

міхурової протоки, іннервує її та жовчний міхур і потім підходить до правого кута воріт печінки.

### Висновки

1. Використання комплексу морфологічних досліджень дозволило встановити загальні закономірності формування та структурної організації печінкового сплетіння.

2. У зовнішній будові і структурній організації нервів печінкового сплетіння спостерігається виражена індивідуальна мінливість. На підставі аналізу макромікроскопічних препаратів нами виділені чотири варіанти в зовнішній будові печінкового сплетіння, залежно від варіантів артеріальних судин.

3. При наявності додаткових артерій, які живлять печінку, формуються їх периаеріальні сплетіння, що доповнюють печінкове сплетіння.

### Перспективи подальших досліджень

Отримані дані та виявлені закономірності, які характеризують особливості іннервації печінки людини, можуть бути використані в морфологічних дослідженнях як модель для вивчення нервів інших внутрішніх органів, а також в клініці для розробки нових методів лікування захворювань печінки.

### Література

1. Глускин И.И. Топография нервов печеночного сплетения человека // Материалы к докл. 7-й науч. Конференции Кемер. мед. ин-та и практ. врачей Кузбасса.-Кемерово, 1995.-Вып1.-С.83-84.
2. Затолокин В.Д. Анатомические долевые резекции печени: Автореф. дисс. д-ра мед. наук. -М., 1994. 34 с.
3. Катеренюк И.М., Глоба Л.Г. Макроскопическая анатомия печеночного сплетения // Морфология. 2000. - Т. 117, № 3. - С. 55.

*Лупурь В.М., Кулиш А.С., Лютенко М.А.*

### Формы изменчивости печеночного сплетения в зависимости от вариантов артерий печени

**Резюме.** Использован комплекс морфологических исследований, позволивший установить общие закономерности формирования и структурной организации нервов печеночного сплетения. Источниками нервов печени, желчного пузыря и желчевыводящих протоков являются чревное сплетение и ветви блуждающих ствол, а также диафрагмально-брюшные ветви диафрагмальных нервов (нижние диафрагмальные сплетения). Ветви этих источников формируют печеночное сплетение сопровождающее собственную печеночную артерию, ее ветви, воротную вену и желчные протоки. Определены четыре варианта образования и строения печеночного сплетения в зависимости от вариантов внеорганных артериальных сосудов печени.

**Ключевые слова:** анатомическая изменчивость, печеночное сплетение, внеорганные сосуды печени.

*V.M. Lypur, A.S. Kulish, M.A. Lyutenko*

### Forms of Variability Hepatic Plexus Depending on the Variants of Hepatic Arteries

**Summary.** Set of morphological studies, which was used to allow to establish general rules of formation and structural organization of the hepatic nerve plexus. Sources of the liver nerves, the gall bladder and the bile ducts are the celiac plexus and the branches of vagus trunk, and diaphragmatico-abdominal branches of the phrenic nerves (lower diaphragmatic plexuses). The branches of these sources form the hepatic plexus accompanying proper hepatic artery and its branches, and the portal vein and the bile ducts. Four variants of formation and structure of hepatic plexus depending on variants of extraorganic arterial vessels of liver were established.

**Key words:** anatomic changeability, hepatic interlacement, extraorganic arterial vessels of liver.

Надійшла 01.03.2013 року.

УДК 611.611: 611-018+611-013. 7/8

*Майстрок Н.І., Бойко Т.А., Шаповалова О.Ю.*

### Порівняльний аналіз процесів апоптозу і проліферації клітин підшлункової залози та первинної нирки в ембріонів людини

Кафедра гістології, цитології та ембріології (зав. каф. – проф. О.Ю.Шаповалова)

ДУ «Кримський державний медичний університет імені С.І.Георгієвського», м. Сімферополь

**Резюме.** Вивчено 56 зародків людини у віці від 21 доби до 12 тижнів внутрішньоутробного розвитку на стадіях послідовно від раннього періоду нервового жолобка до початку дефінітивного плодного періоду. Імуногістохімічно вивчений індекс проліферації (Ki-67-позитивні клітини), апоптозу (p53-позитивні клітини), індекс готовності до апоптозу (CD95-позитивні клітини) і антиапоптотичний індекс (Bcl-2-позитивні клітини) клітин первинної нирки. У розвинених мезонефронах індекси проліферації й апоптозу складових їх клітин приблизно однаково високі. Індекс готовності до апоптозу і антиапоптотичний індекс невисокі. В епітелії головної вивідної протоки підшлункової залози у міру дорослішання зародків індекс проліферації та антиапоптотичний індекс поступово знижуються, але залишаються помітно вищими, ніж індекс апоптозу і готовності до апоптозу. До 12-ти тижнів ембріогенезу (зародки 70 мм довжини) індекси проліферації й апоптозу суттєво вищі в провізорному органі, порівняно з дефінітивним органом. Індекс готовності до апоптозу і антиапоптотичний індекс знаходяться на однаковому рівні.

**Ключові слова:** ембріони людини, проліферація, апоптоз, первинна нирка, підшлункова залоза.

### Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Апоптоз – вибіркова або ізольована загибель клітини, керо-

вана геномом цієї ж клітини [3]. Незважаючи на зростаючий об'єм інформації щодо ролі апоптозу в онкогенезі, його значення в ранньому розвитку людини поки що можна визначити лише в загальних рисах. Слід вважати апоптоз ефективним способом видалення клітин з генетичними пошкодженнями. Апоптоз «самоочищення» – універсальний механізм для підтримання гено- і фенотипової однорідності ембріональних клітин і тканин. Тонка система рівноваги між проліферацією й апоптозом – ключовий механізм розвитку [1]. Відомо, що в нервовій системі, що розвивається, органах почуттів, краніальній області ембріонів і плодів людини експресія маркерів проліферації збільшується з віком, в той час як рівень апоптозу тут знижується [6]. Мезонефрос або первинна нирка є провізорним органом у розвитку ембріонів людини, яка закладається дуже рано, розквітає, функціонує і порівняно швидко редукується [2]. Підшлункова залоза відноситься до дефінітивним органам [4]. Вона також закладається дуже рано, однак функціонування її екзокринної частини починається тільки після народження. В доступній літературі ми не зустріли порівняльні дослідження процесів апоптозу і проліферації в провізорних і дефінітив-

них органах.

**Метою і задачею** нашого дослідження стало вивчення індексу проліферації, індексу готовності до апоптозу, індексу апоптозу й антиапоптотичного індексу клітин підшлункової залози і первинної нирки в процесі їх раннього розвитку у зародків людини, що розвиваються в матці, за відсутності явно виражених пошкоджуючих чинників зовнішнього і внутрішнього середовища.

### Матеріал і методи дослідження

Вивчені 56 зародків людини у віці від 21 доби до 12 тижнів внутрішньоутробного розвитку на стадіях послідовно від раннього періоду нервового жолобка до початку дефінітивного плодного періоду. Ембріони і плоди швидко фіксували 10% забуференим нейтральним формаліном відразу ж після операції абрасіо. Матеріал заливали в парафін і з них виготовляли серійні зрізи товщиною 5-6 мкм. Проліферативну активність клітин вивчали за допомогою моноклональних антитіл Ki-67 (MIB-1), які ідентифікують ядерний антиген, присутній у більшості проліферативних клітин. Антиген Ki-67, що визначається відповідними моноклональними антитілами, короткоживучий протеїн, руйнується впродовж 1-1,5 годин. Завдяки цьому Ki-67 виявляється тільки в клітинах, які діляться, оскільки не встигає накопичуватися і не залишається в спокійних клітинах [5]. Для оцінки готовності клітин мезонефросу до рецепторного апоптозу та обчислення індексу готовності до апоптозу використовували моноклональні антитіла до Fas-рецепторам (CD 95/Apo 1). Центральну роль у розвитку апоптозу відіграє так званий «дикий» («wild») тип гену – онкосупресора wt p53 і кодований ним протеїн p53 [7]. У дослідженні він використовується для визначення числа клітин, які знаходяться в стадії апоптозу. Білки типу Bcl (B-cell lymphoma) регулюють апоптоз на докаспазній стадії шляхом інактивування прокаспаз. Антиапоптотичний білок Bcl-2 пролонгує життя клітин, блокуючи апоптоз.

Імуногістохімічні реакції проводили в парафінових зрізах мезонефросу і підшлункової залози з використанням відповідних первинних антитіл Ki-67, CD 95 / Apo 1, Bcl-2 і p53 (DAKO) і системи візуалізації En vision (DAKO). Ядра дозобарвлювали гематоксиліном. Теплове демаскування антигенів проводили в мікрохвильовій печі Samsung M 1915 NR при фіксованій потужності 800 Вт упродовж 2 хвилин. Індекс проліферації, готовності до апоптозу і апоптозу, антиапоптотичний індекс визначали шляхом підрахунку кількості Ki-67, CD 95 / Apo 1, p53 і Bcl-2-позитивних клітин на 100 клітин мезонефросу і підшлункової залози при збільшенні  $\times 1350$  з наступним обчисленням показника у відсотках у середньому за результатами всіх вивчених зародків кожного віку.

### Результати дослідження та їх обговорення

У зародків у віці 37-41 доба (9-12 мм довжини) Вольфові тіла, що входять до складу видільної системи, досягли найвищого розвитку, простираючись від першого грудного до першого поперекового сегмента. Первинна нирка має структурні ознаки, що свідчать про високий рівень органоспецифічного диференціювання і функціональної активності як переважної більшості мезонефральних нефронів, зокрема, так і всього органу в цілому. Диференційоване Вольфово тіло складається із нефронів, що розташовуються один над іншим по вертикалі. Мезонефральні нефрони містять тільця і диференційовані каналці. Тільця представляють собою судинні клубочки і мезангій, оточені двостінною капсулою, яка складається з плоских клітин зі слабо оксифільною цитоплазмою і витягнутими ядрами. Індекс проліферації й апоптозу клітин судинних клубочків

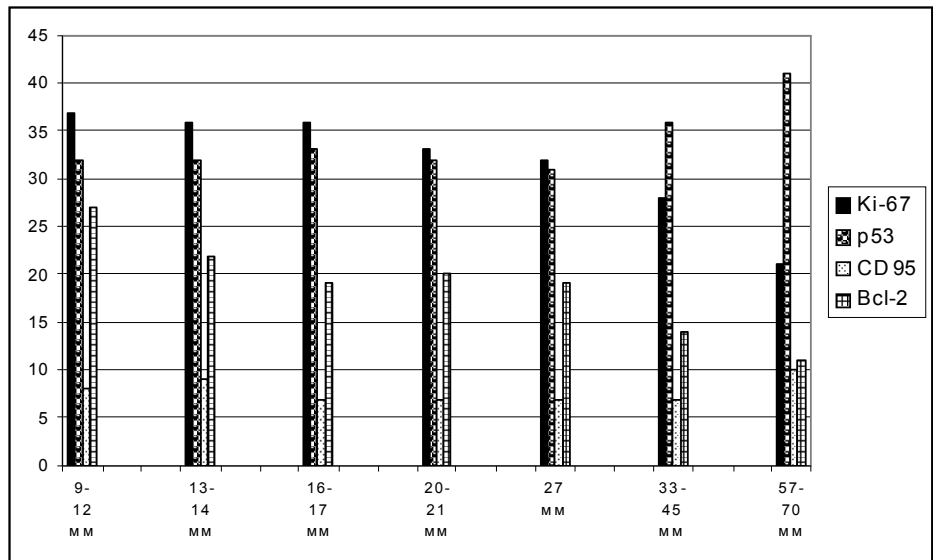


Рис. 1. Індекс проліферації (Ki-67-позитивні клітини), апоптозу (p53-позитивні клітини), індекс готовності до апоптозу (CD95-позитивні клітини) та антиапоптотичний індекс (Bcl-2-позитивні клітини) клітин судинних клубочків мезонефронів у стадії розвитку

високі і знаходяться приблизно на одному рівні ( $36,8 \pm 0,34$  і  $31,8 \pm 0,28$ ) (рис. 1). Антиапоптотичний індекс тих же клітин суттєво нижче і становить  $26,5 \pm 0,44$ . Вісцеральний листок щільно зрощений з ендотелієм судин. Між листками добре виражена порожнина. Капсула тільця переходить в S-подібну вигнуту каналці, що впадають в Вольфову протоку. Канальці оточені капілярами, по яких кров із клубочків повертається в субкадінальні вени. Між клубочками і каналцями знаходяться невеликі прошарки мезенхіми.

У зародків у віці старше 57 діб (27 мм довжини) мезонефрос у середніх відділах повністю редукувався, зберігаючи свою будову тільки на рівні гонад. У міру дорослішання плодів до кінця вивченого періоду внутрішньоутробного життя (зародки 12 тижнів, 57-70 мм довжини) мезонефрос піддається подальшій редукції. В ньому нараховується дуже мало функціонуючих диференційованих мезонефронів. Індекс проліферації клітин судинних клубочків знизився і становить  $20,5 \pm 0,44$ . Індекс апоптозу клітин судинних клубочків збільшився і становить  $40,8 \pm 0,39$ . Індекс готовності до апоптозу збільшився і становить  $9,6 \pm 0,35$ . Антиапоптотичний індекс знизився і становить  $11,2 \pm 0,11$ .

У зародків 38 діб (10 мм довжини) присутні дорзальний і вентральний зачатки підшлункової залози. Дорзальна закладка залози представляє собою епітеліальну трубку, що лежить в брижі шлунка. Вона вистелена зсередини багаторядним призматичним епітелієм зі слабо оксифільною цитоплазмою та овальними крупними ядрами, перпендикулярними до основи. Індекс проліферації і апоптозу клітин головної вивідної протоки дорзальної закладки невисокі і знаходяться приблизно на одному рівні ( $29,7 \pm 0,35$  і  $20,4 \pm 0,22$ ). Антиапоптотичний індекс тих же клітин суттєво вище і становить  $30,1 \pm 0,31$  (рис. 2). CD95-позитивні клітини становлять  $10,6 \pm 0,11$ . Базальна мембрана виражена слабо. Дистальний відділ дорзальної закладки багатократно галузиться, утворюючи первинні епітеліальні трубки, покриті багаторядним призматичним епітелієм. Індекс проліферації, апоптозу, готовності до апоптозу і антиапоптотичний індекс клітин галужень проток першого порядку становить  $34,4 \pm 0,27$ ;  $18,6 \pm 0,28$ ;  $9,1 \pm 0,13$  і  $39,9 \pm 0,25$ , відповідно.

По ходу вторинних гілок в різних напрямленнях спостерігається утворення нових епітеліальних нирок, які представляють собою закладки проток 2-го порядку. В деяких із них є невеликі просвіти, вистелені дворядним кубічним епітелієм. Індекс проліферації, апоптозу, готовності до апоптозу і антиапоптотичний індекс клітин галужень проток другого

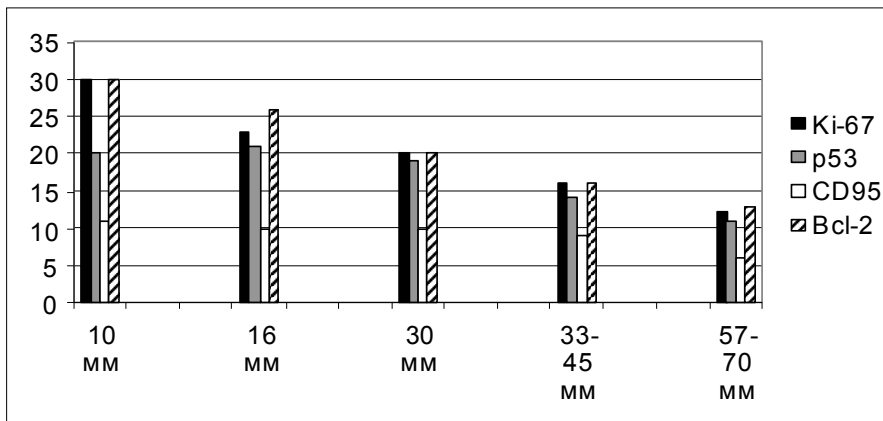


Рис. 2. Індекс проліферації (Ki-67-позитивні клітини), апоптозу (p53-позитивні клітини), індекс готовності до апоптозу (CD95-позитивні клітини) і антиапоптотичний індекс (Bcl-2-позитивні клітини) епітеліоцитів головної вивідної протоки підшлункової залози

порядка становить  $39,1 \pm 0,43$ ;  $16,8 \pm 0,12$ ;  $8,3 \pm 0,09$  і  $45,2 \pm 0,38$ , відповідно. Високі показники індексу проліферації й антиапоптотичного індексу свідчать про активне розмноження клітин і наступне їхнє диференціювання [5]. Программованої клітинної загибелі в епітелії проток другого порядку розгортається в невеликому числі клітин. Близьке до кінцевого відділу дорзальна закладка поступово звужується. Кількість відгалужень 1-го порядку зменшується спочатку до 3-4, потім до 2-х і, накінець, до одного. Вентральна закладка значно менших розмірів. Вона, як і дорзальна, галузиться і має протоки 1-го і 2-го порядків.

При вивченні гістологічних препаратів зародків 9-10 тижнів (33-45 мм довжини) вперше відзначається початок формування кінцевих секреторних відділів підшлункової залози. На дистальних кінцях проток 4-го порядку виявляються епітеліальні нирки, які мають грушоподібну форму і представляють собою зачатки ацинусів. Ці зачатки складаються зі щільно лежачих кубічних клітин зі слабо базофільною цитоплазмою. Дуже високий антиапоптотичний індекс ( $46,2 \pm 0,29$ ) і високий індекс проліферації ( $37,9 \pm 0,34$ ) нараховується серед цих клітин, що свідчить про активні процеси формоутворення і диференціювання. Клітини цих закладок слабо піддані апоптозу: індекс апоптозу –  $16,7 \pm 0,22$  і індекс готовності до апоптозу –  $10,2 \pm 0,14$ . У розташуванні епітеліальних структур залози чітко видна почасткованість. Внутрішньочасточкові вивідні протоки 2-го, 3-го і 4-го порядків і міжчасточкові вивідні протоки, що є первинними відгалуженнями головної вивідної протоки, присутні в підшлунковій залозі. Головна вивідна протока залози на всьому протязі внутрішньозалозової частини, розташованої в задньому сегменті головки та в області тіла, має єдиний канал. Він вистелений зсередини дворядним призматичним епітелієм, який в області головки стає однорядним призматичним. Серед епітеліоцитів продовжується зниження всіх вивчених індексів (рис. 2). Навколо новоутворених на кінцях проток 4-го порядку ацинусів відбувається прискорений, порівняно з іншими ділянками, розвиток ембріональної сполучної тканини. Самий високий серед клітин ембріональної сполучної тканини підшлункової залози антиапоптотичний індекс ( $33,9 \pm 0,25$ ) та індекс проліферації ( $33,4 \pm 0,22$ ) властиві цим клітинам, що свідчить про активні процеси формоутворення і диференціювання. Клітини цих закладок слабо піддані апоптозу: індекс апоптозу –  $11,5 \pm 0,12$  та індекс готовності до апоптозу –  $7,8 \pm 0,12$ .

## Висновки

1. У розвинутих в конкретний період часу мезонефронах індекси проліферації й апоптозу складових їх клітин приблизно однаково високі. Індекс готовності до апоптозу й

антиапоптотичний індекс невисокі.

2. В епітелії головної вивідної протоки підшлункової залози у міру дорослішання зародків індекс проліферації і антиапоптотичний індекс поступово знижуються, але залишаються помітно вищими, ніж індекс апоптозу і готовності до апоптозу.

3. В епітелії сформованих проток, порівняно з епітелієм проток, що знову з'явилися, індекс проліферації й апоптозу його клітин приблизно однакові.

4. До 12-ти тижнів ембріогенезу (зародки 70 мм довжини) індекси проліферації й апоптозу суттєво вищі в провізорному органі порівняно з дефінітивним органом. Індекс готовності до апоптозу й антиапоптотичний індекс знаходяться на однаковому рівні.

## Перспективи подальших досліджень

Порівняльне вивчення процесів проліферації й апоптозу клітин мезонефросу як провізорного органу і підшлункової залози як дефінітивного органу допоможе розкрити закономірності провізорного і дефінітивного гістогенезу та органогенезу, що порушуються при різних патологіях.

## Література

1. Милованов А. П. Внутриутробное развитие человека / А. П. Милованов, С. В. Савельева. – М., 2006. – 382 с.
2. Роль принципа провизорности в реализации филэмбриогенезов / Г. С. Соловьев, В. Л. Янин, В. Д. Новиков [и др.] // Морфология. – 2005. – Т. 128, № 4. – С. 14-19.
3. Цымбалюк В. И. Нейрогенные стволовые клетки / В. И. Цымбалюк, В. В. Медведев. – К.: Коваль, 2005. – 596 с.
4. Ashizawa S. PDX-1 and the pancreas / S. Ashizawa, F. C. Brunnicardi, X. P. Wang // Pancreas. – 2004. – Vol. 28, N 2. – P. 109-120.
5. Cell proliferation in the growing human heart: MIB-1 immunostaining in preterm and term infants at autopsy / V. Huttenbach, M. L. Ostrowski, D. Thaller, H. S. Kim // Cardiovasc. Pathol. – 2001. – Vol. 10, N 3. – P. 119-123.
6. Cernochova D. Apoptosis and expression of proliferative proteins in the developing nervous system and orofacial region of human embryos / D. Cernochova, E. Pospisilova, D. Nepozitkova et al. // Gen. Physiol. Biophys. – 1999. – V. 18 Suppl., N 1. – P. 90.
7. Fesus L. P. Apoptosis; Molecular mechanisms in programmed cell death / L. P. Fesus, J. A. Davis, M. Piacentini // Europ. J. Cell Biol. – 1991. – Vol. 747. – P. 195-204.

Майстрок Н.И., Бойко Т.А., Шаповалова Е.Ю.

## Сравнительный анализ процессов апоптоза и пролиферации клеток поджелудочной железы и первичной почки у эмбрионов человека

**Резюме.** Изучено 56 зародышей человека в возрасте от 21 суток до 12 недель внутриутробного развития на стадиях последовательно от раннего периода нервного желобка до начала дефинитивного плодного периода. Иммуногистохимично изучен индекс пролиферации (Ki-67-позитивные клетки), апоптоза (p53-позитивные клетки), индекс готовности к апоптозу (CD95-позитивные клетки) и антиапоптотический индекс (Bcl-2-позитивные клетки) клеток первичной почки. В развитых мезонефронах индексы пролиферации и апоптоза составляющих их клеток приблизительно одинаково высокие. Индекс готовности к апоптозу и антиапоптотический индекс не высоки. В эпителии главного выводного протока поджелудочной железы по мере взросления зародышей индекс пролиферации и антиапоптотический индекс постепенно снижаются, но остаются заметно выше, чем индекс апоптоза и готовности к апоптозу. К 12-ти неделям эмбриогенеза (зародыши 70 мм длины) индексы пролиферации и апоптоза существенно выше в провизорном органе по сравнению с дефинитивным органом. Индекс готовности к апоптозу и антиапоптотический индекс находятся на одинаковом уровне.

**Ключевые слова:** эмбрионы человека, пролиферация, апоптоз, первичная почка, поджелудочная железа.

N.I. Maystruk, T.A. Boyko, Ye.Yu. Shapovalova

**Comparative Analysis of Apoptosis and Proliferation Processes in Cells of Pancreas and Mesonephros of Human Embryos**

**Summary.** 56 human embryos were studied in the age from 21 days to 12 weeks of the intrauterus development at absence of the obviously expressed damaging factors of external environment, which includes stage X - XXIII and beginning of the fetal period by classification of Carnegie institute, index of proliferation (Ki-67-positive cells), index of apoptosis (p53- positive cells), index of readiness to the apoptosis (CD95- positive cells) and antiapoptosis index (Bcl-2-positive cells) of mesonephros cells have been revealed. In developed mesonephrons indexes of proliferation and apoptosis of their cells approximately are identically high. The index of readiness to the apoptosis

and antiapoptosis index is not high. In the epithelium of pancreas main duct as far as maturing of embryos the proliferation index and antiapoptosis index go down gradually, but remain notably higher, than index of apoptosis and readiness to the apoptosis. By the 12th week of gestation (embryos 70 mm of length) indexes of proliferation and apoptosis substantially higher in mesonephros as compared to pancreas. An index of readiness to the apoptosis and antiapoptosis index are at identical level.

**Key words:** human embryos, proliferation, apoptosis, mesonephros, pancreas.

Надійшла 01.03.2013 року.

УДК 611.813

Масловский С.Ю., Масловский А.С., Аврунин О.Г.<sup>1</sup>, Глассмахер Б.<sup>2</sup>

**Автоматизированный анализ криомикроскопических препаратов**

Кафедра гистологии, цитологии, и эмбриологии (зав. каф. – проф. С.Ю.Масловский)

Харьковского национального медицинского университета

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет радиоэлектроники

<sup>2</sup>Университет им. Лейбница, Ганновер, Германия

**Резюме.** В результате исследований разработаны методы и программное обеспечение для автоматизированной обработки криомикроскопических препаратов эндотелия и определения объема клеток при криоконсервировании. Реализованы методы, позволяющие устранять артефакты от кристаллов льда при замораживании криопрепаратов. Однако это приводит к уменьшению количества наблюдаемых объектов, поэтому необходимо разрабатывать методы замораживания с минимальным количеством артефактов от кристаллов льда.

**Ключевые слова:** криопрепараты, сегментация изображений, анализ изображений.

**Постановка проблемы и анализ последних исследований.**

Основной причиной сравнительно низкого уровня автоматизации программных продуктов для анализа биомедицинских изображений является высокая вариабельность большинства биологических структур. Поэтому совершенствование существующих и разработка новых методов и подходов для анализа (и в первую очередь - для сегментации) биомедицинских изображений должны быть основаны на изучении специфики визуализации исследуемых объектов. В настоящее время базовые подходы к сегментации изображений достаточно хорошо освещены в литературе [1-7]. При этом можно определить пять основных классов методов сегментации объектов: пороговые, наращивания областей, выделения границ, корреляционные и текстурные. Последние два находят лишь ограниченное применение при анализе изображений биологических объектов, ввиду высокой индивидуальной изменчивости их геометрических и оптических свойств, а так же характеристик окружающих структур. Основной задачей при этом является разработка методов, алгоритмов и программного обеспечения для автоматизированной обработки изображений микропрепаратов и мониторинга изменения объемов клеток в процессе замораживания.

**Материал и методы исследований**

Исследования проводились на препаратах эндотелия животных с помощью цифровой криомикроскопической установки, состоящей из стереоскопического микроскопа Zeiss PrimoStar с тринокулярной насадкой, позволяющей подключать цифровую окулярную видеокамеру, снимки с которой с частотой 2 кадра в секунду передавались через USB-интерфейс в ПЭВМ для дальнейшей обработки и анализа. Препарат размещался на предметном столике микроскопа в специальной криоприставке, к которой с помощью термоизолированных криошлангов подавался жидкий

азот. Протокол криозамораживания включал в себя понижение температуры от +4°С до -70°С. При этом для обработки подготавливался набор изображений (DataSet).

**Результаты исследований и их обсуждение**

Обработку изображений микропрепаратов можно разбить на несколько этапов, основными из которых являются этап предварительной обработки, сегментации микрообъектов и их описания. Рассмотрим подробно данные этапы.

Предварительная обработка изображений включает в себя гистограммную коррекцию и медианную фильтрацию изображений, направленные на расширение тонового диапазона, коррекцию неравномерности освещения и устранение локальных помех.

Этап сегментации изображений, который делится на две стадии: грубой сегментации и разметки обнаруженных объектов. Результатом грубой сегментации является построение бинарной характеристической функции изображения, разграничивающей области объектов и фона. Априорными данными для сегментации при этом являются: допущения, что изображение является суммой представлений всех областей объектов, на изображении (включая фон как объект), и области объектов, находящиеся на изображении, не перекрываются. Учитывая, что при криомикроскопии большинство клеточных структур, являющиеся объектами сегментации, существенно не отличаются по интенсивности и цветовым характеристикам от фона, но имеют ярко выраженные контуры, целесообразным является проведение сегментации путем выделения границ. Данный метод позволяет с помощью операций пространственного дифференцирования выделять контурные характеристики объектов и основан на вычислении градиентных характеристик изображения. На заключительном этапе выполняется однородная заливка обнаруженных объектов на изображениях.

На стадии разметки изображения на отдельные объекты выполняется построчное сканирование бинарной характеристической функции скользящим окном и проверкой смежности элементов обнаруженных объектов. Процедура выполняется рекурсивно до полной разметки изображения.

Далее выполняется устранение ложных объектов и артефактов с помощью логической фильтрации. Параметры логической фильтрации определяются эмпирически, исходя из характеристик искомых объектов. Первым этапом является устранение малых по площади объектов, являющихся