

Генерация и исследование набора данных электронной микроскопии мозга для целей сегментации

Н.А. Соколов¹, Е.П. Васильев¹, А.А. Гетманская¹

¹ Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Нижний Новгород, 603022, Россия

Аннотация

Технология электронной микроскопии (ЭМ) дает новые возможности для исследователей в биомедицине. Применение методов искусственного интеллекта для обработки данных ЭМ во многом затруднено из-за малого объема аннотированных данных. Поэтому мы добавляем синтетические изображения в набор реальных данных ЭМ или используем полностью синтетический набор обучающих данных. В этой работе мы представляем алгоритм синтеза 6 типов органелл. На основе набора данных EPFL был создан обучающий набор из 860 реальных изображений 256x256 (ORG) и 6000 синтетических изображений (SYN), а также объединенный набор синтетических и реальных изображений (MIX). Эксперименты по обучению моделей для сегментации на 5 и 6 классов показали, что, несмотря на несовершенство синтетических данных, для плохо представленного в обучающем наборе данных аксона использование синтетического набора данных улучшает метрику Dice с 0.3 на оригинальном наборе до 0.8 на смешанном и синтетическом. Стратегия использования синтетических данных позволяет получать аннотации автоматически, но требует усилий на создание достаточно реалистичных изображений.

Ключевые слова

Медицинская сегментация, электронная микроскопия, нейронная сеть, сегментация изображений, машинное обучение.

Generation and Study of the Synthetic Brain Electron Microscopy Dataset for Segmentation Purpose

N.A. Sokolov¹, E.P. Vasiliev¹, A.A. Getmanskaya¹

¹ Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Gagarina av., 23, N.Novgorod, 603022, Russian Federation

Abstract

Advanced microscopy technologies such as electron microscopy have opened up a new field of vision for biomedical researchers. The use of artificial intelligence methods for processing EM data is largely difficult due to the small amount of annotated data at the training stage. Therefore, we add synthetic images to an annotated real EM dataset or use a fully synthetic training dataset. In this work, we present an algorithm for the synthesis of 6 types of organelles. Based on the EPFL dataset, a training set of 860 real fragments 256x256 (ORG) and 6000 synthetic ones (SYN), as well as their combination (MIX), were generated. An experiment of training models for segmentation into 5 and 6 classes showed that, despite the imperfection of synthetic data, for an axon poorly represented in the training data set, the use of a synthetic data set improves the Dice metric from 0.3 on the original dataset to 0.8 on the mixed and synthetic datasets. The synthetic data strategy gives annotations for free, but shifts the effort to producing sufficiently realistic images.

ГрафиКон 2022: 32-я Международная конференция по компьютерной графике и машинному зрению, 19-22 сентября 2022 г., Рязанский государственный радиотехнический университет им. В.Ф. Уткина, Рязань, Россия

EMAIL: nikcsokolof@mail.ru (Н.А. Соколов); evgeny.vasiliev@itmm.unn.ru (Е.П. Васильев); getmanskaya.alexandra@gmail.com (А.А. Гетманская)

ORCID: 0000-0002-9055-222 (Н.А. Соколов); 0000-0002-7949-191 (Е.П. Васильев); 0000-0003-3533-1734 (А.А. Гетманская)



© 2022 Copyright for this paper by its authors.
Use permitted under Creative Commons License Attribution 4.0 International (CC BY 4.0).

Keywords

Мультиклассовая сегментация, электронная микроскопия, нейронные сети, сегментация изображений, машинное обучение.

1. Введение

Передовые технологии микроскопии, такие как электронная микроскопия (ЭМ), дали новые возможности для биомедицинских исследователей. Разрешение изображения ЭМ очень высокое, поэтому кубический миллиметр мозговой ткани может составлять объем более терабайта данных. Полученные изображения анализируются для идентификации отдельных клеток. Сегментация данных обычно выполняется биологами вручную, и на обработку одного эксперимента уходит до полугода ручной работы.

Одной из первых статей, в которой сканирующая электронная микроскопия используется в качестве источника трехмерной наногистологии высокого разрешения для клеток и тканей, была статья [1] (2010). Последующая серия работ была направлена на создание наборов данных для обучения глубоких нейронных сетей (ГНС), а также методов и моделей ГНС для сегментации данных ЭМ, предназначенных для бинарной сегментации нейронных мембран [2] и супервоксельной сегментации митохондрий [3]. Одновременно ставится задача трехмерной реконструкции нейронной сети мозга и проблема коннектомики мозга на основе нейронных органелл и связей между нейронами (синапсов) [4]. Для этой задачи особое значение имеет сегментация таких органелл, как постсинаптические плотности (ПСД), везикулы и аксоны.

Создание в 2015 году архитектуры U-Net [5] дало развитие разработке моделей и инструментов для сегментации данных ЭМ головного мозга. Причина успеха U-Net заключается в использовании контекстной информации входного изображения на всех уровнях обработки. Почти сразу публикация [6] экспериментально подтвердила, что проброшенные связи (skip-connections) архитектуры U-Net эффективно решают задачи сегментации в биомедицине.

Архитектура U-Net также послужила основой для создания многочисленных моделей: ResUnet [7,8], 3DU-Net [9] (2016), V-Net [10] (2016), DeepMedic [11] (2017), HighRes3DNet [12] (2017), Inception Unet [13] (2020), R2U++ [14] (2022).

Применение методов искусственного интеллекта для обработки данных ЭМ во многом затруднено из-за небольшого объема размеченных данных для обучения и тестирования ГНС. Открытые данные ЭМ в целом представлены лишь несколькими размеченными наборами данных, как из-за трудоемкости подготовки образцов для электронного микроскопа, так и из-за отсутствия большого количества специалистов для ручной разметки. Мы нашли четыре открытых набора данных ЭМ, самые ранние и самые популярные из которых размечены только для одного класса (митохондрии или мембраны). В двух других наборах данных выделяют несколько классов. В результате большинство нейронных сетей, используемых в обработке ЭМ, были обучены выполнять только бинарную сегментацию.

В предыдущей статье [15] мы представили первые результаты создания алгоритма, синтезирующего ЭМ-данные и разметку. Мы использовали синтетические данные, чтобы дополнить исходный набор данных синтетическим аксоном. Следует отметить, что попытки синтеза данных электронной микроскопии высокопористых структур хорошо описаны в статье Fend et al [16] (2022), примеры данных изображений синтетической сканирующей электронной микроскопии показаны на рисунке 1.

В связи с изложенным выше, основной целью данной работы является (1) усовершенствование алгоритмов автоматической генерации набора данных синтетических объектов; (2) внедрение параметризации в алгоритм синтеза данных; (3) изучение возможности мультиклассовой сегментации U-Net-подобных архитектур, начиная с U-Net (в этой работе), с использованием EM-набора данных, синтетического набора данных и смешанного набора данных.

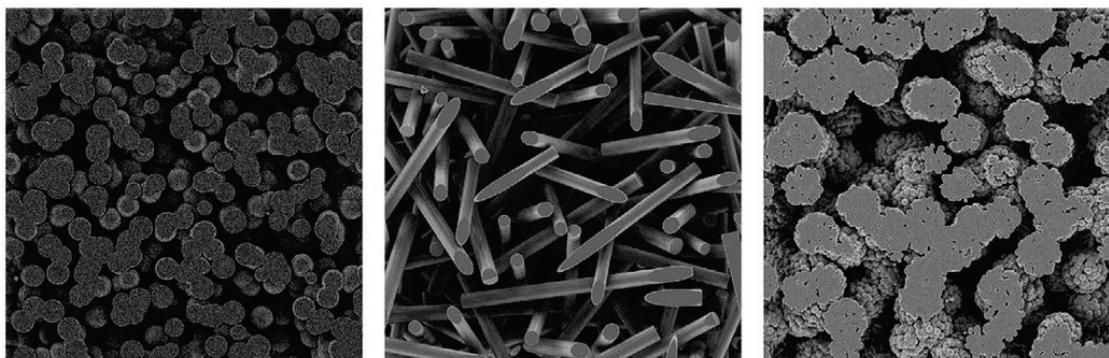


Рисунок 1 – Примеры синтетических изображений сканирующей электронной микроскопии, Fend et al. [16]

2. Наборы данных и методы обработки

В данном разделе мы приводим описание общедоступных наборов данных (таблица 1). Наиболее популярные наборы данных для оценки сегментации митохондрий были собраны Lucchi et al. в [3].

Таблица 1 – Публично доступные и размеченные наборы ЭМ данных

№	Название	Размер данных	Размер размеченных данных	Размеченные органеллы	Разрешение нм / воксел
1	AC4, ISBI [17]	4096×4096×1850	1024×1024×40	мембраны	6×6×30
2	EPFL, Lucchi [3]	1065×2048×1536	1024×768×165	митохондрии	5×5×5
3	Kasthuri et al [18]	1463×1613×85	1334×1553×75	митохондрии	3×3×30
4	UroCell [19]	1366×1180×1056	256×256×256	митохондрии, везикулы, эндолизосомы	

В трех из четырех открытых наборов данных размечен только один класс органелл. Только один набор данных содержит разметку для более чем одного класса. По этой причине подавляющее большинство нейронных сетей в ЭМ обучены классифицировать только два класса (объект и фон).

В работы мы опирались на набор данных EPFL, доступный по адресу <https://www.epfl.ch/labs/cvlab/data/data-em/>. Данные оригинального набора содержат разметку только для митохондрий.

Для разработки и оценки алгоритмов мультиклассовой сегментации мы вручную разместили 20 слоев обучающей выборки (1024×768) и 3 тестовых слоя для следующих типов органелл: 1) митохондрии с включением их границ; 2 – границы митохондрий; (3) клеточные мембраны; (4) постсинаптические уплотнения (PSD); (5) оболочки аксонов; (6) везикулы.

Качественная ручная разметка одного слоя занимает 5–8 часов. Наша разметка набора данных EPFL доступна по адресу <https://github.com/GraphLabEMproj/unet>. Так получилось, что оболочка аксона в обучающем наборе данных присутствует только в первых 36 слоях и выглядит совершенно иначе, чем оболочка аксона в тестовом наборе данных (рисунок 2). В наборе тестовых данных аксон представлен в первых 70 слоях, меняет свою форму с вытянутой на более округлую, а также имеет более темную внутреннюю часть.

Для синтетического набора данных мы сгенерировали 6000 изображений размером 256×256 пикселей, содержащих наименее представленные классы — постсинаптические плотности и оболочки аксонов.

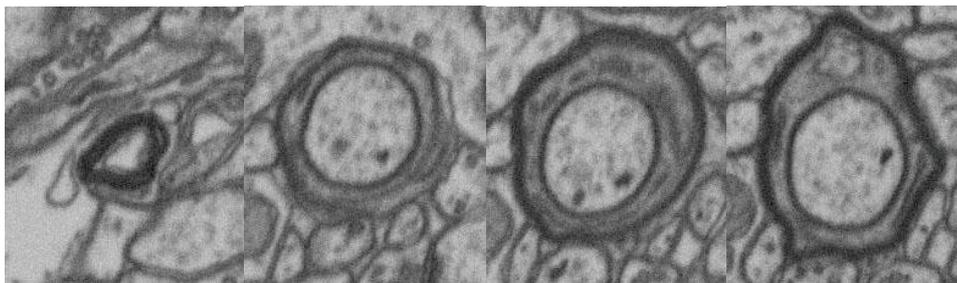


Рисунок 2 – Оболочки аксонов в обучающей и тестовой выборках EPFL (слева направо): оболочка аксона в обучающей выборке; оболочка аксона в тестовом наборе, слой № 1; оболочка аксона в тестовом наборе, слой № 35; оболочка аксона в тестовом наборе, слой № 70

Пример одного размеченного образца показан на рисунке 3, пример сгенерированных данных представлен на рисунке 4. Форма, размер и яркость органелл подобраны так, чтобы они были аналогичны форме, размеру и яркости тестового набора данных EPFL.



Рисунок 3 – Пример синтетических данных (слева направо): синтетическое изображение; маска оболочек аксонов; маска мембран; маска постсинаптических уплотнений

Все изображения были размыты фильтром Гаусса с ядром в 7 пикселей. К каждому изображению также добавлялся гауссовский шум с уровнем 20. Это делает сгенерированные изображения более похожими на реальные изображения. Преимущество синтетического набора в том, что можно создать синтетический набор данных и его разметку на 6 классов необходимого размера.

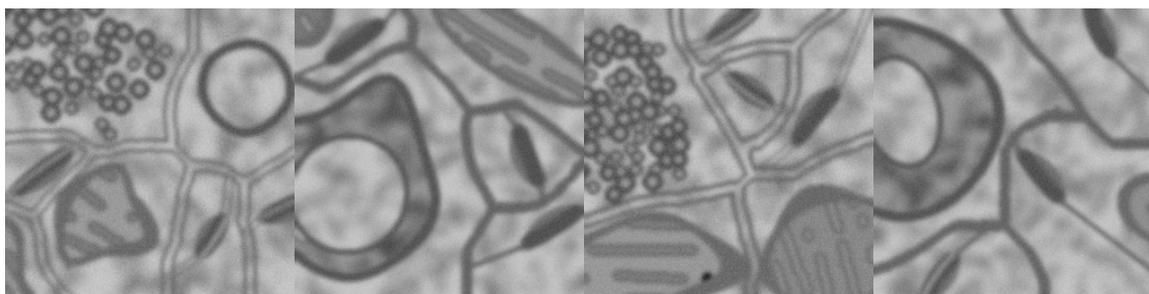


Рисунок 4 – Пример синтетических изображений разных органелл

Исследования, представленные в этой статье, являются значительным развитием нашей работы [15], мы расширяем тему генерации синтетических изображений, улучшая генерацию некоторых органелл и добавляя возможность параметризации алгоритмов генерации синтетических изображений для достижения высокого сходства с разными реальными наборами данных с помощью единого универсального кода.

2.1. Алгоритм генерации синтетических данных

Алгоритм генерации синтетических данных включает следующие этапы.

1. Генерация органелл (аксонов, митохондрий, PSD, везикул).
2. Размещение органелл на изображении.
3. Генерация мембран.
4. Размытие и зашумление изображения.

Аксоны. Мы генерируем два типа аксонов: заполненные внутри либо оболочка аксона. Сначала случайным образом выбирается точка центра органеллы. Вокруг центра создается от 7 до 14 точек оболочки, расстояние от центра до точек оболочки выбирается в некотором заданном диапазоне (от 15 до 82 пикселей для оболочки и от 40 до 139 пикселей для аксона с внутренним наполнением). Для рисования оболочки используется замкнутый сплайн по точкам оболочки. Для рисования утолщения оболочки аксона мы берем подмножество последовательных точек оболочки и используем открытый сплайн с большей толщиной линии. В случае создания аксона с внутренней частью, внутренняя часть заполняется с помощью затемненной и размытой текстуры фона. Внутренняя оболочка генерируется в виде эллипса.

Митохондрии. Органеллы формируются в виде вытянутой сглаженной, немного асимметричной фигуры с оболочкой варьирующейся толщины. Мы используем от 4 до 10 точек оболочки, созданных вдоль центральной линии митохондрии для рисования сплайна. Для создания косога среза митохондрии используется открытый сплайн, состоящий из точек, расположенных вблизи наиболее удаленных частей митохондрии. Для внутренней части митохондрий генерируется текстура, состоящая из непересекающихся отрезков линий разной длины.

Везикулы. Генерация органелл начинается с выбора области, в которой будут располагаться везикулы. После этого в эту область добавляется определенное количество одиночных “пузырьков” - окружностей маленького радиуса, большинство из которых не пересекается.

Постсинаптические уплотнения генерируются как сегменты криволинейного отрезка низкой яркости, с областью затемнения вокруг органеллы.

Маски органелл. Маски для органелл (аксоны, митохондрии, везикулы, PSD, мембраны) генерируются с изменением цвета алгоритма рисования органеллы на белый. Мы используем маски, чтобы разместить органеллы на изображениях без пересечения, для этого делается несколько попыток добавить маску к изображению на пустое место.

Мембраны. Мы используем маски органелл в качестве начальных кластеров алгоритма разрастания регионов. Границы полученных регионов становятся мембранами, и добавляются линии от постсинаптических уплотнений к мембранам. На некоторых изображениях создаются двойные тонкие границы вместо одинарных толстых, чтобы больше походить на исходный набор данных.

2.2. Персонафикация алгоритма генерации синтетических данных под различные наборы данных

Несмотря на то, что разные наборы данных получаются из сходных биологических материалов, их цифровые изображения могут сильно различаться в зависимости от используемого оборудования, выбранного масштаба, качества матрицы и других условий. В результате наборы данных разных исследователей имеют различные статистические характеристики. Чтобы синтетические наборы данных соответствовали разным реальным данным, алгоритмы генерации должны быть параметризованы. На рисунке 5 представлены примеры изображений из наборов данных EPFL (а) и набора данных AC4 (б). Эти изображения сильно различаются по средней яркости органелл, толщине линий, размытости контуров.

Для того, чтобы статистические характеристики синтетического набора совпадали с реальными данными, были параметризованы характеристики сгенерированных объектов. Параметризация коснулась средней яркости всех объектов и отклонения от средней яркости, толщины и цвета границ. Благодаря параметризации генератор может генерировать изображения, аналогичные EPFL (рисунок 5, в) и набору данных AC4 (рисунок 5, г), подстраиваясь под конкретный набор данных.

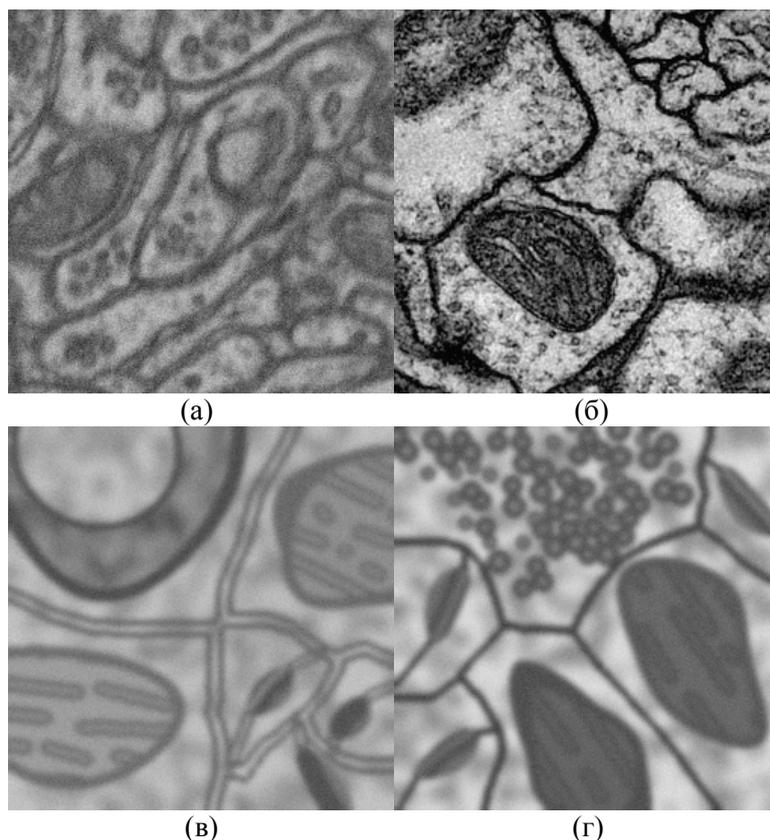


Рисунок 5 – Параметризация генератора для различных наборов данных: (а) исходный EPFL; (б) исходный набор данных AC4; (в) синтетический EPFL; (г) синтетический набор данных AC4

2.3. Архитектура модели глубокого обучения

U-Net является наиболее часто используемой архитектурой модели глубокого обучения для задач сегментации медицинских изображений. Эта архитектура состоит из сужающегося пути для изучения глобального контекста и симметричного ему расширяющегося пути. Базовой реализацией является проект <https://github.com/zhixuhao/unet>. В исходном проекте U-Net использовался для бинарной классификации мембран. В этой работе мы используем U-Net для мультиклассовой сегментации. Репозиторий с нашими изменениями и нашей разметкой данных EPFL доступны по ссылке: <https://github.com/GraphLabEMproj/unet>, наша реализация имеет некоторые изменения, по сравнению с оригинальной U-Net [5].

- Вход модели - изображение $256 \times 256 \times 1$;
- Выход модели - массив $256 \times 256 \times N$, где N - количество классов;
- В качестве выходного слоя сигмоидальная функция активации;
- Мы добавили пакетную нормализацию после каждого слоя свертки и активации ReLU.

3. Результаты экспериментов

3.1. Метрики качества моделей

В качестве основной метрики мы используем коэффициент Дайса-Серенсена (Dice), который обычно используется для сегментации биомедицинских изображений:

$$Dice = \frac{2TP}{(2TP + FP + FN)}, \quad (1)$$

где TP - количество правильно классифицированных пикселей как принадлежащих целевому классу (истинно положительных); FP - количество ошибочно классифицированных пикселей

как принадлежащих целевому классу (ложноположительных); FN - количество ошибочно классифицированных фоновых пикселей (ложноотрицательных).

Поскольку в этой работе мы рассматриваем мультиклассовую сегментацию, нас интересуют мультиклассовые метрики качества. Поскольку метрика Dice сравнивает два множества, в случае многоклассовой классификации результатом будет вектор метрик Dice для каждого класса. Для обучения нейронной сети используется скалярная функция ошибок. Следовательно, для мультиклассовой сегментации мы должны свернуть вектор в скаляр. Чтобы свернуть вектор в скаляр, мы используем линейную свертку:

$$W_{scalar} = \sum_{i=1}^N \lambda_i W_i, \lambda_i \geq 0, \sum_{i=1}^N \lambda_i = 1, \quad (2)$$

где λ_i - весовой коэффициент, а W_i - значение коэффициента расстояния для i -го класса. W_{scalar} - скалярное значение или свертка вектора расстояния, а N — количество классов. В данной работе используется линейная свертка Dice с весовыми коэффициентами λ_i , равными $1/N$.

3.2. Обучение моделей

Нами было вручную размечено 20 срезов EPFL (1024×768) для целей обучения и 3 среза (1024×768) для целей тестирования из набора данных EPFL.

ORG — это тренировочный набор данных, включающий только данные EPFL. Двадцать изображений высокого разрешения исходной обучающей выборки были разрезаны на фрагменты размером 256×256 с перекрытием в четверть размера фрагмента. Всего начальная обучающая часть ORG состоит из 860 фрагментов.

SYN — это тренировочный набор данных, включающий только синтетические данные. Для получения синтетического (SYN) обучающего набора данных мы создаем 6000 фрагментов.

MIX — это смешанный тренировочный набор данных, состоящих из двух предыдущих наборов; состоит из 6860 фрагментов.

В качестве аугментации применяются случайные повороты изображений, сдвиг и изменения масштаба в небольшом диапазоне (5%).

80% тренировочной выборки использовались для обучения, а 20% - для валидации. Размер пачки равен 7.

Все три модели тестировались на трех слоях ЭМ данных (60 фрагментов). Мы использовали оптимизатор Adam с меняющейся скоростью обучения от 1×10^{-4} до 1×10^{-7} . Изменение скорости обучения начинается с 40-й эпохи и затем происходит уменьшение в 10 раз каждые 20 эпох.

Эксперимент 1. Пять классов сегментации — митохондрии, мембраны, PSD, аксоны и везикулы. Количество эпох равно 100.

Эксперимент 2. Шесть классов сегментации — митохондрии, границы митохондрий, мембраны, PSD, аксоны и везикулы. Количество эпох равно 100. Еще один добавлен класс границ митохондрий.

Эксперимент 3. Один класс сегментации — митохондрии. Количество эпох 100.

Результаты работы обученных моделей представлены в таблице 2. Точность мультиклассовой сегментации лишь немного уступает бинарной сегментации. Границы митохондрий являются подклассом митохондрий, а дополнительное усиление границ улучшает результаты сегментации объединенного класса митохондрий. Модели обучались на несбалансированных классах, так как размеры органелл и их встречаемость отличаются в десятки раз.

4. Заключение

В ходе работы был разработан алгоритм автоматической генерации синтетического набора данных электронной микроскопии. Предлагаемый подход позволяет создавать синтетические наборы данных любого размера, а также параметризовать алгоритм генерации для имитации данных с различных устройств регистрации изображений.

Как видно из таблицы 2, синтетическая генерация аксонов дает прирост как для полностью синтетических, так и для смешанных данных. Результаты обучения сильно зависят от того, насколько похожие структуры были представлены в обучающих и тестовых выборках. Митохондрии имеют высокую встречаемость во всех наборах данных, и качество их сегментации снижается из-за несовершенной генерации синтетических данных. Использование синтетических данных для редко встречающегося аксона выводит сегментацию на новый качественный уровень.

Синтетический набор данных, который был параметризован для схожести с реальным набором данных EPFL, позволяет обучать нейронную сеть с результатами метрики Dice на тестовом наборе данных от 0.45 до 0.909 для разных классов. Синтетические данные необходимо улучшить для повышения схожести с реальными данными. Особенно необходимо добавить артефакты ЭМ изображений, такие как резкий шум, размытые границы, смазанные везикулы, размытие внутренностей митохондрий. Следует приложить дополнительные усилия для повышения реалистичности изображения.

Таблица 2 – Значения метрики Dice для исходного набора данных (ORG), набора данных, обогащенного синтетическими изображениями (MIX), и синтетического набора данных (SYN)

Класс	6 классов			5 классов			Бинарная классификация		
	ORG	MIX	SYN	ORG	MIX	SYN	ORG	MIX	SYN
Митохондрии	0.952	0.948	0.818	0.954	0.950	0.746	0.954	0.942	0.868
Границы митохондрий	0.797	0.799	0.583	-	-	-	-	-	-
Мембраны	0.839	0.837	0.584	0.856	0.847	0.538	-	-	-
Постсинаптические уплотнения (PSD)	0.607	0.699	0.505	0.808	0.711	0.501	-	-	-
Везикулы	0.700	0.715	0.451	0.729	0.731	0.463	-	-	-
Аксоны	0.312	0.851	0.841	0.303	0.845	0.909	-	-	-
Среднее	0.701	0.808	0.633	0.730	0.817	0.631	-	-	-

5. Благодарности

Работа выполнена при поддержке программы «Приоритет 2030».

6. Список источников

- [1] T. Deerinck, E. Bushong, V. Lev-Ram, X. Shu, R. Tsien, M. Ellisman Enhancing serial block-face scanning electron microscopy to enable high resolution 3-d nanohistology of cells and tissues, *Microscopy and Microanalysis* 16 (2010) 1138–1139. doi:10.1017/S1431927610055170.
- [2] D.C. Ciresan, L.M. Gambardella, A. Giusti, J. Schmidhuber Deep neural networks segment neuronal membranes in electron microscopy images, in: *IN NIPS*. 2012. pp. 2852–2860.
- [3] A. Lucchi, K. Smith, R. Achanta, G. Knott, P. Fua Supervoxel-based segmentation of mitochondria in em image stacks with learned shape features. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 31 (2012) 474–486. doi:10.1109/TMI.2011.2171705.

- [4] M. Helmstaedter, P. P. Mitra Computational methods and challenges for large-scale circuit mapping, *Current Opinion in Neurobiology* 22 (2012) 162 – 169. doi:https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.11.010.
- [5] O. Ronneberger, P. Fischer, T. Brox U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation, 2015. arXiv:1505.04597.
- [6] M. Drozdal, E. Vorontsov, G. Chartrand, S. Kadoury, C. Pal The importance of skip connections in biomedical image segmentation, 2016. arXiv:1608.04117.
- [7] A.E. Fakhry, T. Zeng, S.Ji, Residual deconvolutional networks for brain electron microscopy image segmentation *IEEE Transactions on Medical Imaging* 36 (2017) 447–456.
- [8] C. Xiao, J. Liu, X. Chen, H. Han, C. Shu, Q. Xie, Deep contextual residual network for electron microscopy image segmentation in connectomics, in: 2018 IEEE 15th International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI 2018). 2018. pp. 378–381. doi:10.1109/ISBI.2018.8363597.
- [9] O. Çiçek, A. Abdulkadir, S.S. Lienkamp, T. Brox, O. Ronneberger 3d u-net: Learning dense volumetric segmentation from sparse annotation. 2016. arXiv:1606.06650.
- [10] F. Milletari, N. Navab, S.-A. Ahmadi V-net: Fully convolutional neural networks for volumetric medical image segmentation. 2016 Fourth International Conference on 3D Vision (3DV) (2016) 565–571.
- [11] K. Kamnitsas, C. Ledig, V. Newcombe, J. P. Simpson, A. D. Kane, D. Menon, D. Rueckert, B. Glocker Efficient multi-scale 3d cnn with fully connected crf for accurate brain lesion segmentation. *Medical Image Analysis* 36 (2017) 61–78.
- [12] W. Li, G. Wang, L. Fidon, S. Ourselin, M. J. Cardoso, T. Vercautere On the compactness, efficiency, and representation of 3d convolutional networks: Brain parcellation as a pretext task, in: M. Niethammer, M. Styner, S. Aylward, H. Zhu, I. Oguz, P.-T. Yap, D. Shen (Eds.) *Information Processing in Medical Imaging*, Springer International Publishing, Cham. 2017. pp. 348–360.
- [13] Z. Zhang, C. Wu, S. Coleman, D. Kerr Dense-inception u-net for medical image segmentation. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 192 (2020) 105395. doi:10.1016/j.cmpb.2020.105395.
- [14] M. Mubashar, H. Ali, C. Grönlund, S. Azmat R2u++: a multiscale recurrent residual u-net with dense skip connections for medical image segmentation. *Neural Computing and Applications* (2022) 1–17. doi:10.1007/s00521-022-07419-7.
- [15] Getmanskaya A.A., Sokolov. N.A., Turlapov. V.E. Multiclass u-net segmentation of brain electron microscopy data using original and semi-synthetic training datasets, *Programming and Computer Software* 48 (2022) 164–171. doi:10.1134/S0361768822030057.
- [16] C. Fend, A. Moghiseh, C. Redenbach, K. Schladitz Reconstruction of highly porous structures from FIB-SEM using a deep neural network trained on synthetic images. *J Microsc* 281 (2020) 16–27.
- [17] I. Arganda-Carreras, S.C. Turaga, D.R. Berger, Crowdsourcing the creation of image segmentation algorithms for connectomics. *Frontiers in Neuroanatomy* 9 (2015) 1–13. doi:10.3389/fnana.2015.00142.
- [18] N. Kasthuri, K. Hayworth, D. R. Berger, R. Schalek, J. Conchello, S. Knowles-Barley, D. Lee, A. Vázquez-Reina, V. Kaynig, T. Jones, M. Roberts, J. L. Morgan, J. Tapia, H. Seung, W. R. G. Roncal, J. Vogelstein, R. Burns, D. Sussman, C. Priebe, H. Pfister, J. Lichtman Saturated reconstruction of a volume of neocortex. *Cell* 162 (2015) 648–661.
- [19] M. Žerovnik Mekuč, C. Bohak, S. Hudoklin, B. H. Kim, R. Romih, M. Y. Kim, M. Marolt Automatic segmentation of mitochondria and endolysosomes in volumetric electron microscopy data. *Computers in Biology and Medicine* 119 (2020) 103693. doi:10.1016/j.compbiomed.2020.103693.