритм Multiple Hypothesis Tracking 23
2.4.3 Метод Particle Filter 25
3 Сегментація зображень у трекінгу клітин 27
3.1 Порогова сегментація: основні принципи та застосування 27
3.2 Методи на основі кластеризації 28
3.2.1 K-середніх 28
3.2.2 Fuzzy C-Means 30
3.2.3 Агломеративна кластеризація 31
3.2.4 DBSCAN метод 32
3.2.5 Спектральна кластеризація 33
3.3 Методи на основі контурів 35
3.3.1 Активні контури 35
3.3.2 Вейвлетна сегментація 37
3.4 Методи на основі гістограм 39
3.4.1 Метод Оцу 39
3.4.2 Кумулятивні гістограми 40

4 Практичне застосування методів штучного інтелекту для трекінгу клітин при кріоконсервації 41
4.1 Огляд сучасних інструментів для обробки та аналізу зображень клітин 41
4.1.1 ImageJ/Fiji 41
4.1.2 CellProfiler 42
4.1.3 ilastik 43
4.1.4 KNIME 45
4.1.5 QuPath 47
4.1.6 DeepLab 48
4.1.7 U-Net 50
4.1.8 Segment Anything Model 52
4.1.9 TrackMate 53
4.1.10 SimpleITK 54
4.2 Розробка та обґрунтування методики дослідження 56
4.3 Збір та підготовка даних 57
4.4 Навчання моделі 57
4.5 Результати експериментів та їх аналіз 58
5 Інтеграція методів комп’ютерного зору з іншими технологіями 62
5.1 Мультимодальний аналіз: використання оптичних та флуоресцентних зображень 62
5.2 Інтернет речей для моніторингу умов зберігання клітин 63
5.3 3D-реконструкція: створення тривимірних моделей клітин 65
5.4 Використання ANSYS для моделювання процесів кріоконсервації та розморожування клітин 66
Висновки 68
Перелік джерел посилання 70
Додаток А Графіки результатів навчання моделі YOLO 76
Додаток Б Код програми 833
Додаток В Відомість кваліфікаційної роботи 87

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ПК – персональний комп'ютер;

ШІ – штучний інтелект;

AC-GA – Adaptive Classifier – Genetic Algorithm – адаптивний класифікатор з генетичним алгоритмом;

AI – Artificial Intelligence – штучний інтелект;

CNN – Convolutional Neural Network – згорткова нейронна мережа;

DBSCAN – Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise – алгоритм кластеризації на основі щільності з урахуванням шуму;

DICOM – Digital Imaging and Communications in Medicine – стандарт для зберігання та передачі медичних зображень;

FCN – Fully Convolutional Networks – повністю згорткова нейронна мережа;

IoT – Internet of Things – Інтернет речей;

GAN – Generative Adversarial Network – генеративно-змагальна мережа;

GPU – Graphics Processing Unit – графічний процесор;

GRU – Gated Recurrent Unit – рекурентна нейронна мережа з блоками з керованою рекурентністю;

KLT – Алгоритм Канаде-Лукаса-Томасі – алгоритм трекінгу об'єктів у відео;

KNIME – Konstanz Information Miner – платформа для обробки даних, аналізу та звітування;

LSTM – Long Short-Term Memory – нейронна мережа з довготривалою та короткотривалою пам'яттю;

Mask R-CNN – архітектура нейронної мережі для сегментації та детектування об'єктів;

MedSAM – модель для сегментації медичних зображень;

MHT – Multiple Hypothesis Tracking – алгоритм трекінгу з множинними гіпотезами;

MobileSAM – мобільна версія моделі Segment Anything Model;

NifTI – Neuroimaging Informatics Technology Initiative – формат файлів для зберігання медичних зображень;

PC – Personal Computer – персональний комп'ютер;

RNN – Recurrent Neural Network – рекурентна нейронна мережа;

SAM – Segment Anything Model – модель для сегментації будь-яких об'єктів;

Tiny-ViT – компактна версія архітектури Vision Transformer;

U-Net – архітектура нейронної мережі для сегментації зображень;

YOLO – You Only Look Once – інструмент для детектування та трекінгу об’єктів в реальному часі;

2D – Two-Dimensional – двовимірний;

3D – Three-Dimensional – тривимірний;

4D – Four-Dimensional – чотиривимірний.

ВСТУП

Кріоконсервація – це процес зберігання живих клітин і тканин при дуже низьких температурах протягом тривалого часу. Цей процес є важливим методом у клітинній інженерії, він значно допомагає у зберіганні та консервації тканин на довготривалому проміжку часу. Основним чинником, який впливає на збереження клітин або тканин на довготривалому проміжку часу, є зменшення біологічних та хімічних реакцій живих клітин при низьких температурах. Однак заморожування призводить до загибелі більшості живих тканин, оскільки воно спричиняє утворення екстрацелюлярних та внутрішньоклітинних кристалів льоду, що змінює хімічний склад клітини та завдає їй шкоду.

Зі швидким розвитком штучного інтелекту та його застосуванням у різних галузях науки та технологій, відбувся значний прогрес у розвитку інструментів та методів інтелектуального аналізу трекінгу клітин при кріоконсервації. У 2000-х роках почали активно розвивати алгоритми комп'ютерного зору для виявлення та відстеження клітинних структур на зображеннях, а також методи машинного навчання для автоматичної класифікації та аналізу отриманих даних. Це дозволило значно полегшити та прискорити аналіз трекінгу клітин під час кріоконсервації, відкривши нові можливості для досліджень у галузі медицини та науки про життя.

Кріоконсервація клітин відіграє ключову роль у медицині та дослідницьких сферах, оскільки вона відкриває широкі можливості для збереження й використання клітин та тканин. У медичній галузі, кріоконсервація дозволяє зберігати органи та тканини для трансплантації, що може врятувати життя пацієнтів та покращити їх якість життя. У дослідницькій сфері, ця технологія відкриває можливості для збереження клітин для майбутніх досліджень, що дозволяє вченим вивчати їх далі та розвивати нові методи лікування та діагностики [1].

Таким чином, об'єктом дослідження даної роботи є зміна форми та динаміка руху клітин під час процесу кріоконсервації. Предметом дослідження є аналіз цифрових файлів, що містять зображення набору клітин, зафіксованих під час процесу кріоконсервування. Метою цього дослідження є аналіз та оцінка сучасних методів та інструментів штучного інтелекту для інтелектуального аналізу трекінгу клітин, огляд доступних технологій та методологій для аналізу руху та зміни форми клітин під час кріоконсервації.

1 ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ КРІОКОНСЕРВАЦІЇ ТА ТРЕКІНГУ КЛІТИН

1.1 Кріоконсервація: визначення, історія та сучайний стан

Першу теорію кріоконсервації сформулював ще в 1930-х роках Б.Ж. Люйєт (B.J. Luyet, католицький священник та американський іммігрант зі Швейцарії.), перемістивши дослідження до наукового курсу. Він зазначав, що ключем до успішної кріоконсервації клітин будь-якого типу та виду є уникнення льоду всередині клітин і побічних ефектів замерзання зовні.

Наука про низькотемпературну біологію стала модною після Другої світової війни, у 1951 році в Королівському інституті в Лондоні відбувся симпозіум для огляду перспектив кріоконсервації. Люйєт був запрошений разом із світилами науки, зокрема Олександром Флемінгом, Пітером Медаваром і Аланом Парксом, чия група зробила прорив, який обіцяв запустити революційне застосування у скотарстві та медицині. Одрі Сміт була кріобіологом, а Кріс Полдж був їхнім молодим аспірантом, чия кар’єра швидко піднялася до слави після того, як вони доповіли, що досліджуваний біоматеріал, змочений в розчині гліцерину, був захищений від заморожування. У їхній статті в журналі Nature [2] мимохідь згадується, що відкриття було зроблене «випадковим спостереженням», подібним до відкриття пеніциліну приблизно 20 років тому. Як зазначив Флемінг, «інколи можна знайти те, чого не шукаєш».

Також, в журналі Science у 1972 році було опубліковано коротку статтю [3], що описувала народження 57 мишей, які були виведені з ембріонів, заморожених у рідкий азот (LN2), деякі з яких були збережені до восьми днів при температурі − 196 °C. Інші живі миші виводилися з ембріонів, які були охолоджені і утримувалися протягом 15 хвилин у рідкому гелії при температурі − 269 °C.

Перша успішна вагітність людини із замороженим-розмороженим ембріоном була зафіксована вже у 1983 році, а перше живе народження – у 1984 році [4].

1.2 Основи трекінгу клітин: методи та задачі

З розвитком цієї технології з'явилися виклики щодо необхідності інтелектуального аналізу трекінгу клітин під час кріоконсервації. Насамперед у 1980-1990-х роках, коли стали активно застосовувати кріоконсервацію для збереження клітин та тканин у біомедичних дослідженнях та медичній практиці, з'явилася потреба в точному моніторингу та аналізі стану клітин під час цього процесу. Проблеми збереження морфології та функцій клітин при кріозаморозці стали важливими, враховуючи їхню подальшу використовуваність для трансплантації, наукових досліджень та інших застосувань.

1.3 Вплив кріоконсервації на клітини: біологічні та фізичні аспекти

Під час процесу кріоконсервації, клітини піддаються екстремально низьким температурам, що може викликати ряд змін у їх структурі та функціях. Розуміння цих змін дуже важливе для розробки ефективних методів зберігання та використання клітин. Наприклад, дослідження може виявити оптимальні умови для заморожування клітин різних типів, що дозволить зберегти їх життєздатність та функціональність. Для вчених також важливо розуміти зміни, що відбуваються в клітинах під час кріоконсервації, оскільки це дозволяє вдосконалювати процес заморожування та розробляти нові методи зберігання клітин. Розуміння механізмів, які впливають на клітини під час цього процесу, може покращити результати трансплантацій та зберігання генетичного матеріалу.

1.4 Виклики та проблеми трекінгу клітин під час кріоконсервації

Кріоконсервація клітин є важливою технікою для збереження життєздатності клітин та тканин. Однак, цей процес може призводити до змін у морфології та впливати на рухомість клітин, що має критичні наслідки відносно їх функціональності та виживання. Динаміка руху та зміна форми клітин під час кріоконсервації можуть бути показниками стану клітин та їх адаптації до екстремальних умов зберігання. Розуміння цих змін є важливим для оптимізації процесу кріоконсервації та забезпечення максимальної життєздатності клітин після розморожування.

2 МЕТОДИ ШТУЧНОГО ІНТЕЛЕКТУ ДЛЯ ТРЕКІНГУ КЛІТИН

Методи машинного навчання та глибокого навчання мають великий потенціал для застосування в аналізі трекінгу клітин під час кріоконсервації. Машинне навчання дозволяє автоматизувати процеси аналізу та класифікації клітин, забезпечуючи високу точність та надійність результатів. З іншого боку, глибоке навчання відкриває можливості для розуміння складних взаємозв'язків між клітинами та їхньою поведінкою. Методи машинного навчання дозволяють ефективно аналізувати великі обсяги даних та використовувати їх для класифікації та групування клітин за різними критеріями. Інакше кажучи, глибоке навчання забезпечує більш продуктивний аналіз зображень клітин, розробку моделей трекінгу та виявлення складних особливостей. Розглянемо детальніше.

2.1 Конволюційні нейронні мережі для аналізу зображень клітин

Конволюційні (згорткові) нейронні мережі (CNN) – це важливий інструмент у сфері аналізу зображень клітин при кріоконсервації. Вони спеціалізуються на автоматичному виявленні складних ознак і закономірностей на зображеннях, що робить їх незамінними для вивчення морфологічних характеристик клітин та виявлення змін, пов'язаних із процесом кріоконсервації.

Основна перевага CNN полягає у їхній здатності автоматично вивчати ознаки на зображеннях без потреби в ручному визначенні ознак. Вони використовують фільтри (ядра), що просуваються по зображенню, виявляючи різні аспекти вхідних даних. Це дозволяє CNN автоматично визначати різноманітні ознаки клітин, включаючи їхню форму, розмір, текстуру та інші морфологічні особливості.

У контексті кріоконсервації, CNN можуть виявляти ознаки, що вказують на структурні зміни у клітинах, включаючи пошкодження

мембран, утворення кристалів льоду та інші аномалії. Це може бути корисним для оцінки ефективності процесів кріоконсервації та розробки оптимальних протоколів зберігання клітин.

Додатково, CNN можуть використовуватися для передбачення результатів кріоконсервації на основі зображень клітин. Це може допомогти в оцінці якості збереження клітин та покращенні процесу кріоконсервації. Так, дослідники Momoh Karmah Mbogba, Zeeshan Haider та ін. у своєму дослідженні запропонували архітектуру згорткової нейронної мережі (CNN), щоб виділити всі межі клітинок, коли вони стискаються в поглинальному льоду [5].

Перевагами CNN для аналізу зображень клітин є наступні:

− CNN здатні автоматично виявляти важливі ознаки зображень без необхідності ручного виокремлення. Це особливо корисно для аналізу клітин, де важливі ознаки можуть бути складними та багатовимірними;

− завдяки своїй архітектурі, CNN досягають високої точності в задачах класифікації та сегментації зображень. Це дозволяє точно визначати та класифікувати різні типи клітин і структури всередині клітини;

− добре масштабуються на великих наборах даних, що дозволяє обробляти та аналізувати велику кількість зображень клітин, отримуючи надійні результати;

− можуть виявляти та розпізнавати складні патерни та взаємозв’язки в даних, що особливо важливо для розуміння складних біологічних процесів на рівні клітин;

− CNN можуть бути адаптовані до різних задач аналізу зображень, включаючи класифікацію, сегментацію, трекінг та виявлення об'єктів. Це робить їх універсальними інструментами для біомедичного аналізу.

Недоліками CNN для аналізу зображень клітин можна виділити наступні:

− для ефективного навчання CNN необхідні великі обсяги даних, які можуть бути важко доступними в деяких біомедичних застосуваннях.

Недостатня кількість даних може призвести до недостатньої точності моделі;

− навчання та інференція CNN вимагають значних обчислювальних ресурсів, таких як потужні графічні процесори (GPU). Це може бути проблемою для дослідників з обмеженими ресурсами;

− навчання CNN може займати значний час, особливо для великих та складних моделей. Це може бути проблемою в середовищах, де потрібно швидко отримувати результати;

− налаштування та оптимізація CNN вимагає глибоких знань у галузі машинного навчання та обробки зображень. Це може створити бар'єр для дослідників, які не мають відповідного досвіду;

− CNN є чутливими до вибору гіперпараметрів, таких як розмір фільтра, кількість шарів, швидкість навчання тощо. Неправильний вибір цих параметрів може призвести до поганої продуктивності моделі.

Хоча CNN є потужними інструментами, результати, які вони генерують, можуть бути важкими для інтерпретації. Виявлення важливих ознак та розуміння внутрішньої логіки моделі може бути викликом.

2.2 Рекурентні нейронні мережі для аналізу послідовностей зображень

Рекурентні нейронні мережі (RNN) є важливим інструментом для аналізу послідовностей зображень. Ці мережі здатні враховувати не лише просторові, але й часові залежності в послідовності зображень, що дозволяє їм виявляти складні динамічні зміни, що відбуваються під час кріоконсервації клітин. Використання RNN в цьому контексті дозволяє аналізувати ряд зображень, представляючи фази різних процесів кріоконсервації.

Основні переваги використання RNN в аналізі зображень клітин полягають у їх здатності до автоматичного виявлення та врахування динаміки змін, пов'язаних з кріоконсервацією, а також у їхній здатності до

прогнозування майбутніх станів клітини на основі попередніх зображень. Це важливо для вчасного виявлення потенційних проблем та оптимізації процесу кріоконсервації для досягнення максимальної ефективності та збереження живих клітин.

Застосування RNN у цій області включає їхнє використання для відстеження змін у структурі та морфології клітин протягом процесу кріоконсервації. RNN можуть виявляти навіть найменші зміни у зовнішньому вигляді клітин та відстежувати їхню динаміку протягом тривалого періоду часу, що допомагає визначити ефективність процесу кріоконсервації та забезпечити оптимальні умови для збереження клітин. Наприклад, дослідники Паола Руіз Пуентес, Наталія Вальдерамма та інші, представили у своєму дослідженні алгоритм на основі машинного навчання як альтернативу для більш точного пошуку нових фармакологічних кандидатів, який використовує переваги рекурентних нейронних мереж (RNN) для активного прогнозування молекул у великих базах даних [6].

Можна виділити наступні переваги RNN для аналізу послідовностей зображень клітин:

− RNN спеціально розроблені для обробки послідовностей даних, що дозволяє їм ефективно аналізувати тимчасові залежності між зображеннями клітин. Це важливо для відстеження динаміки змін клітин протягом часу;

− завдяки своїй архітектурі, RNN можуть зберігати інформацію про попередні кадри, що допомагає у визначенні та розпізнаванні клітинних процесів, які залежать від контексту попередніх зображень;

− RNN можуть бути використані для обробки різноманітних типів послідовних даних, таких як відео чи серії зображень, що робить їх універсальними інструментами для аналізу клітинних процесів;

− використання різних варіацій RNN, таких як LSTM (Long Short-Term Memory) та GRU (Gated Recurrent Unit), дозволяє моделювати складні залежності та забезпечує більш стабільне навчання;

− RNN можуть бути інтегровані з конволюційними нейронними мережами (CNN) для створення потужних моделей, здатних обробляти як просторові, так і часові залежності в зображеннях клітин.

Недоліки RNN для аналізу послідовностей зображень клітин:

− RNN можуть мати труднощі з навчанням довготривалих залежностей через проблему зникнення градієнта. Хоча модифікації, такі як LSTM і GRU, частково вирішують цю проблему, вони можуть бути складнішими для налаштування;

− навчання RNN може бути обчислювально інтенсивним і вимагати значних ресурсів, особливо для довгих послідовностей або великих наборів даних зображень клітин;

− навчання RNN часто займає більше часу порівняно з іншими моделями, такими як CNN, через необхідність обробки кожного кадру послідовності окремо та врахування попередніх кадрів;

− налаштування та оптимізація RNN можуть бути складними, оскільки вони мають багато параметрів, які потребують належного налаштування для досягнення високої продуктивності;

− RNN можуть бути чутливими до вибору гіперпараметрів, таких як довжина послідовності, розмір прихованого шару та швидкість навчання. Неправильний вибір параметрів може суттєво вплинути на результати;

− хоча RNN можуть ефективно моделювати послідовності даних, результати, які вони генерують, можуть бути важкими для інтерпретації. Розуміння внутрішньої логіки моделі може бути викликом, що ускладнює аналіз і пояснення результатів.

2.3 Використання YOLO для реального часу виявлення клітин

Використання інструменту YOLO («You Only Look Once») для реального виявлення клітин є сучасним підходом, що відкриває широкі можливості для полегшення та прискорення процесу аналізу клітин у

біологічних та медичних дослідженнях. Завдяки YOLO, можливо автоматично визначати та локалізувати клітини на зображеннях з високою точністю та швидкістю, що дозволяє зробити аналіз більш ефективним і продуктивним. Такий підхід може мати велике значення для різноманітних областей, включаючи медичну діагностику, дослідження клітинної біології та фармацевтичну промисловість, де швидке та точне виявлення клітин має критичне значення [7].

YOLO – це потужний алгоритм машинного навчання, призначений для об'єктного розпізнавання на зображеннях, який може працювати в реальному часі. Він розділяє кожне зображення на сітку клітин різного розміру, кожна з яких відповідає певному регіону. Далі для кожної клітини виконується аналіз для визначення присутності об'єктів всередині. Після цього інформація з усіх регіонів агрегується, і на виході отримуємо один набір регіонів, що містять знайдені об'єкти.

Головна перевага алгоритму YOLO полягає в його ефективності, оскільки він може аналізувати зображення та визначати клітини лише за один прохід через нейронну мережу, що робить його досить швидким і підходить для застосування в реальному часі. Для досягнення найкращих результатів у виявленні клітин YOLO може бути навчений на великому наборі даних, який включає зображення клітин різних типів та форм.

Використання алгоритму YOLO для реального виявлення клітин дозволяє автоматизувати та прискорити процес аналізу, що є важливим для вимірювання клітинних параметрів та моніторингу їх реакції, в тому числі під час кріоконсервації. Цей підхід дозволяє ефективно відокремлювати клітини від фону та виявляти їх місцевість, що забезпечує більш точний та надійний аналіз, особливо у вимогливих умовах.

Переваги використання:

− здатний швидко виявляти об'єкти, обробляючи зображення в реальному часі. Це дозволяє миттєво ідентифікувати клітини, що важливо для динамічних біологічних процесів;

− здійснює одночасну детекцію всіх об'єктів на зображенні, розбиваючи його на сітку та аналізуючи кожен регіон паралельно. Це значно підвищує продуктивність порівняно з методами, які обробляють кожен об'єкт окремо;

− підходить для виявлення клітин різних типів і розмірів на зображеннях з різних джерел, таких як мікроскопічні знімки. Це робить його універсальним інструментом для біологічних досліджень;

− завдяки своїй архітектурі та методиці навчання, YOLO забезпечує високу точність виявлення об'єктів, що важливо для точного аналізу клітин та їх характеристик;

− YOLO легко масштабувати для обробки великих наборів даних, що робить його придатним для обробки великих обсягів зображень у біомедичних дослідженнях.

Недоліки використання YOLO:

− використовує фіксовану сітку для розбиття зображення, що може обмежувати роздільну здатність детекції дрібних об'єктів. Це може бути критичним для виявлення дуже малих клітинних структур;

− алгоритм може бути чутливим до шуму в зображеннях, що може вплинути на точність виявлення клітин, особливо в умовах низької якості зображень або наявності артефактів;

− вимагає великих обсягів анотованих даних та потужних обчислювальних ресурсів для ефективного навчання. Для деяких біологічних досліджень може бути складно зібрати достатню кількість якісних даних та забезпечити виконання алгоритму достатньою кількістю обчислювальних ресурсів;

− YOLO може мати обмеження у виявленні об'єктів з високою варіативністю форми та розміру, що може ускладнити аналіз складних клітинних структур або об'єктів з нестандартними формами.

2.4 Алгоритми трекінгу об'єктів

2.4.1 Алгоритм Канаде-Лукаса-Томасі

Алгоритм Канаде-Лукаса-Томасі (KLT) використовується для виявлення ключових точок на зображеннях та відстеження їх переміщення під час зміни кадрів [8]. Він працює шляхом ідентифікації особливих точок на початковому зображенні, таких як кути або різкі зміни контрасту. Потім ці ключові точки використовуються для відстеження їх руху на наступних кадрах. Алгоритм аналізує зміни в положенні та інтенсивності кожної ключової точки, щоб визначити її нове місцеположення. Цей процес дозволяє відстежувати рух об'єктів на зображенні від одного кадру до іншого з високою точністю.

Переваги використання алгоритму KLT:

− алгоритм здатний точно визначати ключові точки на зображеннях і відстежувати їх переміщення між кадрами. Це забезпечує детальне і точне відстеження руху клітин;

− досить стійкий до змін освітлення, що є важливим для аналізу біологічних зображень, де освітлення може варіюватися;

− може працювати в реальному часі, що дозволяє відстежувати динамічні процеси в клітинах і їх взаємодії з навколишнім середовищем;

− можна легко інтегрувати з іншими методами і системами для комплексного аналізу зображень клітин. Це робить його зручним для використання у багатьох біологічних та медичних додатках;

− є досить швидким і продуктивним, що дозволяє обробляти великі обсяги зображень за короткий час. Це важливо для високопродуктивних досліджень у біології та медицині.

Недоліки використання алгоритму:

− KLT може бути чутливим до шуму в зображеннях, що може впливати на точність відстеження ключових точок, особливо у випадку низькоякісних зображень;

− алгоритм працює найкраще для малих переміщень об'єктів між кадрами. Для великих переміщень він може бути менш ефективним і потребує додаткових корекцій;

− потребує високоякісних зображень з достатньою роздільною здатністю для точного визначення і відстеження ключових точок. Це може бути проблематичним для зображень з низькою роздільною здатністю;

− може мати труднощі з точним відстеженням ключових точок у випадках значних обертань або деформацій об'єктів. Це може впливати на точність відстеження клітин;

− може вимагати ручного налаштування параметрів для оптимальної роботи на конкретних наборах даних. Це може бути трудомістким процесом і потребувати додаткових знань та досвіду.

2.4.2 Алгоритм Multiple Hypothesis Tracking

Алгоритм Multiple Hypothesis Tracking (MHT) відноситься до методів трекінгу об'єктів, який використовує підхід з генерації кількох гіпотез щодо можливого розташування об'єктів на зображенні та їх оновлення на основі нових спостережень. Суть методу полягає в тому, що він створює не одну, а кілька гіпотез про те, де можуть знаходитися об'єкти, і використовує інформацію з нових кадрів для підтвердження або відкидання цих гіпотез. На основі нових спостережень алгоритм переглядає та оновлює кожну гіпотезу, враховуючи ймовірність її вірності. Цей процес дозволяє враховувати неоднозначність та змінювану природу руху об'єктів, що може спостерігатися на зображеннях, та підвищує точність відстеження об'єктів протягом часу [9].

Переваги використання Multiple Hypothesis Tracking:

− алгоритм здатний створювати та оновлювати кілька гіпотез щодо розташування об'єктів. Це дозволяє йому гнучко адаптуватися до складних і динамічних сцен з численними об'єктами;

− завдяки створенню й оновленню декількох гіпотез, МНТ може ефективно відстежувати об'єкти навіть у випадках, коли їх траєкторії перетинаються або коли об'єкти тимчасово зникають із поля зору;

− МНТ алгоритм може працювати з даними, які містять шум, оскільки він генерує кілька гіпотез і вибирає найбільш ймовірні з них на основі нових спостережень. Це підвищує надійність відстеження у складних умовах;

− може бути налаштований для роботи в реальному часі, що дозволяє його використовувати для безперервного моніторингу клітин у біологічних дослідженнях і медичних додатках;

− алгоритм здатний адаптуватися до змін у кількості об'єктів у сцені, що важливо для аналізу клітин, де об'єкти можуть з'являтися або зникати.

Недоліки використання:

− генерація та оновлення кількох гіпотез потребує значних обчислювальних ресурсів. Це може бути проблематично при аналізі великих обсягів даних або при роботі в реальному часі з обмеженими ресурсами;

− алгоритм є складним у реалізації та налаштуванні. Він вимагає глибоких знань у галузі обробки зображень та машинного навчання;

− для точного відстеження об'єктів МНТ алгоритм потребує великої кількості даних для навчання і оновлення гіпотез. Це може бути складним завданням у випадках обмежених або неоднорідних даних;

− попри генерування кількох гіпотез, є ризик створення помилкових гіпотез, особливо у випадках складних або низькоякісних зображень. Це може призводити до помилок у відстеженні;

− МНТ алгоритм потребує постійного оновлення гіпотез на основі нових спостережень. Це може вимагати значних ресурсів і складних обчислень для підтримання точності відстеження.

2.4.3 Метод Particle Filter

Метод Particle Filter, або фільтр частинок, є ще одним методом трекінгу об'єктів, який використовує набір частинок для відтворення можливих місць розташування об'єктів та їх оновлення залежно від нових даних. Суть цього методу полягає в тому, що він використовує набір частинок, які представляють різні можливі положення об'єктів на зображенні [10].

Кожна частинка має свої координати та вагу, що відображає ймовірність того, що це положення об'єкта є правильним. Після отримання нових даних з нових кадрів зображення алгоритм використовує ці дані для оновлення кожної частинки, змінюючи їх координати та ваги відповідно до вірогідності цього положення. Через цей процес фільтрації та оновлення частинок алгоритм може ефективно відстежувати рух об'єктів та відтворювати їхні траєкторії з високою точністю.

Алгоритми трекінгу на основі кореляції використовують кореляційні фільтри для відстеження об'єктів на зображеннях, особливо тих, що швидко переміщуються. Основна ідея полягає в тому, щоб шукати області на новому зображенні, які максимально корелюють з областями на попередньому зображенні, які відповідають об'єктам, що рухаються.

Переваги використання методу Particle Filter:

− Particle Filter може адаптуватися до складних і нелінійних рухів об'єктів. Це робить його ефективним для відстеження клітин, які можуть переміщуватися хаотично або непередбачувано;

− здатен обробляти дані, що містять шум, оскільки використовує ймовірнісні моделі для оцінки можливих місць розташування об'єктів. Це забезпечує надійність у складних умовах;

− завдяки своїй адаптивності та ймовірнісному підходу, PF може працювати в режимі реального часу, що є важливим для безперервного моніторингу клітинних процесів;

− PF використовує набір частинок, кожна з яких представляє можливу гіпотезу щодо розташування об'єкта. Це дозволяє зберігати кілька можливих варіантів одночасно, підвищуючи точність відстеження;

− може ефективно працювати в умовах, коли кількість об'єктів змінюється, що часто зустрічається у біологічних системах.

Недоліки використання:

− обчислення великої кількості частинок для кожного кроку відстеження потребує значних ресурсів, що може бути проблематично при аналізі великих обсягів даних або при роботі в реальному часі;

− коли кількість об'єктів на зображенні дуже велика, PF може стати менш ефективним і вимагати значного збільшення кількості частинок для збереження точності;

− якщо початкові оцінки місць розташування об'єктів неправильні, PF може мати проблеми з конвергенцією до правильного розташування, що призводить до помилок у відстеженні;

− PF потребує точного моделювання руху об'єктів. Неправильна модель руху може призвести до значних помилок у відстеженні;

− налаштування PF для конкретного завдання може бути складним і вимагати експертних знань, особливо у випадках складних біологічних систем.

3 СЕГМЕНТАЦІЯ ЗОБРАЖЕНЬ У ТРЕКІНГУ КЛІТИН

Сегментація зображень є ключовим етапом у трекінгу клітин, що дозволяє виділити окремі клітини на мікроскопічних зображеннях та розділити їх від фону та інших структур. Цей процес є критично важливим для подальшого аналізу клітинної поведінки, взаємодій та динаміки у різних біологічних дослідженнях. Завдяки сучасним методам сегментації, таким як пороговий аналіз, кластеризація, регіональне зростання та глибинне навчання, дослідники можуть отримати високоточні результати навіть при роботі з великими обсягами зображень та складними біологічними структурами. Інноваційні підходи, зокрема вейвлетна сегментація та сегментація на основі глибоких нейронних мереж, дозволяють автоматизувати процеси аналізу та забезпечити більш точні та надійні результати, що є надзвичайно важливим для розуміння клітинних процесів та розробки нових медичних технологій.

3.1 Порогова сегментація: основні принципи та застосування

Порогова сегментація – це один з основних методів обробки зображень, який використовується для виділення клітин або об'єктів на зображенні шляхом визначення та застосування певного порогу інтенсивності пікселів. Основний принцип полягає у тому, що пікселі, які мають інтенсивність вищу або нижчу за певне значення (поріг), належать об'єкту або фону відповідно [11].

Для трекінгу клітин порогова сегментація може бути використана для виділення контурів клітин на мікроскопічних зображеннях. Зазвичай вона використовується в поєднанні з іншими методами сегментації та алгоритмами трекінгу для поліпшення точності та надійності результатів. Наприклад, порогова сегментація може бути застосована для попереднього

виділення клітин на зображенні, а потім інші алгоритми можуть бути використані для виявлення та відстеження їх руху в часі.

Переваги порогової сегментації:

− є одним з найпростіших методів сегментації зображень і вимагає мінімальних обчислювальних ресурсів;

− цей метод є досить швидким і може бути легко використаний для обробки великого обсягу зображень у реальному часі;

− може бути успішно використана для широкого спектра зображень, включаючи зображення клітин, тканин, мікроорганізмів та інших біологічних об'єктів.

Недоліки порогової сегментації:

− може бути чутливою до змін у рівнях освітлення та контрастності на зображенні, що може призвести до неправильної сегментації об'єктів або фону;

− правильний вибір порогового значення є критичним для отримання задовільних результатів сегментації. Відповідний поріг повинен бути підібраний експериментально, що може бути складним у випадку зображень зі складною текстурою або великим шумом;

− може вимагати попередньої обробки зображення, такої як видалення шуму або покращення контрастності, щоб досягти кращих результатів.

3.2 Методи на основі кластеризації

3.2.1 K-середніх

K-середніх (K-means) – це один з найпоширеніших методів кластерного аналізу, який використовується для групування схожих даних у K кластерів. Основна ідея полягає в тому, щоб розділити набір даних на K груп так, щоб кожен об'єкт належав лише одному кластеру, а об'єкти

всередині кожного кластера були близькі за визначеною мірою схожості [12].

Процес K-середніх складається з наступних кроків:

1) вибирається кількість кластерів K;

2) випадковим чином ініціалізуються центри кластерів;

3) кожен об'єкт даних призначається до найближчого центру кластера;

4) центри кластерів перераховуються як середнє арифметичне всіх об'єктів, які належать до кожного кластера;

5) кроки 3 і 4 повторюються, поки центри кластерів не стабілізуються або досягне максимальна кількість ітерацій.

Перевагами методу K-середніх можна виділити наступні:

− цей метод легко реалізувати та зрозуміти навіть без глибоких знань математики або статистики. Він дозволяє швидко проводити кластерний аналіз без складних обчислень;

− є ефективним методом для великих обсягів даних, оскільки має низьку обчислювальну складність. Він може швидко аналізувати великі набори даних без значних затрат на обчислювальні ресурси;

− оскільки користувач визначає кількість кластерів K, метод K-середніх дозволяє гнучко адаптуватися до конкретних потреб і характеристик даних. Це означає, що його можна використовувати для різноманітних завдань кластерного аналізу, де кількість кластерів може варіюватися від задачі до задачі.

Недоліками можна виділити наступні:

− чутливість до початкових умов, тобто початкові центри кластерів випадковим чином вибираються, і результати алгоритму можуть суттєво змінюватися залежно від початкового розташування цих центрів;

− визначення кількості кластерів K є суттєвою складністю методу K-середніх. Неправильний вибір кількості кластерів може призвести до поганих результатів або неправильних висновків;

− метод K-середніх чутливий до викидів, тобто віддалених або аномальних значень в даних. Навіть один великий викид може значно спотворити результати кластерного аналізу, особливо якщо кількість кластерів невелика.

3.2.2 Fuzzy C-Means

Fuzzy C-Means (FCM) – це алгоритм кластеризації, який розширює ідеї класичного алгоритму K-середніх, дозволяючи об'єктам належати до кожного кластера з певною ймовірністю. У FCM, кожен об'єкт представляється в просторі ознак і має вектор належності, що показує ймовірність його належності до кожного кластера. Початкові центри кластерів і вектори належності ініціалізуються випадковим чином. На кожній ітерації алгоритму обчислюється центр кожного кластера на основі вагової середньої позиції об'єктів, з урахуванням їх векторів належності. Потім вектори належності оновлюються на підставі відстані від об'єктів до центрів кластерів, і процес повторюється до збігу.

Так, науковці Деніел Краснов, Дресія Девіс та інші, у своєму дослідженні зазначили, що FCM на основі відстані Махаланобіса створював зображення з вищою точністю кластеризації, ніж FCM на основі евклідової відстані. Різниця в точності може бути виправдана розглядом кореляції в даних у функції відстані Махаланобіса. Розглянуті алгоритми демонструють потенціал для комп’ютерної сегментації пухлин молочної залози в медичній візуалізації [13].

Переваги:

− здатність обробляти нечіткі та дані, що перекриваються, і це робить алгоритм більш гнучким у порівнянні зі звичайними методами кластеризації;

− об'єкти можуть належати до кількох кластерів одночасно, що відображає реальну натуру деяких даних;

− Здатність працювати з даними, які мають різну форму та розмір, що робить алгоритм придатним для широкого спектра завдань кластеризації.

Недоліки Fuzzy C-Means:

− чутливість до початкових умов – алгоритм може давати різні результати при різних початкових наближеннях;

− може бути обчислювально витратним, особливо при роботі з великими обсягами даних та великою кількістю кластерів;

− потреба заздалегідь визначати кількість кластерів, що може бути важким завданням у деяких випадках.

3.2.3 Агломеративна кластеризація

Агломеративна кластеризація є одним із методів ієрархічної кластеризації, що починається з розгляду кожного об'єкта як окремого кластера. Поступово, у процесі алгоритму, найменш віддалені кластери з'єднуються між собою, утворюючи дедалі більші кластери, доки всі об'єкти не будуть зібрані в один великий кластер. Цей процес створює дерево кластерів, відоме як дендрограма, яка візуально представляє порядок та рівень злиття кластерів [14].

Агломеративна кластеризація часто використовує різні методи для вимірювання відстаней між кластерами, такі як методи найменшого відстані (single linkage), середнього відстані (average linkage), або повного зв'язку (complete linkage).

Переваги:

− створює дендрограми, які можуть надати корисну візуалізацію та інтерпретацію даних;

− не потребує визначення кількості кластерів: Кількість кластерів можна визначити на основі дендрограми, що дозволяє гнучко обирати рівень деталізації;

− алгоритм відносно простий у реалізації і розумінні.

Недоліки:

− агломеративна кластеризація має високу обчислювальну вартість, особливо при роботі з великими наборами даних;

− алгоритм незворотний, тобто помилки, зроблені на початкових етапах об'єднання кластерів, не можуть бути виправлені;

− наявність шуму або викидів у даних може сильно вплинути на результати кластеризації, створюючи невірні злиття.

3.2.4 DBSCAN метод

DBSCAN (Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise) є одним із методів кластеризації, який формує кластери на основі щільності точок у просторі. Алгоритм ідентифікує області з високою щільністю точок як кластери, розділені областями з низькою щільністю, які розглядаються як шум або викиди. DBSCAN визначає кластери шляхом об'єднання точок, які знаходяться в межах заданої відстані (eps) одна від одної, і мають достатню кількість сусідніх точок (мінімальна кількість точок – minPts). Це дозволяє алгоритму виявляти кластери будь-якої форми та розміру, на відміну від методів, які передбачають сферичну форму кластерів.

DBSCAN починає з вибору довільної початкової точки. Якщо ця точка має достатню кількість сусідів у межах eps, вона стає ядром нового кластера, і всі сусідні точки додаються до цього кластера. Цей процес повторюється рекурсивно для всіх нових точок у кластері. Якщо точка не має достатньої кількості сусідів, вона позначається як шум, але може стати частиною кластера, якщо пізніше буде виявлено, що вона лежить у межах eps іншого ядра. Алгоритм продовжує кластеризацію, поки всі точки не будуть відвідані.

Так, науковці Дів’я Спорсі, Шанмук Редді Манне та інші, у своєму дослідженні зазначили, що для того, щоб проаналізувати зв’язок між локалізацією клітин і фізіологією тканини, алгоритми кластеризації на

основі щільності, такі як DBSCAN, дозволяють детально охарактеризувати просторовий розподіл і позиціювання окремих клітин. Таким чином, дослідники показали важливість розроблених розширень для відповідного аналізу експериментів з культурою клітин для визначення зв’язку між локалізацією клітин і фізіологією тканини [15].

Переваги:

− DBSCAN ефективно виявляє кластери довільної форми, що важливо для реальних даних, де кластери рідко мають сферичну форму;

− на відміну від багатьох інших алгоритмів, таких як K-means, DBSCAN автоматично визначає кількість кластерів;

− DBSCAN добре обробляє дані з шумом і викидами, ідентифікуючи їх як окремі точки, що не належать до жодного кластеру;

− параметри eps і minPts дозволяють налаштувати алгоритм під конкретні набори даних та потреби аналізу.

Недоліки:

− вибір параметрів eps і minPts сильно впливає на результати кластеризації. Неправильно обрані параметри можуть призвести до невиявлення кластерів або до надмірної сегментації;

− DBSCAN може мати труднощі з виявленням кластерів із суттєво різною щільністю, оскільки фіксовані значення eps і minPts можуть не підходити для всіх кластерів;

− хоча DBSCAN може бути швидким для менших наборів даних, його обчислювальна складність зростає квадратично з кількістю точок, що може робити його непридатним для дуже великих наборів даних без оптимізації.

3.2.5 Спектральна кластеризація

Спектральна кластеризація (Spectral Clustering) є потужним методом кластеризації, який використовує спектральні властивості матриці суміжності даних для виявлення кластерів. На відміну від традиційних

методів, таких як K-means, які працюють у вихідному просторі даних, спектральна кластеризація працює в просторі власних векторів графа, що представляє дані. Це дозволяє виявляти кластери будь-якої форми і складності. Спектральна кластеризація починається зі створення матриці суміжності, яка відображає подібність між точками даних. Потім обчислюються власні вектори цієї матриці, і дані проектуються в простір зниженої розмірності, де стандартні методи кластеризації, такі як K-means, використовуються для виявлення кластерів.

Перший крок в спектральній кластеризації полягає в побудові графа суміжності, де кожна вершина представляє точку даних, а ребра з'єднують вершини, які є подібними. Далі обчислюється матриця Лапласа цього графа. Власні вектори матриці Лапласа використовуються для проєктування даних у новий простір меншої розмірності. Це дозволяє виявляти структури, які важко знайти в оригінальному просторі даних. У кінцевому результаті, стандартний алгоритм кластеризації, такий як K-means, застосовується до проєктованих даних для визначення остаточних кластерів [16].

Переваги:

− спектральна кластеризація ефективно виявляє кластери складної форми і різної щільності, що робить її більш гнучкою порівняно з методами, які передбачають сферичні кластери;

− використання власних векторів графа дозволяє алгоритму враховувати глобальну структуру даних, а не лише локальні властивості;

− можливість використовувати різні функції подібності для побудови матриці суміжності дозволяє налаштовувати спектральну кластеризацію під конкретні задачі та набори даних;

− спектральна кластеризація може виявляти кластери з різними розмірами та щільностями, що важливо для аналізу реальних даних.

Недоліки:

− обчислення власних векторів великої матриці суміжності є обчислювально складним і може бути непридатним для дуже великих наборів даних;

− вибір параметрів, таких як функція подібності й кількість власних векторів, може суттєво впливати на результати кластеризації;

− спектральна кластеризація, як правило, потребує попереднього знання або оцінки кількості кластерів, що може бути складним у деяких випадках;

− збереження та обробка матриці суміжності для великих наборів даних може вимагати значних обсягів пам'яті;

Таким чином, спектральна кластеризація є потужним і гнучким інструментом, який дозволяє виявляти складні та нестандартні структури в даних. Проте її обчислювальна складність і чутливість до параметрів вимагають уважного налаштування й оптимізації.

3.3 Методи на основі контурів

Методи на основі контурів є важливими інструментами в інтелектуальному аналізі трекінгу клітин. Вони забезпечують ефективне і точне виявлення та відстеження меж клітин у біологічних зображеннях. Ці методи використовують різні підходи для сегментації та трекінгу клітин, допомагаючи дослідникам краще розуміти клітинну морфологію, динаміку та взаємодії.

3.3.1 Активні контури

Активні контури, також відомі як «змії» (snakes), використовуються для виявлення меж об'єктів на зображеннях. Метод базується на ініціалізації кривої поблизу передбачуваного об'єкта, яка потім деформується під впливом внутрішніх та зовнішніх сил. Внутрішні сили забезпечують

гладкість кривої, а зовнішні – притягують криву до країв об'єкта. Цей метод є дуже гнучким і може адаптуватися до складних форм, що робить його корисним для сегментації клітин з нерегулярними контурами [17], [18]

Так, дослідники Максим Тимкович, Олег Аврунін та інші, дослідили етапи обробки зображення для сегментації кристалів льоду за допомогою методу активних контурів. На основі описаних кроків розроблялося відповідне програмне забезпечення, яке покращило якість мікроскопічного аналізу для кращого розуміння процесу рекристалізації льоду. Розроблений додаток був успішно застосований для напівавтоматизованої сегментації та аналізу кристалів льоду під час ізотермічного відпалу [19].

Переваги методу активних контурів:

− активні контури можуть точно окреслювати об'єкти зі складними і нерегулярними контурами, адаптуючись до різноманітних форм. Це особливо корисно для сегментації клітин, які часто мають неоднорідні та складні межі;

− метод дозволяє дослідникам взаємодіяти з процесом сегментації, вручну налаштовуючи початкове розташування кривої та її параметри. Це забезпечує більш точні результати в складних випадках, де автоматичні методи можуть не впоратися;

− активні контури ефективно використовуються для відстеження об'єктів у відеопослідовностях, що дозволяє аналізувати динамічні зміни та переміщення клітин у реальному часі;

− активні контури можуть бути інтегровані з іншими методами сегментації та трекінгу, такими як вейвлетна сегментація або методи на основі глибинного навчання, для підвищення точності та надійності результатів.

Недоліки методу активних контурів:

− результати сегментації сильно залежать від початкового розташування кривої. Неправильна ініціалізація може призвести до

неточних результатів, особливо якщо об'єкт має складну форму або розташований у шумному середовищі;

− обчислювальні ресурси, необхідні для деформації кривої та її адаптації до контуру об'єкта, можуть бути значними, що робить цей метод менш придатним для обробки великих обсягів даних або реального часу без відповідної оптимізації;

− активні контури можуть мати труднощі з точним визначенням об'єктів, що мають глибокі западини або складні внутрішні структури. Це може вимагати додаткового налаштування параметрів або комбінування з іншими методами;

− у деяких випадках контур може не збігатися до бажаної межі об'єкта через неадекватні внутрішні або зовнішні сили. Це може призвести до потреби в додаткових ітераціях або ручному коригуванні.

Таким чином, метод активних контурів є потужним інструментом для сегментації зображень та трекінгу об'єктів, зокрема клітин. Він пропонує гнучкість та точність у визначенні складних форм, але вимагає обережного налаштування початкових умов і може бути обчислювально інтенсивними. Попри ці недоліки, активні контури залишаються важливим методом в арсеналі дослідників для аналізу біологічних зображень.

3.3.2 Вейвлетна сегментація

Вейвлетна сегментація працює шляхом застосування вейвлетних перетворень до зображення, що дозволяє аналізувати його на різних масштабах та частотах. Зображення розкладається на вейвлетні коефіцієнти, які представляють деталі зображення на різних рівнях. Це дозволяє виділяти корисну інформацію з зображення та зменшувати шум. Після цього на основі отриманих коефіцієнтів застосовуються методи кластеризації або порогові методи для виділення об'єктів [20].

Переваги вейвлетної сегментації:

− вейвлетне перетворення дозволяє аналізувати зображення на різних частотних рівнях, що допомагає виділити як великомасштабні, так і дрібні деталі. Це особливо корисно для виявлення клітин з різноманітними текстурами та розмірами;

− ефективно зменшує шум у зображенні, що забезпечує більш точне виділення об'єктів. Це важливо для аналізу клітин, де шум може сильно впливати на результати;

− вейвлетні методи можуть адаптуватися до різних умов освітлення та контрасту, що робить їх універсальними для аналізу зображень, отриманих за різних експериментальних умов;

− вейвлетне перетворення зберігає просторову інформацію про зображення, що дозволяє точно визначати місцеперебування об'єктів.

Недоліки вейвлетної сегментації:

− вейвлетне перетворення є обчислювально інтенсивним процесом, що може вимагати значних ресурсів для обробки великих зображень або відеопослідовностей у реальному часі;

− налаштування параметрів вейвлетного перетворення, таких як вибір типу вейвлета та рівнів декомпозиції, може бути складним і вимагати досвідчених знань для оптимального використання;

− результати сегментації можуть сильно залежати від вибору початкових умов та параметрів, що потребує обережного налаштування та тестування;

− для деяких типів зображень з високою складністю або сильним фоновим шумом вейвлетна сегментація може не забезпечити достатню точність і вимагатиме комбінування з іншими методами.

Підсумовуючи, можна сказати, що вейвлетна сегментація є потужним інструментом для аналізу зображень клітин, пропонуючи мультичастотний аналіз та ефективне зменшення шуму. Вона забезпечує високу адаптивність до різних умов та збереження просторової інформації, що є важливим для точного виділення клітин. Проте висока обчислювальна складність і

складність налаштування параметрів можуть бути значними перешкодами. Попри ці недоліки, вейвлетна сегментація залишається важливим методом для дослідників у сфері біологічного аналізу зображень.

3.4 Методи на основі гістограм

Гістограма зображення представляє розподіл інтенсивностей пікселів у зображенні. Вона є графіком, де вісь x відповідає різним значенням інтенсивності (наприклад, від 0 до 255 для 8-бітних зображень), а вісь y показує кількість пікселів для кожного значення інтенсивності. Цей розподіл може використовуватися для виявлення ключових особливостей зображення, таких як межі об'єктів, контраст та текстури.

3.4.1 Метод Оцу

Метод Оцу (Otsu's method) – це алгоритм для автоматичного визначення порогового значення для бінарної сегментації зображень. Основна ідея полягає в тому, щоб розділити зображення на дві групи пікселів: одна група містить пікселі зі значеннями яскравості нижче порогу, а інша – пікселі зі значеннями яскравості вище порогу. Алгоритм мінімізує внутрішньокласову дисперсію і максимізує міжкласову дисперсію, щоб знайти оптимальне порогове значення, що розділить об'єкти від фону [21].

Основна перевага методу Оцу полягає в його здатності адаптуватися до різноманітних умов зображень та автоматично визначати оптимальний поріг без необхідності ручного налаштування параметрів. Це робить метод Оцу корисним для сегментації клітин на зображеннях, особливо в ситуаціях, коли умови освітлення або шум варіюються.

Проте метод Оцу має свої обмеження та недоліки. Одним із найбільш важливих обмежень є його чутливість до нерівномірного освітлення та шуму на зображенні. Крім того, якщо зображення містить багато дрібних

деталей або змішаних об'єктів, метод може видавати непоодинокі результати.

Тобто метод Оцу є потужним інструментом для автоматичної сегментації зображень, включаючи зображення клітин, здатним до ефективної роботи в різних умовах. Однак його ефективність може бути обмеженою в деяких сценаріях, і для досягнення найкращих результатів може вимагати додаткової обробки або уточнень [22].

3.4.2 Кумулятивні гістограми

Кумулятивна гістограма є інструментом в аналізі зображень, що використовується для визначення порогового значення для сегментації. Вона представляє собою накопичену суму гістограми яскравості пікселів на зображенні, де вісь x відповідає значенням яскравості пікселів, а вісь y відображає кількість пікселів з певним значенням яскравості.

Перевагою використання кумулятивних гістограм є їхня здатність зберігати інформацію про розподіл яскравості на зображенні та визначати пороги для сегментації об'єктів. Вони дозволяють автоматично визначати оптимальні значення порогів на основі форми розподілу яскравості пікселів, що дозволяє ефективно виділяти клітини та інші об'єкти на зображенні [23].

Проте кумулятивні гістограми також мають свої недоліки. Наприклад, вони можуть бути чутливими до шуму та нерівномірного освітлення на зображенні, що може призвести до неточностей у визначенні порогових значень. Крім того, вони можуть виявитися менш ефективними в ситуаціях, коли розподіл яскравості пікселів має складну форму або велику варіативність.

У підсумку, кумулятивні гістограми є корисним інструментом для автоматичної сегментації зображень, але їх ефективність може залежати від умов освітлення та властивостей зображення.

4 ПРАКТИЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДІВ ШТУЧНОГО ІНТЕЛЕКТУ ДЛЯ ТРЕКІНГУ КЛІТИН ПРИ КРІОКОНСЕРВАЦІЇ

4.1 Огляд сучасних інструментів для обробки та аналізу зображень клітин

4.1.1 ImageJ/Fiji

ImageJ – це досить потужний і гнучкий програмний інструмент для обробки та аналізу зображень, створений Національними Інститутами Здоров'я (NIH) США. Завдяки своїй відкритій і безкоштовній природі, ImageJ став стандартом у багатьох наукових дисциплінах. Його модульна архітектура дозволяє користувачам розширювати функціональність за допомогою плагінів, що робить його придатним для широкого спектра завдань, від базової обробки зображень до складних аналізів, включаючи сегментацію, фільтрацію, вимірювання та візуалізацію [24].

Fiji (Fiji Is Just ImageJ) – це дистрибутив ImageJ, який містить попередньо встановлені плагіни та інструменти, розроблені спеціально для роботи з біомедичними зображеннями [25]. Fiji спрощує процес налаштування ImageJ, забезпечуючи дослідників готовим до використання набором інструментів. Він підтримує автоматизацію завдяки макросам і скриптам, що дозволяє обробляти великі набори даних без втручання користувача. Завдяки своїй інтеграції з різними бібліотеками та інструментами, Fiji є непоганим вибором для задач мікроскопії та біологічних досліджень.

Переваги:

− обидва інструменти є відкритими та безкоштовними, що дозволяє користувачам без обмежень використовувати та модифікувати їх;

− широка підтримка плагінів, які можна налаштовувати для різних завдань, від простих до складних;

− можливість автоматизації процесів обробки зображень за допомогою макросів і скриптів;

− здатність обробляти великі обсяги зображень, що є критично важливим для наукових досліджень.

Недоліки:

− ImageJ та Fiji можуть бути складними у вивченні для новачків, особливо для тих, хто не має досвіду в обробці зображень;

− деякі функції можуть вимагати знань програмування для повного використання;

− для обробки дуже великих зображень або об'ємів даних може знадобитися потужне обладнання, інакше це може займати значний час.

Та попри вказані недоліки, відкритість, безплатність та модульність роблять ImageJ та Fiji незамінними інструментами в сучасній науці.

4.1.2 CellProfiler

CellProfiler – це потужне програмне забезпечення для кількісного аналізу біологічних зображень. Основна мета CellProfiler полягає в автоматизації процесу аналізу зображень, зокрема у високопродуктивному скринінгу та кількісному аналізі клітинних зображень [26]. Програма надає широкий спектр інструментів для сегментації, виявлення та кількісної оцінки клітинних об'єктів, що дозволяє біологам та дослідникам ефективно аналізувати великі обсяги даних без необхідності в глибоких знаннях програмування.

CellProfiler дозволяє створювати та зберігати аналітичні пайплайни, що складаються з серії модулів для обробки зображень, таких як фільтрація, сегментація, ідентифікація об'єктів і вимірювання різних характеристик. Ці пайплайни можна налаштовувати та повторно використовувати, що забезпечує високу гнучкість і ефективність при роботі з різними типами біологічних зображень. Крім того, CellProfiler інтегрується з іншими

інструментами, такими як KNIME і Python, що дозволяє розширити його функціональність і забезпечити додаткові можливості для аналізу даних.

Переваги:

− CellProfiler є відкритим і безкоштовним програмним забезпеченням, що робить його доступним для широкого кола дослідників;

− можливість створення та збереження аналітичних пайплайнів, що забезпечує автоматизацію та відтворюваність аналізу;

− налаштовувані модулі для різних етапів обробки зображень дозволяють адаптувати інструмент під конкретні дослідницькі завдання;

− підтримка інтеграції з KNIME, Python та іншими інструментами розширює можливості аналізу та обробки даних.

Недоліки:

− для новачків може бути складно освоїти всі можливості та налаштування CellProfiler, особливо без попереднього досвіду в обробці зображень;

− аналіз великих обсягів даних може вимагати значних обчислювальних ресурсів і часу;

− інтерфейс може здатися незручним для користувачів, які звикли до більш сучасних та інтуїтивно зрозумілих програм.

Таким чином, попри суттєві недоліки, CellProfiler є потужним і гнучким інструментом для кількісного аналізу біологічних зображень, що дозволяє автоматизувати та спрощувати роботу з великими обсягами даних.

4.1.3 ilastik

ilastik – це інтерактивне програмне забезпечення для обробки та аналізу біологічних зображень, розроблене спеціально для користувачів без глибоких знань програмування.ПЗ має зручний інтерфейс та потужні інструменти для класифікації, сегментації та відстеження об'єктів на зображеннях. Однією з ключових особливостей ilastik є можливість

інтерактивного навчання на основі прикладів, що дозволяє користувачам швидко створювати ефективні моделі для аналізу своїх даних [27]. Програмне забезпечення використовує методи машинного навчання для автоматичного розпізнавання та класифікації різних структур на зображеннях. ilastik підтримує обробку як двовимірних, так і тривимірних зображень, що робить його універсальним інструментом для різних типів біологічних досліджень. Інтерактивний підхід до навчання дозволяє користувачам легко коригувати результати та покращувати точність аналізу, додаючи нові приклади прямо в процесі роботи. На рисунку 4.1 наведено вигляд користувацького інтерфейсу ilastik.

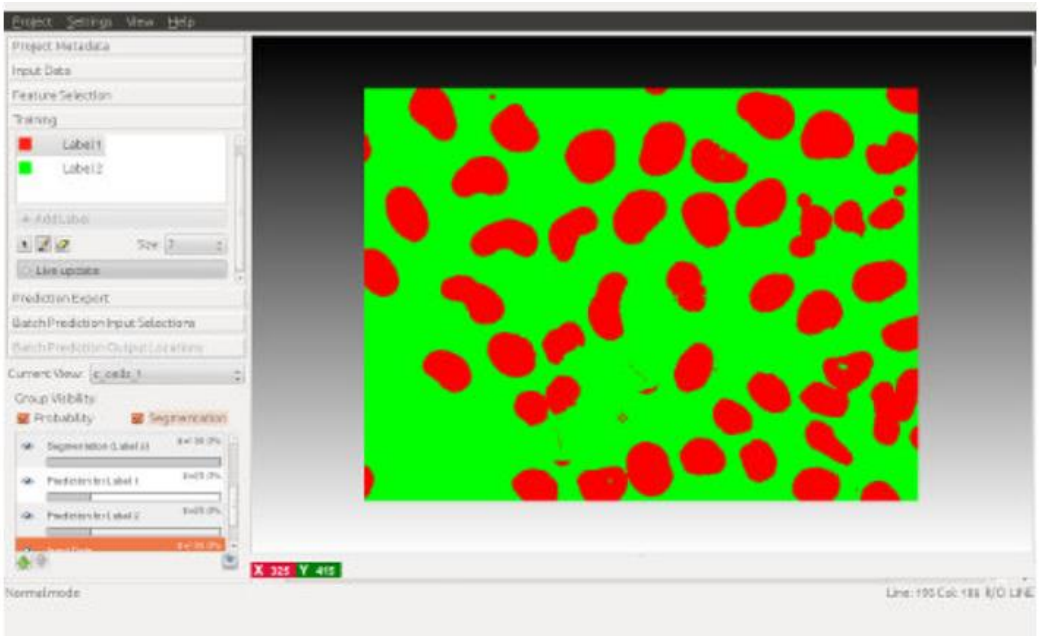

Рисунок 4.1 – Вигляд інтерфейсу ilastic

Переваги ilastik наступні:

− користувачі можуть навчати моделі на своїх даних у реальному часі, що дозволяє швидко та ефективно адаптувати аналіз до конкретних завдань;

− зручний та інтуїтивно зрозумілий користувацький інтерфейс робить програмне забезпечення доступним навіть для користувачів без досвіду в програмуванні;

− підтримка двовимірних та тривимірних зображень дозволяє використовувати Ilastik для широкого спектра біологічних досліджень;

− ilastik оптимізований для швидкої обробки зображень, що забезпечує високу продуктивність навіть при роботі з великими обсягами даних.

Недоліки

− хоча ilastik підходить для багатьох типів завдань, для деяких складних або специфічних задач можуть знадобитися більш потужні інструменти;

− точність аналізу сильно залежить від якості та кількості прикладів, на яких навчається модель;

− незважаючи на простоту інтерфейсу, користувачам все ще потрібно вручну налаштовувати моделі та параметри для досягнення оптимальних результатів.

Попри деякі обмеження, такі як залежність від якості навчальних даних та необхідність ручного налаштування, Ilastik залишається універсальним інструментом для багатьох біологічних досліджень, забезпечуючи швидку та ефективну обробку зображень.

4.1.4 KNIME

KNIME (Konstanz Information Miner) – це інтегрована платформа для аналізу даних, звітності та інтеграції, яка підтримує численні мови програмування, включаючи Python, R та Java. KNIME надає потужні інструменти для обробки даних і аналітики, а також можливості для машинного навчання та глибокого навчання. Основною особливістю KNIME є його візуальний робочий процес, який дозволяє користувачам створювати складні аналітичні процеси за допомогою перетягування вузлів.

KNIME широко використовується в різних галузях, включаючи біоінформатику, хімію, фармацевтику та фінанси. У контексті біологічних

досліджень і трекінгу клітин, KNIME пропонує широкий набір інструментів для обробки зображень, аналізу даних та візуалізації. Завдяки своїй модульній структурі, KNIME дозволяє легко інтегрувати різні алгоритми та методи, забезпечуючи гнучкість і масштабованість для користувачів.

Переваги:

− інтуїтивний інтерфейс дозволяє користувачам створювати та налаштовувати аналітичні процеси без необхідності написання коду;

− підтримка численних інструментів і мов програмування, що робить KNIME універсальним інструментом для аналізу даних;

− легка інтеграція з різними базами даних, веб-сервісами та іншими аналітичними платформами;

− велика спільнота користувачів та розробників, а також доступ до численних ресурсів, таких як навчальні матеріали, плагіни та приклади.

Недоліки:

− для великих і складних робочих процесів може знадобитися значна кількість обчислювальних ресурсів. Обробка великого гіперстека в робочому процесі може перевищити ресурси системи, що призведе до помилки зупинки. У цих випадках рекомендується видалити канали, які не використовуються, або обрізати зображення динаміку часу до меншого розміру або кількості кадрів. Щоб пом’якшити обмеження системних ресурсів, KNIME також можна налаштувати так, щоб використовувати якомога більше системної пам’яті, таким чином досягаючи найкоротшого часу обробки [28];

− хоча інтерфейс інтуїтивний, освоєння всіх можливостей платформи може вимагати часу та зусиль;

− KNIME не оптимізований для використання на мобільних пристроях, що може обмежувати його застосування в деяких сценаріях.

Таким чином, Завдяки візуальному робочому процесу та підтримці численних інструментів і мов програмування, KNIME дозволяє користувачам ефективно обробляти та аналізувати дані, інтегруючи різні

методи та алгоритми. Всупереч деяким недолікам, як вимоги до ресурсів та крута крива навчання, KNIME залишається популярним вибором для аналітиків і дослідників, забезпечуючи потужні можливості для комплексного аналізу даних.

4.1.5 QuPath

QuPath – це програмне забезпечення з відкритим вихідним кодом, призначене для аналізу біомедичних зображень, зокрема для обробки та аналізу сканованих гістологічних препаратів. QuPath забезпечує потужний інструмент для інтелектуального аналізу зображень, включаючи сегментацію, класифікацію та кількісну оцінку клітин. Програма підтримує роботу з великими зображеннями високої роздільної здатності, що робить її особливо корисною для досліджень у галузі патології та онкології.

Так, науковиці Паола Апаолаза та Перістера-Йоанна Петропоулоу з колегами у своєму дослідженні описали використання QuPath – платформи з відкритим кодом для аналізу зображень для дослідження зразків підшлункової залози людини. Дослідниці представили інструмент і систему аналізу, яка дозволяє точно охарактеризувати підшлункову залозу людини, уможливлюючи вивчення анатомічних і фізіологічних змін, що лежать в основі таких захворювань підшлункової залози, як діабет 1 типу [29].

У контексті трекінгу клітин при кріоконсервації, QuPath надає інструменти для автоматизованої сегментації та аналізу зображень, дозволяючи дослідникам відстежувати зміни в морфології клітин, оцінювати їх життєздатність та інші характеристики. Завдяки інтеграції з методами машинного навчання, QuPath може бути використаний для створення адаптивних моделей аналізу, які враховують специфічні вимоги дослідження.

Можна виділити наступні переваги:

− QuPath є безкоштовним і має активну спільноту користувачів та розробників, що сприяє швидкому розвитку та вдосконаленню програмного забезпечення;

− здатність обробляти та аналізувати великі зображення високої роздільної здатності, що є важливим для гістологічних досліджень;

− вбудовані алгоритми для автоматизованої сегментації та класифікації клітин, що полегшує аналіз великих обсягів даних;

− можливість використання методів машинного навчання для створення адаптивних моделей аналізу зображень.

Разом з тим, ПЗ має наступні недоліки:

− робота з великими зображеннями та складними алгоритмами може вимагати значних обчислювальних ресурсів;

− незважаючи на інтуїтивний інтерфейс, освоєння всіх можливостей програми може вимагати часу та зусиль;

− програма не оптимізована для використання на мобільних пристроях, що може обмежувати її застосування в деяких випадках.

Таким чином, незважаючи на деякі недоліки, QuPath залишається популярним вибором для аналітиків та дослідників, забезпечуючи високий рівень точності та надійності в аналізі даних.

4.1.6 DeepLab

DeepLab – це просунутий алгоритм для семантичної сегментації зображень, розроблений Google. Використовуючи глибокі згорткові нейронні мережі (CNN), DeepLab досягає високої точності в розпізнаванні та сегментації об'єктів на зображеннях. Основною особливістю DeepLab є здатність моделювати контексти зображень, що дозволяє значно покращити якість сегментації порівняно з традиційними методами. DeepLab використовує кілька важливих інновацій, таких як розширені згортки (dilated convolutions) і повністю згорткові мережі (Fully

Convolutional Networks, FCN), що забезпечує високу точність при меншій кількості обчислень.

Так, науковці Куочен Жоу, Вей Лі та інші представили новий метод визначення області молочних залоз на мамологічних цифрових зображень на основі глибокого навчання, який поєднує методи попередньої обробки, включаючи придушення шуму за допомогою медіанного фільтра, посилення контрасту за допомогою алгоритму CLAHE та семантичну сегментацію за допомогою моделі Deeplab [30].

У контексті трекінгу клітин при кріоконсервації, DeepLab може використовуватися для точної сегментації клітинних структур на зображеннях, що дозволяє виявити та відстежувати зміни в клітинах протягом процесу кріоконсервації та розморожування. Завдяки своїй здатності враховувати контекст зображення, DeepLab ефективно розпізнає складні клітинні форми та структури, що є важливим для аналізу біологічних зображень.

Переваги:

− використання глибоких згорткових нейронних мереж дозволяє досягти високої точності сегментації об'єктів на зображеннях;

− здатність враховувати контекст зображення покращує розпізнавання складних структур;

− використання розширених згорток і повністю згорткових мереж знижує обчислювальні витрати та підвищує ефективність;

− DeepLab може бути адаптований до різних типів зображень і завдань сегментації, що робить його універсальним інструментом.

Недоліки:

− для навчання та застосування моделей DeepLab потрібні потужні апаратні ресурси, включаючи GPU;

− налаштування та оптимізація моделей DeepLab можуть вимагати значних знань і досвіду в галузі глибокого навчання;

− навчання моделей може займати багато часу, особливо при роботі з великими наборами даних.

Підсумовуючи, у контексті трекінгу клітин при кріоконсервації, DeepLab дозволяє точно сегментувати клітинні структури, що важливо для відстеження змін у клітинах та аналізу їх поведінки. Попри вимоги до обчислювальних ресурсів і складність налаштування, DeepLab залишається одним із провідних інструментів для сегментації зображень у сучасних дослідженнях.

4.1.7 U-Net

U-Net – це архітектура згорткової нейронної мережі, спеціально розроблена для задач сегментації зображень, зокрема в медичних дослідженнях. U-Net була запропонована Олафом Роннебергером та його колегами у 2015 році та швидко стала популярною завдяки своїй здатності ефективно навчатися на невеликих наборах даних та забезпечувати високу точність сегментації. Архітектура U-Net складається з двох основних частин: контрактуючої частини (енкодера), яка зменшує розмірність зображення, витягуючи ознаки, та розширюючої частини (декодера), яка відновлює просторову роздільну здатність зображення. Ці дві частини з'єднані за допомогою пропускних з'єднань, що дозволяє зберігати деталі зображення на різних рівнях.

У контексті трекінгу клітин, U-Net є потужним інструментом для сегментації клітинних структур на зображеннях. Завдяки своїй архітектурі, U-Net може точно розпізнавати межі клітин та інші важливі деталі, що робить його ідеальним для аналізу біологічних зображень. Це дозволяє дослідникам відстежувати зміни в клітинах протягом процесу кріоконсервації та розморожування, а також вивчати їх поведінку та взаємодію.

Переваги:

− завдяки використанню пропускних з'єднань, U-Net може зберігати деталі зображення, що покращує точність сегментації;

− U-Net може ефективно навчатися навіть на невеликих наборах даних, що є важливим для медичних та біологічних досліджень;

− архітектура U-Net дозволяє швидко обробляти зображення, що робить його придатним для реального часу застосувань;

− U-Net може бути адаптований для різних типів зображень і задач сегментації, що робить його універсальним інструментом.

Недоліки:

− як і більшість глибоких нейронних мереж, U-Net потребує значних обчислювальних ресурсів для навчання та застосування моделей;

− налаштування моделей U-Net може вимагати значних знань і досвіду в галузі глибокого навчання;

− навчання моделей може займати багато часу, особливо при роботі з великими наборами даних.

Так, науковці Максим Тимкович, Олександр Гришков, Каріна Селіванова та інші, у своєму дослідженні використали глибоку нейронну мережу U-Net для сегментації кристалів льоду на кріомікроскопічних зображеннях. Отримані результати показали можливість сегментації кристалів льоду на кріомікроскопічних зображеннях з урахуванням перекриття рівнів інтенсивності об’єкта та фону [31].

Також, науковці Рамма Йозеф, Шакір Хн та інші у своєму дослідженні зазначили, що серед усіх інших методів глибокого навчання, які використовуються в медичній візуалізації, варіанти на основі U-Net є найбільш використовуваними моделями для сегментації медичних зображень щодо різних модальностей. Вони зазначили, що існує постійний потенціал U-Net, який використовується для покращення продуктивності сегментації пухлин головного мозку, та підкреслили продуктивність і еволюцію цієї мережі з точки зору оптимізації [32].

Тобто U-Net є одним із провідних інструментів для сегментації зображень завдяки своїй високій точності та здатності ефективно працювати на невеликих наборах даних, а також дозволяє точно сегментувати клітинні структури, що є важливим для аналізу їх змін та поведінки.

4.1.8 Segment Anything Model

Segment Anything Model (SAM) – це сучасний підхід до сегментації зображень, розроблений для виконання задачі з високою точністю та універсальністю. SAM використовує потужні архітектури глибокого навчання, зокрема трансформери, для автоматичного виділення об'єктів на зображеннях. Це дозволяє моделі навчатися на великих наборах даних і адаптуватися до різних умов і типів зображень. SAM може бути застосований для сегментації клітин, включаючи відстеження їх змін під час процесу кріоконсервації та розморожування.

Науковці Юн Ма, Ютінг Хі та інші представили MedSAM. Модель розроблено на основі великомасштабного набору даних медичних зображень. Модель продемонструвала кращу точність і надійність, ніж спеціалізовані моделі модальності. Забезпечуючи точну та ефективну сегментацію для широкого спектра завдань, MedSAM має значний потенціал для прискорення розвитку діагностичних інструментів і персоналізації планів лікування [33].

SAM забезпечує точну і швидку сегментацію клітинних структур на зображеннях, може ефективно працювати з різними типами мікроскопічних зображень, дозволяючи дослідникам детально вивчати зміни в клітинах та їх поведінку під впливом кріоконсервації.

Переваги:

− SAM може бути адаптований для різних типів зображень і задач сегментації, що робить його універсальним інструментом;

− використання сучасних архітектур глибокого навчання, таких як трансформери, забезпечує високу точність сегментації;

− SAM автоматично виділяє об'єкти на зображеннях, що спрощує процес аналізу і зменшує необхідність ручного втручання;

− модель здатна швидко обробляти великі об'єми даних, що є важливим для реального часу застосувань.

Недоліки:

− SAM потребує значних обчислювальних ресурсів для навчання та застосування моделей.

− налаштування моделей SAM може вимагати значних знань і досвіду в галузі глибокого навчання;

− навчання моделей може займати багато часу, особливо при роботі з великими наборами даних.

Таким чином, SAM дозволяє точно сегментувати клітинні структури, що є важливим для аналізу їх змін та поведінки.

4.1.9 TrackMate

TrackMate – це потужна та гнучка платформа для аналізу та візуалізації трекінгу клітин у біологічних зображеннях. Ця програма розроблена як плагін для ImageJ/Fiji та надає користувачам інтуїтивно зрозумілий інтерфейс для налаштування та проведення аналізу руху клітин. TrackMate підтримує широкий спектр алгоритмів для детекції та трекінгу об'єктів, що робить його універсальним інструментом для досліджень у біологічних науках.

Так, науковці Грейсен Вілер, Амріта Пуркаяса та інші описали метод вимірювання та кількісного визначення одноклітинної та об’ємної рухливості кератиноцитів Цей метод включає сценарій MATLAB для аналізу вихідних файлів TrackMate відносно обчислення переміщень, швидкості рухливості та кутів траєкторії в окремих клітинках і в групі для

сайту зображень. Цей сценарій аналізу рухливості дозволяє швидко, просто та з можливістю масштабування аналізувати показники рухливості клітин на основі даних TrackMate і може широко використовуватися для визначення та вивчення регуляції рухливості в епітеліальних клітинах [34].

Тобто TrackMate дозволяє здійснювати аналіз трекінгу клітин у реальному часі, забезпечуючи високу точність і гнучкість у налаштуваннях. Користувачі можуть легко змінювати параметри алгоритмів, щоб адаптувати аналіз до специфічних вимог експерименту. Крім того, TrackMate забезпечує інтеграцію з іншими інструментами ImageJ/Fiji, що розширює його можливості для подальшого аналізу та візуалізації даних.

Разом з тим, існують певні недоліки програми:

− для ефективного використання необхідно мати базові знання в галузі аналізу зображень та роботи з ImageJ/Fiji;

− деякі процеси можуть вимагати ручного налаштування та втручання, що може бути трудомістким;

− може виникнути складність при роботі з дуже великими обсягами даних або високою частотою кадрів.

4.1.10 SimpleITK

SimpleITK – це спрощений інтерфейс для бібліотеки Insight Segmentation and Registration Toolkit (ITK), призначений для обробки та аналізу медичних зображень. SimpleITK підтримує широкий спектр алгоритмів для сегментації, реєстрації та обробки зображень, забезпечуючи легкий доступ до потужних інструментів ITK через зрозумілі інтерфейси мов програмування, таких як Python, C++, Java та R [35].

SimpleITK надає дослідникам та розробникам можливість швидко створювати прототипи алгоритмів обробки зображень та інтегрувати їх у більші програмні системи. Бібліотека підтримує роботу з різноманітними

форматами медичних зображень, такими як DICOM, NIfTI та NRRD, що полегшує інтеграцію з іншими системами та інструментами.

Переваги:

− надає простий доступ до потужних функцій ITK через зрозумілі інтерфейси мов програмування;

− підтримка кількох мов програмування дозволяє використовувати SimpleITK у різних середовищах розробки;

− містить великий набір алгоритмів для сегментації, реєстрації та обробки зображень;

− забезпечує роботу з популярними форматами медичних зображень, такими як DICOM та NifTI;

− є відкритим програмним забезпеченням з активною спільнотою розробників та користувачів.

Недоліки:

− вимагає базових знань мов програмування для ефективного використання;

− на відміну від деяких інтерактивних інструментів, SimpleITK більше орієнтований на програмну обробку зображень;

− не надає вбудованого графічного інтерфейсу для користувача, що може вимагати додаткових зусиль для візуалізації результатів.

Кожен з вищезазначених інструментів має свої унікальні особливості та підходи до вирішення задач сегментації, дозволяючи дослідникам вибрати найбільш підходящий для їхніх конкретних потреб. Крім того, можна використовувати готові бібліотеки для обробки зображень та навчання моделей під конкретний набір вхідних даних та під конкретні задачі, що робить процес аналізу більш гнучким і точним.

4.2 Розробка та обґрунтування методики дослідження

У рамках даної кваліфікаційної роботи була проведена серія експериментів з використанням різних інструментів для трекінгу клітин під час кріоконсервації. Основним завданням було знайти оптимальний підхід, який забезпечить високу швидкодію та точність трекінгу клітин без необхідності використання високопродуктивного обладнання, зокрема GPU.

Попередній аналіз показав, що існує кілька підходів до трекінгу клітин, включаючи використання конволюційних нейронних мереж (CNNs). Найбільш популярні алгоритми включають U-Net, Mask R-CNN, YOLO, Segment Anything, а також спеціалізовані алгоритми, такі як DeepCell, Cellpose та StarDist. Кожен з цих інструментів має свої переваги та недоліки, залежно від конкретних умов застосування [36].

Інструмент MobileSAM, що був використаний під час дипломної практики, показав високу швидкість обробки зображень, однак його швидкодія без GPU була недостатньою для трекінгу клітин на відео. MobileSAM замінює великоваговий кодер зображень у SAM на легкий Tiny-ViT, що дозволяє швидше виконувати сегментацію. Разом з тим, для ефективного трекінгу в реальному часі необхідно реалізувати додаткову трекінгову систему, що задає точки у MobileSAM. [37]

Після виявлення недостатньої швидкодії MobileSAM без GPU було прийнято рішення експериментувати з YOLO. Експерименти показали, що швидкодія YOLO задовольняє вимоги, однак моделі за замовчуванням не забезпечували достатню точність трекінгу наданих зразків. Для розв'язання цієї проблеми було вирішено донавчити існуючу модель YOLO на специфічних зразках клітин, що дозволило значно підвищити точність трекінгу.

Проведені дослідження та експерименти дозволили обрати оптимальну методику для трекінгу клітин. Використання моделі YOLO

після донавчання на специфічних зразках забезпечує високу швидкодію та точність, що робить її придатною для використання в реальних умовах без потреби у високопродуктивному обладнанні. Таким чином, розроблена методика може бути ефективно застосована для трекінгу клітин в умовах кріоконсервації, що відкриває нові можливості для досліджень у цій галузі.

4.3 Збір та підготовка даних

Для додаткового навчання моделі були використані зображення зразків клітин, схожі на ті, що потрібно досліджувати. Якість промаркованих даних має велике значення, тож значний об’єм часу було витрачено на підготовку датасету для навчання: сегментація зображення (використано сервіс https://cvat.ai з Segment Anything для пришвидшення процесу), маркування (на основі отриманих висококонтрастних зображень з https://cvat.ai за допомогою скрипта на Python були згенеровані тренувальні та валідаційні дані (labels) в форматі, який підтримує YOLO).

4.4 Навчання моделі

Модель для сегментації та трекінгу YOLO було додатково натреновано на підготовленому наборі даних. Через обмежені часові рамки було використано обмежений розмір датасету, який, тим не менш, дозволив отримати результат, близький до бажаного.

Основні параметри, використані при тренуванні наведено в таблиці 4.1. Кількість зображень в тренувальному датасеті: 28. Кількість зображень у валідаційному датасеті: 4, тобто 14% від тренувального. Графіки результатів навчання моделі YOLO на даних, потрібних для детектування клітин, наведені у Додатку Б.

Таблиця 4.1 – Основні параметри, використані при тренуванні

Параметр	task	mode	model	epochs	batch	imgsz	workers
Значення	segment	train	yolov8n-seg.pt	750	16	640	8

Середні характеристики при обробці відеофайла представлені у таблиці 4.2.

Таблиця 4.2 – Середні характеристики при обробці відеофайла

Параметр	Значення
Розмір, пікс.	512x640
Кількість об’єктів детектованих об’єктів на одному кадрі, cells	17
Середній час обробки одного кадра, ms	40-50
Час препроцесінгу, ms	1.2
Час постпроцесінгу, ms	7.1

4.5 Результати експериментів та їх аналіз

Надані зображення зразків клітин перед трекінгом були конвертовані в відео формат для наочної перевірки і демонстрації здатності застосованого методу задовольнити потреби в швидкодії. В результаті ми отримали можливість відстежувати клітини на відео. Проте результат ще не є ідеальним, швидше за все через обмежений об’єм використаного датасету.

Візуальне представлення (скріншоти) процесу обробки відеофайла з сегментацією об’єктів що відстежуються наведені далі.

Використовуючи модель yolov8n-seg.pt, яка міститься в пакеті YOLO, без додаткового навчання, можна бачити, що максимум вдається детектувати та відстежувати до 3-х об’єктів (рисунок 4.2).

Рисунок 4.2 – Трекінг клітин за допомогою моделі yolov8n-seg.pt

В результаті використання додатково навченої моделі yolo8n-seg-cells.pt можна бачити значні покращення в трекінгу об’єктів в тестовому відеофайлі (рисунок 4.3).

Рисунок 4.3 – Використання додатково навченої моделі yolo8n-seg-cells.pt

Далі, на рисунку 4.4, можемо бачити, що 2 клітини не відслідковуються деякий час, поки вони зіштовхуються і візуально утворюють новий об’єкт. Це може бути пов’язано з неточністю маркування даних та / або недостатнім об’ємом датасету для додаткового навчання моделі сегментації за замовчуванням YOLO.

Рисунок 4.4 – Недоліки yolo8n-seg-cells.pt

Згодом об’єкти розділяються і YOLO ідентифікує ці об’єкти під тими ж ID, що й раніше (рисунок 4.5).

Рисунок 4.5 – Успішна повторна ідентифікація об’єктів в моделі yolo8n-seg-cells.pt

Сторонній об’єкт при цьому коректно не відстежується (рисунок 4.6).

Рисунок 4.6 – Сторонній об’єкт потрапляє в кадр і не порушує ідентифікацію об’єктів у моделі yolo8n-seg-cells.pt

В результаті експериментів та реалізованого програмного коду, можна зробити висновок, що за допомогою YOLO представляється можливим реалізувати успішну сегментацію та трекінг клітин при кріоконсервації, але для цього буде необхідно підготувати набір даних необхідного розміру та якості. Цей підхід вимагає інвестувати значний об’єм часу для правильної підготовки даних та додаткового навчання існуючих моделей, які входять у пакет YOLO.

Також, в результаті виконання даної роботи, на практиці доведено можливість трекінгу клітин в режимі реального часу з використанням мінімальних обчислювальних ресурсів (всі дослідження проводилися на ПК з процесором i5-1135G7 з частотою 2,4 ГГц без використання GPU).

Програмний код наведено у додатку В.

5 ІНТЕГРАЦІЯ МЕТОДІВ КОМП'ЮТЕРНОГО ЗОРУ З ІНШИМИ ТЕХНОЛОГІЯМИ

5.1 Мультимодальний аналіз: використання оптичних та флуоресцентних зображень

Мультимодальний аналіз, що включає використання як оптичних, так і флуоресцентних зображень, значно покращує трекінг клітин при кріоконсервації. Оптичні зображення забезпечують високу роздільну здатність і деталізацію структури клітин, дозволяючи візуалізувати морфологічні зміни та просторові взаємодії між клітинами. Водночас флуоресцентні зображення надають можливість відстежувати специфічні біологічні маркери та процеси всередині клітин, такі як активність певних білків чи реакції на стресові умови під час заморожування та розморожування.

Поєднання цих двох типів зображень у мультимодальному аналізі дозволяє отримати більш повну картину про стан та поведінку клітин. Це особливо важливо для кріоконсервації, де розуміння змін, що відбуваються на клітинному рівні, може допомогти вдосконалити методи збереження та відновлення біоматеріалів. Використання оптичних зображень забезпечує точну локалізацію клітин, тоді як флуоресцентні зображення дозволяють виявити функціональні зміни, які можуть бути не помітними на традиційних оптичних зображеннях.

Так, науковиця Лейла Фас-Баяті та інші у своєму дослідженні обговорили методи молекулярної візуалізації, які використовуються для моніторингу біорозподілу та долі введених клітин із зосередженням на застосуванні неінвазивної оптичної візуалізації в короткохвильовій інфрачервоній області. Для оптичної флуоресцентної візуалізації пряме мічення клітин можна здійснити за допомогою ліпофільних мембранних барвників. Поширення цих методів на неінвазивну візуалізацію за

допомогою світлових фотонів відкриває нові підходи до вивчення клітинної динаміки та поведінки без шкідливого впливу на живий організм [38].

Застосування мультимодального аналізу в трекінгу клітин також вимагає розвитку складних алгоритмів обробки та інтеграції даних. Ці алгоритми повинні забезпечувати синхронізацію та об'єднання різних типів зображень, що дозволяє точно відслідковувати динаміку клітинних змін. В результаті, мультимодальний аналіз не тільки підвищує точність трекінгу, але й відкриває нові можливості для дослідження біологічних процесів, покращуючи загальне розуміння ефектів кріоконсервації на клітинному рівні.

5.2 Інтернет речей для моніторингу умов зберігання клітин

Використання Інтернету речей (IoT) для моніторингу умов зберігання клітин відкриває нові можливості в галузі кріоконсервації. IoT дозволяє постійно відстежувати критичні параметри, такі як температура, вологість, рівень вуглекислого газу та інші умови середовища в режимі реального часу. Це забезпечує оптимальні умови для зберігання клітин і допомагає запобігти втраті життєздатності клітин через несприятливі умови.

Завдяки IoT, дані про умови зберігання клітин можуть автоматично збиратися та передаватися на центральний сервер для аналізу. Це дозволяє швидко реагувати на будь-які зміни умов і вжити заходів для їх коригування. Крім того, використання IoT дає змогу вести постійну історію параметрів зберігання, що є цінним для довгострокових досліджень і забезпечення відповідності стандартам якості.

Так, науковець Мохамед Есмаїл Карар разом з колегами, запропонували метод [39] діагностики за допомогою мікроскопічного зображення крові на основі IoMT (рисунок 5.1). Він складається з трьох основних етапів, а саме: спочатку у пацієнтів беруться зразки крові та збираються для тестів на лейкемію. На основі бездротової мікроскопічної

системи візуалізації зображення мазків крові надсилаються на хмарний медичний сервер для надання додаткових опцій. Отримані зображення крові аналізуються за допомогою розробленого класифікатора AC-GAN. У запропонованій структурі настійно рекомендується використовувати сервіси хмарних обчислень для автоматизованої класифікації всіх завантажених мікроскопічних зображень, щоб зменшити необхідні апаратні ресурси та зберігання; наприклад, зменшення потреби в графічних процесорах (GPU) і великої ємності пам'яті. Далі результати діагностики крові надсилаються на монітор або смартфон гематолога для верифікації та доопрацювання звіту аналізу крові з медичними рекомендаціями. Тобто, аналогічний підхід може бути використано і для діагностики клітин при кріоконсервації, або організації супутніх процесів.

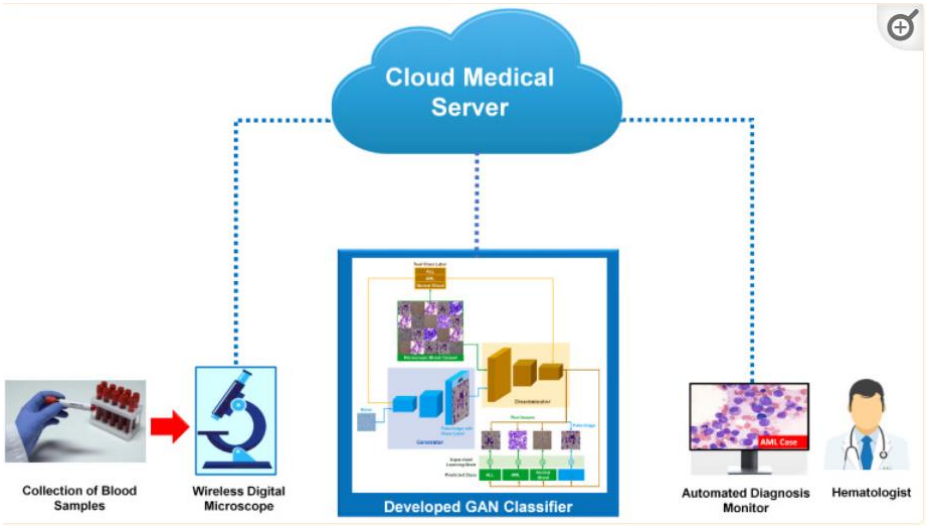

Рисунок 5.1 – Схематична діаграма запропонованої медичної діагностичної системи на основі Інтернету речей для автоматичної ідентифікації стану крові пацієнтів за допомогою бездротової мікроскопічної візуалізації зразків і розробленого класифікатора GAN

Впровадження IoT у процес кріоконсервації також сприяє автоматизації багатьох рутинних процесів, таких як контроль рівня рідкого азоту або автоматичне поповнення резервуарів. Це зменшує ризик людської

помилки та забезпечує більш надійне зберігання біоматеріалів. Завдяки інтеграції IoT технологій, можна значно підвищити ефективність і безпеку зберігання клітин, що має критичне значення для наукових досліджень і медичних застосувань.

5.3 3D-реконструкція: створення тривимірних моделей клітин

3D-реконструкція, яка дозволяє створювати тривимірні моделі клітин, є важливим інструментом в інтелектуальному аналізі трекінгу клітин при кріоконсервації. Ця технологія забезпечує можливість отримувати більш детальні та точні дані про структуру і форму клітин, що є ключовим для розуміння їхньої поведінки й життєздатності під час заморожування та відтавання. Використовуючи 2D-зображення, отримані з різних ракурсів, 3D-реконструкція дозволяє побудувати комплексну тривимірну модель, що відображає реальну організацію клітини в просторі.

Процес 3D-реконструкції включає кілька етапів, починаючи з отримання якісних двовимірних зображень за допомогою мікроскопії або інших візуалізаційних технологій. Потім ці зображення обробляються за допомогою спеціалізованого програмного забезпечення, яке поєднує їх у тривимірну модель. Завдяки цьому підходу можна дослідити взаємозв'язки між різними структурними компонентами клітини, що важливо для вивчення їхньої функціональної активності.

Так, дослідники Гуою Хуан, Фей Лі та інші зазначали, що темою їх дослідження була необхідність зрозуміти та наслідувати, як клітинне мікросередовище розвивається з часом. Це було названо інженерією 4D клітинного мікрооточення (рисунок 5.2), вони відзначали це як критичну потребу для розвитку тканинної інженерії [40].

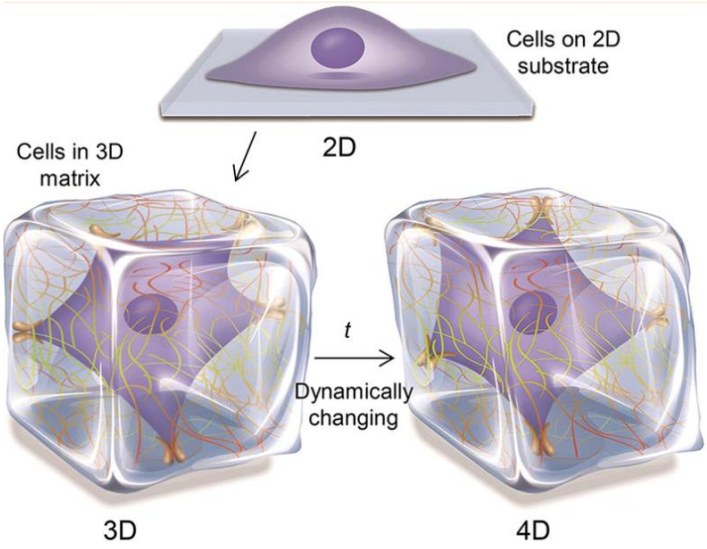

Рисунок 5.2 – Схема інженерного мікрооточення клітини з 2D на 3D і 4D

Використання 3D-реконструкції в контексті кріоконсервації клітин дозволяє науковцям більш детально аналізувати зміни, що відбуваються під час процесу заморожування і відтавання. Це сприяє глибшому розумінню механізмів, які впливають на збереження клітинної структури і функції. Крім того, тривимірні моделі можуть бути використані для розробки нових методів кріоконсервації, які мінімізують ушкодження клітин і підвищують їхню життєздатність після відтавання, що є критично важливим для успішного зберігання біологічних зразків.

5.4 Використання ANSYS для моделювання процесів кріоконсервації та розморожування клітин

Використання ANSYS для моделювання процесів кріоконсервації та розморожування клітин є важливим інструментом для дослідження термічних і механічних впливів на клітини під час цих процесів. ANSYS – це потужне програмне забезпечення для чисельного моделювання, яке дозволяє детально аналізувати поведінку клітин під час заморожування та відтавання. Застосування ANSYS дає можливість моделювати складні

фізичні процеси, такі як теплообмін, фазові переходи та механічні напруги, що виникають у клітинах та їхньому оточенні.

Процес моделювання з використанням ANSYS включає кілька етапів. Спочатку створюється геометрична модель клітини та її оточення, яка потім піддається чисельному аналізу. В ANSYS можна задати різні умови заморожування та відтавання, враховуючи параметри, такі як швидкість охолодження, теплопровідність, щільність та інші фізичні властивості матеріалів. Це дозволяє дослідити вплив різних умов на виживаність та структурну цілісність клітин, а також оптимізувати параметри кріоконсервації для мінімізації ушкоджень.

Так, науковці Олександр Гришков, Віталій Муценко та інші, у своєму дослідженні [41] використали ANSYS для дослідження клітин при кріоконсервації та їх рекристалізації – зразки зберігали при -140°C протягом 7 днів і розморожували у два етапи з використанням водяної бані та попередньо підігрітого культурального середовища. Теплообмін при відтаванні був змодельований за допомогою програмного забезпечення ANSYS. На 1, 3 і 7 день перед заморожуванням і після розморожування було проведено тестування функціональності за допомогою аналізу живий-мертвий, а також відповідних аналізів метаболічної активності.

Тобто використання ANSYS для моделювання процесів кріоконсервації та розморожування клітин допомагає науковцям зрозуміти механізми пошкодження клітин на мікроскопічному рівні. Це знання може бути використане для розробки нових, більш ефективних методів кріоконсервації, які забезпечують краще збереження клітинної структури і функціональності після відтавання. Крім того, моделювання з ANSYS дозволяє зменшити кількість експериментів in vitro, що економить час і ресурси, та надає можливість швидше впроваджувати нові технології в практичну біологію та медицину.

ВИСНОВКИ

У ході кваліфікаційної роботи було досліджено й оцінено потенціал різних методів штучного інтелекту, сегментації зображень та інтеграції комп'ютерного зору з сучасними технологіями для трекінгу клітин під час кріоконсервації. У ході експериментів було доведено, що алгоритм YOLO ефективно виконує сегментацію та трекінг клітин при кріоконсервації, забезпечуючи швидке та точне визначення клітин на зображеннях, дозволяє здійснювати трекінг клітин у реальному часі, що є критично важливим для динамічних біологічних процесів. Програмний код, реалізований у рамках цієї роботи, підтвердив можливість використання YOLO для трекінгу клітин на практиці з мінімальними обчислювальними ресурсами.

Для покращення точності алгоритму YOLO необхідно підготувати спеціалізований датасет клітин, який включатиме:

− не менше 1500 зображень на кожен клас;

− не менше 10000 примірників (промаркованих об'єктів) на кожен клас;

− різноманітність зображень, що представляють різні умови експлуатації та спостережень;

− послідовність маркування, де всі примірники всіх класів у всіх зображеннях повинні бути промарковані, а часткове маркування не допускається;

− точність маркування, при якій кожен об'єкт повинен бути чітко окреслений без проміжків між об'єктом та його обмежувальною рамкою;

− перевірка маркування, що включає перегляд зображень train_batch*.jpg на початку тренування для підтвердження коректності маркувань;

− використання фонових зображень (0-10%), які не містять об'єктів, для зменшення хибнопозитивних результатів.

Для зручності використання системи можна створити графічний інтерфейс, який спростить роботу з трекінгом клітин.

Також варто реалізувати трекінг більшого спектру клітин, трекінг окремо обраних клітин та трекінг змін їх стану (заморожування та розморожування).

Разом з тим, не треба обмежуватись одним єдиним методом, який показав гарні результати, тож важливо паралельно досліджувати інші інструменти та методики як окремо, так і в комбінації, реалізуючи нові можливості.

Загалом, інтеграція методів штучного інтелекту з сучасними технологіями та підходами, такими як YOLO для трекінгу клітин, мультимодальний аналіз, IoT, 3D-реконструкція та чисельне моделювання за допомогою ANSYS, забезпечує більш комплексни та ефективний підхід до трекінгу клітин під час кріоконсервації. Це підвищує точність та надійність результатів, відкриває нові можливості для дослідження біологічних процесів та сприяє розробці нових методів і технологій у галузі біомедичних досліджень та медичних застосувань.

ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ПОСИЛАННЯ

1. Gryshkov O., Tymkovych M., Rittinghaus T., Avrunin O. Birgit Glasmacher Optimal cryopreservation yields intact alginate microspheres and high cell viability after thawing. *Cryobiology*. Vol. 85. P. 178.

2. Jaiswal A. N., Vagga A. Cryopreservation: a review article. *Cureus*. 2022. URL: https://doi.org/10.7759/cureus.31564 (date of access: 06.04.2024).

3. Leibo S. P., Sztein J. M. Cryopreservation of mammalian embryos: derivation of a method. *Cryobiology*. 2019. Vol. 86. P. 1–9. URL: https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2019.01.007 (date of access: 06.04.2024).

4. Bosch E., De Vos M., Humaidan P. The future of cryopreservation in assisted reproductive technologies. *Frontiers in Endocrinology*. 2020. Vol. 11. URL: https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00067 (date of access: 06.04.2024).

5. The application of convolution neural network based cell segmentation during cryopreservation / M. K. Mbogba et al. *Cryobiology*. 2018. Vol. 85. P. 95–104. URL: https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2018.09.003 (date of access: 06.04.2024).

6. PharmaNet: pharmaceutical discovery with deep recurrent neural networks / P. Ruiz Puentes et al. *PLOS ONE*. 2021. Vol. 16, no. 4. P. e0241728. URL: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0241728 (date of access: 06.04.2024).

7. Detection of spermatogonial stem/progenitor cells in prepubertal mouse testis with deep learning / B. Kahveci et al. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2023. URL: https://doi.org/10.1007/s10815-023-02784-1 (date of access: 06.04.2024).

8. Tracking features in retinal images of adaptive optics confocal scanning laser ophthalmoscope using KLT-SIFT algorithm / H. Li et al. *Biomedical Optics Express*. 2010. Vol. 1, no. 1. P. 31. URL: https://doi.org/10.1364/boe.1.000031 (date of access: 06.04.2024).

9. Comparing accuracy of fish sperm motility measurements obtained from two computational extremes in tracking approaches: nearest neighbor and

multiple hypothesis tracking / G. Neumann et al. *Reproduction in Domestic Animals*. 2021. Vol. 56, no. 6. P. 829–836. URL: https://doi.org/10.1111/rda.13922 (date of access: 06.04.2024).

10. A particle filter based autocontouring algorithm for lung tumor tracking using dynamic magnetic resonance imaging / A. E. Bourque et al. *Medical Physics*. 2016. Vol. 43, no. 9. P. 5161–5169. URL: https://doi.org/10.1118/1.4961403 (date of access: 06.04.2024).

11. Pare S., Kumar A., Singh G. K., Bajaj V. Image Segmentation Using Multilevel Thresholding: A Research Review. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions of Electrical Engineering*. 2020.Vol. 44. P. 1–29.

12. Gamarra M., Manjarres Y., Torres M., Escorcia-Gutierrez J., Zurek E. MC-Kmeans: an Approach to Cell Image Segmentation Using Clustering Algorithms. *International Journal of Artificial Intelligence*. 2021. vol. 19, no. 1. P. 80–94.

13. Fuzzy C-Means Clustering: A Review of Applications in Breast Cancer Detection / D. Krasnov et al. *Entropy*. 2023. Vol. 25, no. 7. P. 1021. URL: https://doi.org/10.3390/e25071021 (date of access: 06.04.2024).

14. Castermans T., Speckman B., Verbeek K. A Practical Algorithm for Spatial Agglomerative Clustering. *2019 Proceedings of the Twenty-First Workshop on Algorithm Engineering and Experiments (ALENEX)*. Philadelphia, PA, 2019. P. 174–185. URL: https://doi.org/10.1137/1.9781611975499.14 (date of access: 06.06.2024).

15. Extended methods for spatial cell classification with DBSCAN-CellX / Küchenhoff L. et al. *Scientific Reports*. 2023. URL: https://www.nature.com/articles/s41598-023-45190-4 (date of access: 06.06.2024).

16. Zhang C., Zhu G., Chen M., Chen H. Wu C. Image Segmentation Based on Multiscale Fast Spectral Clustering. *Cornell University*. URL: https://arxiv.org/pdf/1812.04816 (date of access: 06.06.2024).

17. Yeo S. Xie X., Sazonov I., Nithiarasu P. Segmentation of biomedical images using active contour model with robust image feature and shape prior. *International Journal for Numerical Methods in Biomedical Engineering*. 2013. URL: https://www.researchgate.net/publication/260091451_Segmentation_of_biomedical_images_using_active_contour_model_with_robust_image_feature_and_shape_prior (date of access: 06.06.2024).

18. Tymkovych M., Avrunin O., Gryshkov O., Semenets V., Glasmacher B. Ice crystals microscopic images segmentation based on active contours. *39-th International Conference on Electronics and Nanotechnology*. 16-18 April, Kyiv, Ukraine. 2019. P. 493–496.

19. Tymkovych M. Y., Avrunin O. G., Gryshkov O., Selivanova K. G., Mutsenko V., Glasmacher B. Multiscale quantitative analysis of microscopic images of ice crystals. *The International Journal of Artificial Organs*. Hannover, Germany. 2019. Vol.42, Number 8. P. 429.

20. Salem N., Malik H., Shams A. Medical image enhancement based on histogram algorithms. *Procedia Computer Science*. 2019. Vol. 163. P. 300–311. URL: https://doi.org/10.1016/j.procs.2019.12.112 (date of access: 06.04.2024).

21. Otsu's thresholding technique for MRI image brain tumor segmentation / M. T. Nyo et al. *Multimedia Tools and Applications*. 2022. URL: https://doi.org/10.1007/s11042-022-13215-1 (date of access: 06.04.2024).

22. Image processing for semi-automated microscopic analysis of ice recrystallization process during isothermal annealing / Prykhodko M. V. et al. *International Journal of Bioelectromagnetism*. 2018 . Vol. 20, No. 1. P. 72–75.

23. Salem N., Malik H., Shams A. Medical image enhancement based on histogram algorithms. *Procedia Computer Science*. 2019. Vol. 163. P. 300–311. URL: https://doi.org/10.1016/j.procs.2019.12.112 (date of access: 06.04.2024).

24. Erguvan O., Louveaux M., Hamant O., Verger S. ImageJ SurfCut: a user-friendly pipeline for high-throughput extraction of cell contours from 3D image stacks. *BMC Biology*. 2019. URL:

https://bmcbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12915-019-0657-1 (date of access: 06.04.2024).

25. Whole-slide imaging and a Fiji-based image analysis workflow of immunohistochemistry staining of pancreatic islets / E. J. Buckels et al. *MethodsX*. 2022. P. 101856. URL: https://doi.org/10.1016/j.mex.2022.101856 (date of access: 06.04.2024).

26. CellProfiler Analyst Web (CPAW) - Exploration, analysis, and classification of biological images on the web / B. Baidak et al. *2021 IEEE Visualization Conference (VIS)*, New Orleans, LA, USA, 24–29 October 2021. 2021. URL: https://doi.org/10.1109/vis49827.2021.9623317 (date of access: 06.04.2024).

27. Ilastik: interactive machine learning for (bio)image analysis / Berg S. et al. *Nature Methods*. 2019. URL: https://www.nature.com/articles/s41592-019-0582-9 (date of access: 06.04.2024).

28. HIV RGB: Automated Single-Cell Analysis of HIV-1 Rev-Dependent RNA Nuclear Export and Translation Using Image Processing in KNIME / E. L. Evans et al. *Viruses*. 2022. Vol. 14, no. 5. P. 903. URL: https://doi.org/10.3390/v14050903 (date of access: 06.04.2024).

29. Apaolaza P. S., Petropoulou P.-I., Rodriguez-Calvo T. Whole-Slide Image Analysis of Human Pancreas Samples to Elucidate the Immunopathogenesis of Type 1 Diabetes Using the QuPath Software. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2021. Vol. 8. URL: https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.689799 (date of access: 06.04.2024).

30. Zhou K., Li W., Zhao D. Deep learning-based breast region extraction of mammographic images combining pre-processing methods and semantic segmentation supported by Deeplab v3+. *Technology and Health Care*. 2022. Vol. 30. P. 173–190. URL: https://doi.org/10.3233/thc-228017 (date of access: 06.04.2024).

31. Tymkovych M., Gryshkov O., Selivanova K., Mutsenko V., Avrunin O., Glasmacher B. Application of Artificial Neural Networks for

Analysis of Ice Recrystallization Process for Cryopreservation. *8th European Medical and Biological Engineering Conference (EMBEC 2021)*. Nov 29 – Dec 3, Portoroz, Slovenia. 2021. P. 102–111.

32. U-Net-Based Models towards Optimal MR Brain Image Segmentation / R. Yousef et al. *Diagnostics*. 2023. Vol. 13, no. 9. P. 1624. URL: https://doi.org/10.3390/diagnostics13091624 (date of access: 06.04.2024).

33. Fath-Bayati L., Vasei M., Sharif-Paghaleh E. Optical fluorescence imaging with shortwave infrared light emitter nanomaterials for in vivo cell tracking in regenerative medicine. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2019. Vol. 23, no. 12. P. 7905–7918. URL: https://doi.org/10.1111/jcmm.14670 (date of access: 06.04.2024).

34. Protocol for Analysis and Consolidation of TrackMate Outputs for Measuring Two-Dimensional Cell Motility using Nuclear Tracking / G. E. Wheeler et al. *Journal of Visualized Experiments*. 2021. No. 178. URL: https://doi.org/10.3791/62885 (date of access: 06.05.2024).

35. Fath-Bayati L., Vasei M., Sharif-Paghaleh E. Optical fluorescence imaging with shortwave infrared light emitter nanomaterials for in vivo cell tracking in regenerative medicine. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2019. Vol. 23, no. 12. P. 7905–7918. URL: https://doi.org/10.1111/jcmm.14670 (date of access: 06.05.2024).

36. Kupriianov S. Cell Tracking Improved Through Mashine Learning, *Радіоелектроніка та молодь у XXI столітті. Т. 6* : матеріали 28-го Міжнар. молодіж. форуму, 16–18 квіт. 2024 р. Харків : ХНУРЕ, 2024, с. 77.

37. Karar M. E., Alotaibi B., Alotaibi M. Intelligent Medical IoT-Enabled Automated Microscopic Image Diagnosis of Acute Blood Cancers. *Sensors*. 2022. Vol. 22, no. 6. P. 2348. URL: https://doi.org/10.3390/s22062348 (date of access: 06.05.2024).

38. Functional and Biomimetic Materials for Engineering of the Three-Dimensional Cell Microenvironment / G. Huang et al. *Chemical Reviews*. 2017.

Vol. 117, no. 20. P. 12764–12850. URL: https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00094 (date of access: 06.05.2024).

39. Gryshkov O., Tymkovych M., Avrunin O., Glasmacher B. Ethylene glycol improves cryopreservation of cell-seeded electrospun scaffolds in cryobags. *Abstracts of 8th European Medical and Biological Engineering Conference (EMBEC 2020)*. 29 November – 3 December, Portorož, Slovenia. 2020. P. 169.