

ВЕБ-СЕРВИС ДЛЯ АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ ДЕТЕКЦИИ И АНАЛИЗА РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ ФОКУСОВ В ЯДРАХ КЛЕТОК

С. Шадмехри^{1,}, Т. Ж. Бежанян^{1,2}, М. Ю. Бондарев^{1,2},
О. И. Стрельцова^{1,2}, М. И. Зуев¹, А. В. Борейко^{1,2},
Т. С. Храмко^{1,2}, М. Е. Крупнова¹*

¹ Объединенный институт ядерных исследований, Дубна, 141980, Россия

² Государственный университет «Дубна», Дубна, Россия

Для автоматизации анализа радиационно-индуцированных фокусов (РИФ) на флуоресцентных изображениях разработан двухэтапный алгоритм на базе методов глубокого обучения: на первом этапе для обнаружения ядер клеток на каждом изображении используется предварительно обученная нейронная сеть SAM2, на втором этапе для обнаружения фокусов в каждом ядре клетки применяется нейросетевая модель YOLO, обученная на основе данных с аннотированными фокусами. На основе разработанного алгоритма создан веб-сервис на платформе Writer Framework, функционал которого позволяет пользователю видеть все детектированные ядра клеток на загруженном флуоресцентном изображении, отбирать объекты для анализа, автоматически получать отмеченные фокусы на каждом изображении и получать числовые характеристики, такие как количество РИФ на ядро и др.

To automate the radiation-induced foci (RIF) analysis, we have followed a deep learning approach which consists of two stages. Firstly, a pretrained neural network called SAM2 is used to detect the cell nuclei in each fluorescent image, then the trained neural network YOLO on our foci-annotated data is used to detect foci in each nucleus. Based on this model, we have created a web service on the Writer Framework. The web service allows the user to observe the identified cell nuclei in an uploaded fluorescent image, choose the desired nuclei, automatically get the marked foci and obtain the numerical characteristics such as the number of RIF per cell.

PACS: 84.35.+i; 87.53.-j

ВВЕДЕНИЕ

Среди различных типов радиационно-индуцированных повреждений ДНК наиболее важными и опасными являются двунитевые разрывы (ДР) ДНК [1]. Для визуализации ДР ДНК используется метод иммунофлюо-

* E-mail: shadmehri@jinr.ru

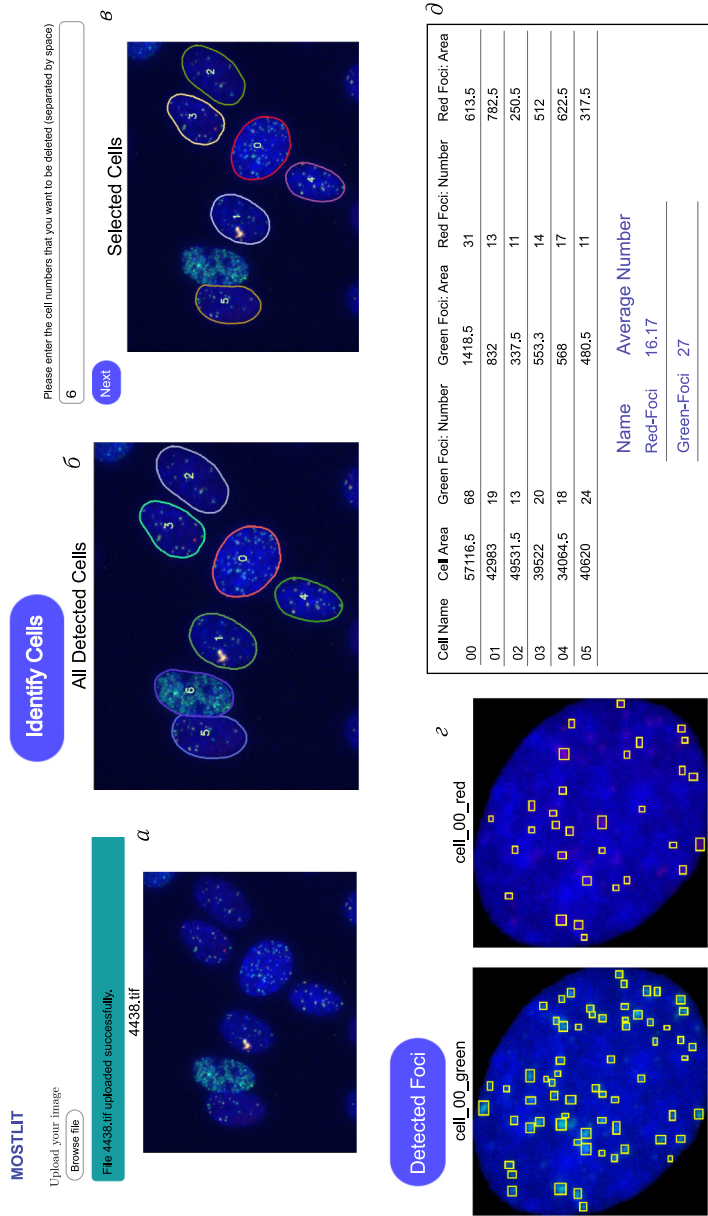
ресцентного окрашивания, основанный на выявлении специфических белковых маркеров, участвующих в процессе репарации двунитевых разрывов ДНК. Белки накапливаются в местах их возникновения, образуя радиационно-индуцированные фокусы (РИФ). Количество РИФ обычно оценивают визуально, однако ручной подсчет является временнзатратной процедурой и подвержен воздействию человеческого фактора, что обуславливает особую актуальность создания программных средств для автоматизации анализа данных, при этом предоставляя исследователям таких систем возможность отслеживания всех этапов анализа.

ДВУХЭТАПНЫЙ АЛГОРИТМ НА БАЗЕ НЕЙРОСЕТЕВЫХ МОДЕЛЕЙ

Для задачи анализа радиационно-индуцированных повреждений ДНК возникает необходимость получения оценок, таких как количество РИФ на ядро клетки, что, в свою очередь, требует решения задачи детекции и сегментации ядер и задачи детекции РИФ. Для комплексного решения этих задач предложен подход, состоящий из двух этапов: извлечение ядер клеток и обнаружение фокусов [2]. Отметим, что при анализе флуоресцентного изображения в цветовом пространстве RGB цветовые каналы анализируются по отдельности: синий канал содержит информацию о ядрах клеток, а красный и зеленый каналы содержат информацию о двух типах РИФ (в рассматриваемом в работе наборе данных это фокусы γ H2AX и 53BP1). Для задачи детекции ядер клеток разработан алгоритм на основе методов компьютерного зрения и глубокого обучения. После предварительного сглаживания синего канала изображения с помощью функции GaussianBlur из OpenCV применялась модель сегментации изображения SAM2 (Segment Anything Model 2) [3], которая предоставляет список всех идентифицированных объектов на изображении вместе с соответствующими им масками, на основе которых получаем контуры ядер. Далее на основе полученных масок формируется набор отдельных изображений для каждого ядра с черным фоном, содержащий один тип фокусов (относящихся к красному или зеленому каналу), для использования на следующем этапе.

Перед обучением модели детекции объектов You-Only-Look-Once (YOLO) [4] для обнаружения фокусов был подготовлен набор данных с размеченными фокусами на базе платформы Computer Vision Annotation Tool (CVAT). Изображения ядер клеток (размер которых был изменен до 640 пикселей) с размеченными фокусами составили набор данных для обучения модели YOLOv5. Данная модель (при выборе параметра $\text{conf} = 0,5$) позволяет на каждом изображении ядер клеток, получаемых на первом этапе, детектировать фокусы двух типов.

На основе описанного двухэтапного алгоритма был развернут веб-сервис MOSTLIT для автоматизированного анализа радиационно-индуцированных фокусов в ядрах клеток на основе Writer Framework —



фреймворка с открытым исходным кодом для разработки пользовательских интерфейсов [5]. В клиентской части используется визуальный редактор Builder, а код бэкенда — на Python. Функциональность веб-сервиса позволяет анализировать группу изображений, полученных в ходе одного эксперимента. Этапы работы веб-сервиса представлены на рис. 1. После загрузки флуоресцентного изображения найденные ядра отображаются с нумерацией. На этом этапе пользователь имеет возможность исключить из общего анализа те объекты, которые не нужны для данного эксперимента. После этого выбранные ядра отображаются снова. Наконец, при нажатии кнопки «Detect Foci» отображаются все выбранные ядра с отмеченными фокусами в двух каналах, а также соответствующие количественные данные в виде таблицы, содержащей информацию о площади каждого ядра, количестве фокусов в рассматриваемых каналах, а также среднее количество РИФ на ядро по всем выбранным объектам и для каждого канала. Таблицы можно сохранять и загружать в виде файла для дальнейшей обработки.

Данный сервис разработан и развернут на базе экосистемы ML/DL/НРС на ресурсах гетерогенной вычислительной платформы HybriLIT (ЛИТ ОИЯИ). Веб-сервис доступен для пользователей сети Объединенного института ядерных исследований по ссылке <https://mostlit.jinr.ru>. Все желающие могут получить доступ к сервису, отправляя письмо автору статьи.

ПРИМЕРЫ АНАЛИЗА ДАННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЕБ-СЕРВИСА

Флуоресцентные изображения окрашенных фибробластов кожи человека получены из Лаборатории радиационной биологии ОИЯИ. В качестве маркера ДР ДНК использовались хорошо известные белки репарации γ H2AX и 53BP1. Для анализа кинетики формирования и элиминации фокусов γ H2AX и 53BP1 фибробласты подвергали γ -облучению (1,25 Гр) и через 15 мин, 1, 4, 24 ч после облучения проводили фиксацию экспериментальных образцов для последующего иммунофлуоресцентного окрашивания и флуоресцентной микроскопии. Веб-сервис используется для автоматизации процесса обнаружения γ H2AX (зеленый канал) и 53BP1 (красный канал). Гистограмма среднего количества фокусов представлена на рис. 2. Зеленый (2) и красный (1) цвета гистограммы отражают среднее количество фокусов γ H2AX и 53BP1 соответственно, подсчитанных с использованием веб-сервиса MOSTLIT, а синим (3) — количество фокусов, подсчитанных без использования автоматизированного метода (оператором). Между автоматическим и ручным подсчетами наблюдается хорошее совпадение.

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 124112200072-2).

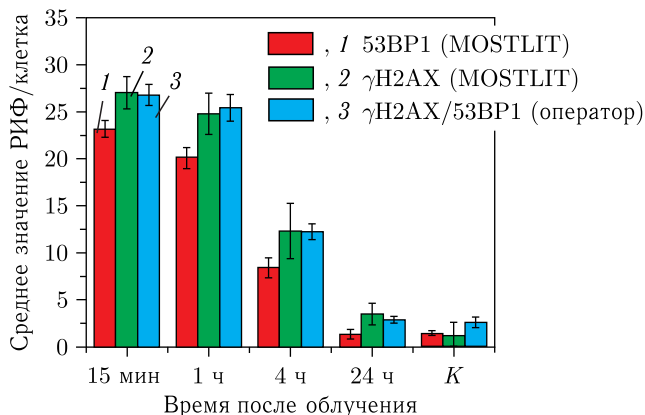


Рис. 2 (цветной в электронной версии). Сравнительный анализ кинетики формирования и элиминации фокусов γ H2AX и 53BP1 в ядрах клеток нормальных фибробластов кожи человека через 15 мин, 1, 4 и 24 ч после γ -облучения (1,25 Гр). Количественные данные подсчета фокусов γ H2AX и 53BP1, полученные путем автоматического анализа с помощью MOSTLIT, обозначены зеленым (2) и красным (1) цветом соответственно. Синим цветом (3) показаны результаты количественного анализа колокализированных γ H2AX/53BP1 фокусов, полученные оператором

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kuefner M. *et al.* Radiation Induced DNA Double-Strand Breaks in Radiology // R6Fo-Fortschritte auf dem Gebiet der R6ntgenstrahlen und der bildgebenden Verfahren. 2015. V. 187. P. 872–878.
2. Shadmehri S. *et al.* A Deep Learning Model for Automated Quantification of DNA Repair Foci in Somatic Mammalian Cells // Phys. Part. Nucl. 2025. V. 56. P. 1623; <https://doi.org/10.1134/S1063779625700984>.
3. Ravi N. *et al.* SAM 2: Segment Anything in Images and Videos. <https://arxiv.org/html/2408.00714v1>. 2024.
4. Redmon J. *et al.* You Only Look Once: Unified, Real-Time Object Detection // Proc. IEEE Conf. on Computer Vision and Pattern Recognition. 2016.
5. WRITER. writer/writer-framework. <https://github.com/writer/writer-framework>. 2024. Accessed: 20.07.2025.