

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 528.854
<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-315-321>

Поступило в редакцию 20.06.2023
Received 20.06.2023

А. А. Денисов^{1,2}, А. В. Никифоров¹, А. В. Богданова¹, С. Г. Пашкевич¹,
член-корреспондент Н. С. Сердюченко¹

¹Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь
²Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

АНАЛИЗ ИЗОБРАЖЕНИЙ КЛЕТОК КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА *IN VITRO* С ПРИМЕНЕНИЕМ МЕТОДА ГЛУБОКОГО ОБУЧЕНИЯ

Аннотация. Представлен метод анализа изображений культивируемых клеток коры головного мозга для количественной оценки параметров развития биологических нейронных сетей с применением средств машинного обучения. Разработаны программные модули сегментации изображений на клетки, кластеры и нейриты с применением нейросетевой модели и метода глубокого обучения, сформирован обучающий набор изображений культивируемых нейронов и соответствующих масок сегментации. Результаты апробированы при анализе развития сети культивируемых нейронов *in vitro* на основе подсчета длины нейритов на различных стадиях роста культуры. Разработанные методики мониторинга процессов формирования биологических нейронных сетей на основе анализа роста нейронов в различных условиях и на различных субстратах предоставляют возможность контроля процессов дифференцировки стволовых клеток в нейрогенном направлении. Результаты могут применяться для мониторинга формирования органоидов в биоинженерных приложениях, а также при моделировании процессов регенерации нервной ткани.

Ключевые слова: биологические нейронные сети, сегментация изображений, глубокое обучение

Для цитирования. Анализ изображений клеток коры головного мозга *in vitro* с применением метода глубокого обучения / А. А. Денисов [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2023. – Т. 67, № 4. – С. 315–321. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-315-321>

Andrey A. Denisov^{1,2}, Anton V. Nikiforov¹, Anastasiya V. Bogdanova¹,
Svetlana G. Pashkevich¹, Nikolai S. Serdyuchenko¹

¹Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
²Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

IMAGE ANALYSIS OF BRAIN CORTEX CELLS *IN VITRO* USING A DEEP LEARNING METHOD

Abstract. The article presents a method for analyzing images of cultured cortical cells for a quantitative analysis of the parameters of development of biological neural networks using machine learning approaches. We have developed software modules for segmentation of images into cells, clusters, and neurites using the neural network model and the deep learning method; a training set of images of cultivated neurons and corresponding segmentation masks have been generated. The results were validated by analyzing the development of cultivated neurons *in vitro* based on the length count of neurites at different growth stages of the culture. The developed methods for monitoring the processes of formation of biological neuronal networks based on the analysis of the neuronal growth under different conditions and on different substrates provide an opportunity to monitor the processes of stem cell differentiation in the neurogenic direction. The results can be used in monitoring the formation of organoids in bioengineering applications, as well as in modeling the processes of nerve tissue regeneration.

Keywords: biological neural networks, image segmentation, deep learning

For citation. Denisov A. A., Nikiforov A. V., Bogdanova A. V., Pashkevich S. G., Serdyuchenko N. S. Image analysis of brain cortex cells *in vitro* using deep learning method. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2023, vol. 67, no. 4, pp. 315–321 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2023-67-4-315-321>

Введение. Методика культивирования клеток нервной ткани *in vitro* находит широкое применение как при исследовании фундаментальных принципов функционирования нейронов и биологических нейронных сетей, так и при решении практических задач биомедицинского характера, для изучения механизмов формирования патологических состояний и разработки способов их коррекции [1–3]. Особенностью экспериментальной работы с культивируемыми нейронами

является необходимость анализа изображений не только тел клеток, но и сложной сети отростков – нейритов. При этом в зависимости от условий культивирования, типа субстрата и его покрытия нейроны могут развиваться как в виде однородной культуры, так и формировать кластеры клеток в случае слабой адгезии к поверхности. В настоящее время разработаны различные программные пакеты для количественного анализа изображений нейронов и нейритов, основанные на применении алгоритмов усиления контраста, устранения фона на основе адаптивного порога яркости [4; 5]. Особенностью большинства распространенных методов является то, что они рассчитаны на работу преимущественно с изображениями, полученными методами флуоресцентной микроскопии. По сравнению, например, со светлопольными или фазово-контрастными изображениями, иммунофлуоресцентное окрашивание позволяет увеличить соотношение сигнал/шум до уровня, необходимого для приемлемой работы таких классических алгоритмов анализа. Флуоресцентные методы, однако, сопряжены с рядом трудоемких этапов и могут оказывать существенное влияние на объект исследования. Так, фиксация клеток перед процессом окрашивания делает невозможным отслеживание роста нейритов с течением времени, а этапы промывки, следующие за процессом фиксации, могут вызвать открепление нейритов от подложки.

В связи с этим актуальной является разработка методов анализа изображений нейронов, полученных с помощью световой микроскопии, для изучения динамики живых развивающихся культур клеток. Перспективные подходы в данном направлении связаны с применением современных методов машинного обучения, в том числе методов глубокого обучения, которые пригодны для работы со сложными и зашумленными изображениями. Так, архитектура нейронной сети U-Net, реализующая метод глубокого обучения, показала хорошие результаты при обработке изображений биологических объектов [6]. Задачей обработки изображения в данном случае является его сегментация, разделение на области по отдельным признакам для определения и дальнейшего анализа исследуемых объектов.

Целью работы являлась разработка и реализация метода сегментации фазово-контрастных изображений культивируемых нейронов коры головного мозга крысы на нейроны, кластеры и нейриты с применением нейросетевых моделей глубокого обучения.

Материалы и методы исследования. *Материалы и методы клеточного культивирования.* Нейроны коры головного мозга крысы выделяли в соответствии с нормами этического обращения с экспериментальными животными и культивировали по методике на основе протокола, представленного в [7]. Диссоциированные нейроны высевали в чашки Петри Nunclon Nunc (Thermo Fisher Scientific, США) в культуральную среду Neurobasal с добавкой B-27 (Thermo Fisher Scientific, США) и помещали в CO₂-инкубатор при температуре 37 °С, где содержание CO₂ составляло 5 %. Изображения нейронов получали при помощи микроскопа Eclipse Ti2-U (Nikon, Япония) в режиме фазового контраста путем полуавтоматического сканирования заданной области.

Реализация методов обработки изображений. Для предварительной обработки полученных изображений применяли набор модулей собственной разработки на языке Python с использованием библиотеки OpenCV. С целью выравнивания параметров яркости и контрастности по полю сканирования полученный набор изображений объединяли и обрабатывали с применением гауссовой фильтрации и алгоритма CLAHE [8], после чего снова разбивали на отдельные изображения размером 2048 на 2048 пикселей.

Для решения задачи сегментации модифицировали модель MEDIAR-Former [9], разработанную на основе архитектуры MA-Net и учитывающую необходимость обработки гетерогенных наборов изображений, полученных методами оптической микроскопии. Структура MEDIAR-Former в общем виде состоит из блоков кодирования, декодирования и двух независимых выходных блоков распознавания клеток (CR) и разделения клеток (CD). Данная модель была модифицирована путем добавления блоков классификации клеток (CC) и сегментации нейритов (NS).

Блоки CR и CD решают задачу сегментации экземпляров объектов для различных классов, в данном случае это одиночные нейроны и клеточные кластеры. Блок CR отвечает за предсказание вероятности принадлежности выбранного пикселя к классу. Блок CD предсказывает направление градиентов яркости для дальнейшего уточнения формы и границ объектов и восстановления

точной формы. В дальнейшем данная форма уточняется при помощи бинарной маски принадлежности пикселя клетке, сформированной слоем CR. В качестве выходных данных после объединения результатов блоков CR и CD формируется маска с проиндексированными областями. Каждая такая область формирует отдельный экземпляр объекта.

Блок CC выполняет решение задачи семантической сегментации (соотнесение пикселей изображения определенному классу) полученных объектов на фон, нейроны и кластеры. Его результаты объединяются с выходной маской CR/CD, чем в итоге решается задача паноптической сегментации изображения на нейроны и кластеры. Блок NS реализует построение бинарной маски семантической сегментации нейритов.

Для блоков CR, CD, CC и NS использовали различные функции ошибок, аргументами в них являются входные и выходные паттерны, минимизация которых и является целью процесса обучения. В качестве функции ошибки CR использовали бинарную кросс-энтропию, для CD – среднеквадратическую ошибку. Для блока CC использовали комбинацию бинарной кросс-энтропии и суммы функции потерь Жаккара по каждому из классов на основе бинарных масок, полученных путем фильтрации по определенному значению. Для блока NS применяли произведение бинарной кросс-энтропии с матрицей весовых коэффициентов.

В качестве метрики результативности использовали F_1 -меру как среднее гармоническое между точностью и полнотой, где точность – отношение числа истинно-положительных результатов к сумме числа истинно-положительных и ложноположительных результатов, а полнота – отношение числа истинно-положительных результатов к сумме числа истинно-положительных и ложноотрицательных результатов.

Для расчета количественных показателей длины нейритов использовали операцию скелетонизации бинарной маски, в результате чего получали набор линий, для которых рассчитывали длину.

Для создания обучающих наборов данных выполняли ручную сегментацию данных на соответствующие классы. Для ручной сегментации нейронов и кластеров разработали модуль с графическим интерфейсом, реализующий алгоритмы водораздела и GrabCut [10] и позволяющий автоматически генерировать маску объекта на основе выбора нескольких точек, определяющих объект и фон, а также автоматически разделять расположенные рядом объекты. Для ручной сегментации и количественной характеристики нейритов использовали пакет SNT программы ImageJ [11].

В качестве начального состояния использовали набор весов, полученный в результате обучения с использованием ряда открытых баз данных изображений культивируемых клеток [10], для которого затем проводили дообучение с использованием полученных изображений культивируемых нейронов и соответствующих масок, полученных в результате ручного сегментирования. Для блока NS этап дообучения производили независимо от блоков CR/CD/CC.

Результаты и их обсуждение. На рис. 1, *a* представлен пример фазово-контрастного изображения клеток коры головного мозга крысы, полученного после одних суток культивирования. Клетки расположены равномерно по поверхности, многие нейроны имеют форму, близкую к шарообразной. Отдельные клетки вырастили одиночные короткие нейриты. На рис. 1, *b* показано изображение культуры клеток, полученное после семи суток культивирования. Нейроны приобрели более сложную форму, некоторые клетки обладают выраженными морфологическими характеристиками пирамидальных нейронов. Визуально площадь клеток увеличилась вследствие их адгезии к поверхности. На изображении появились клеточные агрегаты – кластеры за счет миграции клеток друг к другу. Нейроны сформировали развитую сеть нейритов, которые соединяют одиночные клетки и кластеры. На изображении также присутствуют фрагменты открепившихся от поверхности клеток.

На рис. 1, *c* показано соответствующее изображение маски, полученной в результате ручной сегментации изображения, представленного на рис. 1, *b*, а на рис 1, *d* – соответствующая маска, полученная в результате работы нейросетевого алгоритма.

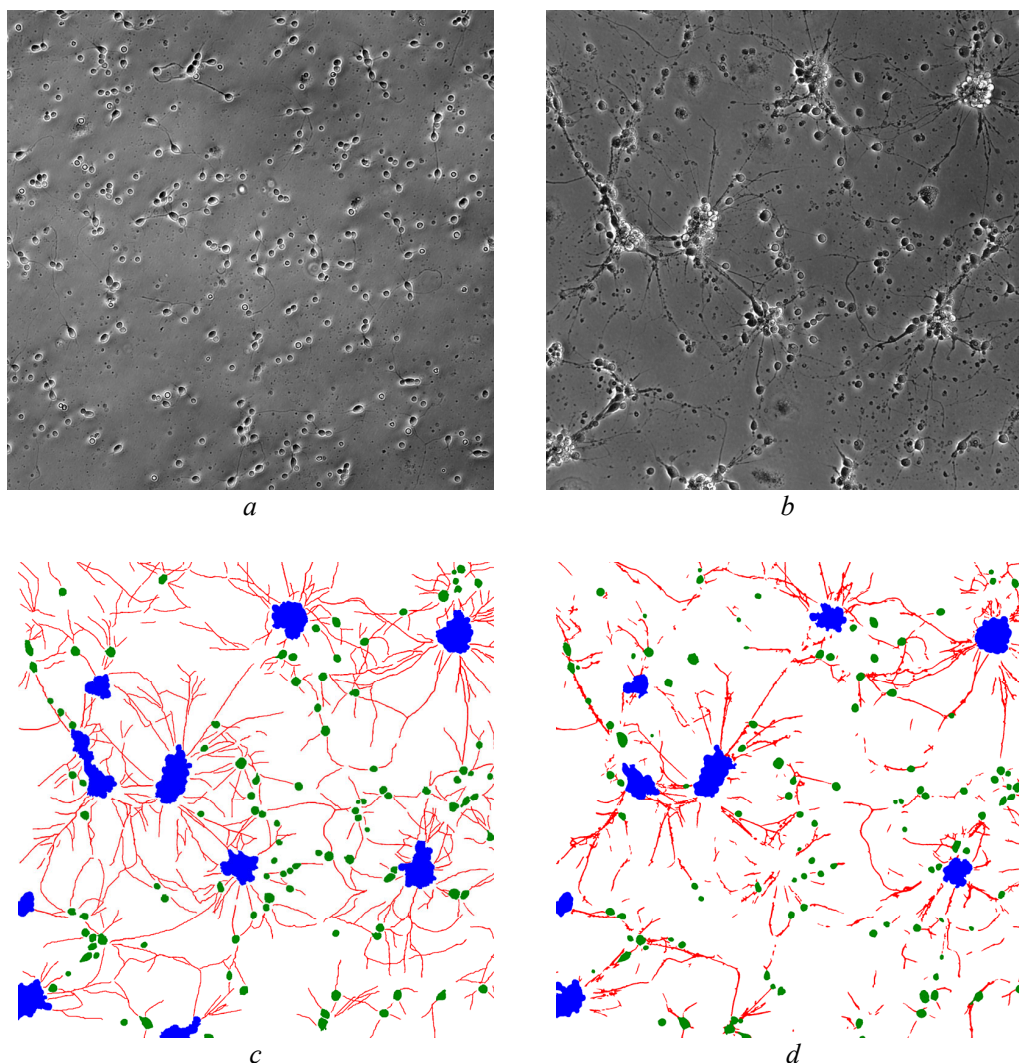


Рис. 1. Фазово-контрастное изображение нейронов коры головного мозга крысы, полученное после одних (а) и семи (b) суток культивирования. Маска для изображения нейронов после семи суток культивирования, полученная в результате ручной сегментации (c), и после нейросетевой сегментации (d) (зеленым цветом обозначены нейроны, синим – кластеры, красным – нейриты. Высота и ширина области на изображениях равны 747 мкм)

Fig. 1. Phase-contrast image of rat cerebral cortex neurons obtained after one day (a) and after seven days (b) of cultivation. Mask for neurons image after seven days of cultivation, obtained as a result of manual segmentation (c) and after neural network segmentation (d) (green indicates neurons, blue indicates clusters, and red indicates neurites. The height and width of the region in the images are equal to 747 μm)

При сегментации тестовой выборки были получены следующие значения F_1 -меры: для клеток и кластеров $F_1 = 0,688$, для нейритов $F_1 = 0,609$. Для исходной модели MEDIAR без дообучения при классификации клеток получено значение $F_1 = 0,215$. Таким образом, дообучение на полученных фотографиях культивируемых нейронов позволило существенно улучшить производительность сегментации нейронов.

Разработанный метод апробирован при характеристике развития сети культивируемых нейронов *in vitro* на основе подсчета длины нейритов на различных стадиях роста культуры. На рис. 2 представлен график зависимости рассчитанной суммарной длины нейритов на одном квадратном миллиметре поверхности при ручной и автоматической сегментации. Для данных на графике указаны средние значения и стандартные отклонения. Полученная зависимость для нейросетевой сегментации соответствует зависимости для ручной сегментации, но рассчитанные значения длины меньше, так как алгоритм распознает не все нейриты, определенные при ручной обработке.

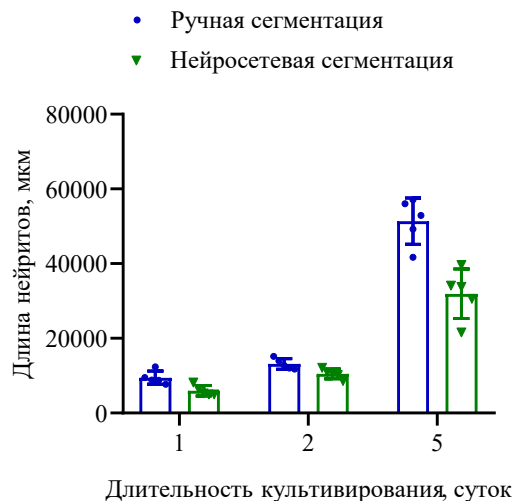


Рис. 2. Зависимость рассчитанной суммарной длины нейритов на 1 мм² поверхности от длительности культивирования при ручной и нейросетевой сегментации

Fig. 2. Dependence of the calculated total length of neurites per 1 mm² of the surface depending on the duration of cultivation with manual and neural network segmentation

Полученные значения F_1 -меры при распознавании нейритов сравнимы со значениями для распознавания клеток, что свидетельствует об эффективности работы выбранной нейросетевой модели при распознавании нейритов по сравнению с классическими методами, основанными на детекции с применением порога интенсивности. При обработке изображений наиболее часто возникали сложности с дискриминацией между трехмерными кластерами и группами расположенных рядом клеток, а также при распознавании наиболее тонких нейритов, так как даже небольшие вариации фокусировки объектива при получении фазово-контрастных фотографий могут существенно изменять вид тонких объектов. Для повышения эффективности распознавания будет проводиться дальнейшее увеличение базы данных изображений культивируемых нейронов, используемых для обучения нейронной сети, а также модификация архитектуры для улучшения работы с протяженными объектами. Дальнейшее развитие представленных средств анализа также может быть направлено на разделение уже распознанных клеток на классы по морфологическим признакам, например, нейроны или глиальные клетки, при формировании соответствующей базы данных изображений. На основе получаемых в результате сегментации масок возможно проведение подсчета количества клеток на подложке, степени их адгезии к субстрату, морфологического исследования арборизации нейритов [12] и других видов анализа.

Культивирование клеток мозга *in vitro* является сложной методикой с тщательным контролем на различных этапах, поскольку нейроны требовательны и чувствительны к условиям культивирования. Тенденцию к образованию кластеров и параметры арборизации нейритов можно изменять путем нанесения дополнительных адгезивных покрытий на субстрат культивирования. При этом в научной литературе при описании особенностей методик культивирования нейронов часто встречаются лишь качественные характеристики особенностей формирования биологической нейронной сети. Это связано прежде всего с трудоемкостью количественного анализа роста нейритного дерева без высокопроизводительных средств автоматизации. Для используемых в работе изображений первичной культуры клеток коры головного мозга крысы, в отличие от фотографий перевиваемых линейных культур клеток, характерно наличие объектов с разнородной морфологией – клеток различных типов, сети нейритов, дебриса в виде остаточных фрагментов после этапов диспергирования нервной ткани, что в целом делает автоматизацию сегментации таких изображений трудновыполнимой задачей с применением классических методов на основе пороговой детекции объектов. В связи с этим полученные результаты могут применяться при апробации новых экспериментальных методик выращивания нейронов, в том числе на новых типах субстратов, для количественного мониторинга прикрепления и адгезии клеток, роста нейритов.

Примененные в данной работе нейросетевые подходы к обработке изображений требуют предварительного этапа подготовки – обучения на подготовленных и специально размеченных наборах данных, представляющих из себя выборку изображений, на которых выделены и классифицированы требуемые объекты. При этом, для них характерна высокая гибкость и адаптивность к изменяющимся характеристикам изображения без необходимости дополнительного применения ручной подстройки параметров для отдельных изображений. Особенностью представленного в работе подхода на основе метода глубокого обучения является возможность организации процесса анализа больших объемов данных с минимизацией этапов ручной обработки и настройки.

Разработанные методики могут применяться и для анализа изображений, получаемых при проведении других типов экспериментов с культивируемыми клетками, например, при исследовании процессов дифференцировки стволовых клеток в нейрональном направлении, при разработке биоинженерных конструкций для моделирования процессов регенерации нервной ткани [13]. Полученные результаты применимы дополнительно к стандартным процедурам фенотипирования, прижизненно, без ухудшения условий культивирования для стандартизации популяции клеток одного типа с воспроизводимым клеточным составом, после изъятия организма биологического материала с последующим культивированием клеток вне организма для создания лекарственных препаратов на основе соматических клеток. Возможности детекции классов клеток и клеточных кластеров могут быть использованы при работе с экспериментальными системами на основе органоидов – «минимозг», для моделирования процессов развития нервной системы [14; 15].

Благодарности. Авторы выражают благодарность А. А. Калиновскому (компания OneSoil) за помощь при разработке нейросетевой модели.

Acknowledgements. The authors are grateful to A. A. Kalinovsky (OneSoil) for help in developing the neural network model.

Список использованных источников

1. The application of *in vitro*-derived human neurons in neurodegenerative disease modeling / G. X. D'Souza [et al.] // *J. Neurosci. Res.* – 2021. – Vol. 99, N 1. – P. 124–140. <https://doi.org/10.1002/jnr.24615>
2. Pacitti, D. Organs to Cells and Cells to Organoids: The Evolution of *in vitro* Central Nervous System Modelling / D. Pacitti, R. Privolizzi, B. E. Bax // *Front. Cell. Neurosci.* – 2019. – Vol. 13. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00129>
3. Advances in *ex vivo* models and lab-on-a-chip devices for neural tissue engineering / S. Mobini [et al.] // *Biomaterials.* – 2019. – Vol. 198. – P. 146–166. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.05.012>
4. A rapid and accurate method to quantify neurite outgrowth from cell and tissue cultures: Two image analytic approaches using adaptive thresholds or machine learning / A. Ossinger [et al.] // *J. Neurosci. Methods.* – 2020. – Vol. 331. – Art. 108522. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2019.108522>
5. NeuroTES. Monitoring neurite changes through transfer entropy and semantic segmentation in bright-field time-lapse microscopy / A. Mencattini [et al.] // *Patterns.* – 2021. – Vol. 2, N 6. – Art. 100261. <https://doi.org/10.1016/j.patter.2021.100261>
6. U-Net and its Variants for Medical Image Segmentation: A Review of Theory and Applications / N. Siddique [et al.] // *IEEE Access.* – 2021. – Vol. 9. – P. 82031–82057. <https://doi.org/10.1109/access.2021.3086020>
7. Facci, L. Culture of rodent cortical and hippocampal neurons / L. Facci, S. D. Skaper // *Neurotrophic Factors.* – 2012. – Vol. 846. – P. 49–56. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-536-7_5
8. Reza, A. M. Realization of the Contrast Limited Adaptive Histogram Equalization (CLAHE) for Real-Time Image Enhancement / A. M. Reza // *J. VLSI Signal Process. Syst. Signal Image Video Technol.* – 2004. – Vol. 38, N 1. – P. 35–44. <https://doi.org/10.1023/b:vlsi.0000028532.53893.82>
9. MEDIAR: Harmony of Data-Centric and Model-Centric for Multi-Modality Microscopy / G. Lee [et al.] // *arXiv:2212.03465.* – 2022. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2212.03465>
10. Rother, C. “GrabCut”: interactive foreground extraction using iterated graph cuts / C. Rother, V. Kolmogorov, A. Blake // *ACM Trans. Graph.* – 2004. – Vol. 23, N 3. – P. 309–314. <https://doi.org/10.1145/1015706.1015720>
11. SNT: a unifying toolbox for quantification of neuronal anatomy / C. Arshadi [et al.] // *Nat. Methods.* – 2021. – Vol. 18, N 4. – P. 374–377. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01105-7>
12. Sholl analysis: a quantitative comparison of semi-automated methods / K. E. Binley [et al.] // *J. Neurosci. Methods.* – 2014. – Vol. 225. – P. 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2014.01.017>
13. Stukel, J. M. The interplay of peptide affinity and scaffold stiffness on neuronal differentiation of neural stem cells / J. M. Stukel, R. K. Willits // *Biomed. Mater.* – 2018. – Vol. 13, N 2. – Art. 024102. <https://doi.org/10.1088/1748-605x/aa9a4b>
14. Human brain organoid-on-a-chip to model prenatal nicotine exposure / Y. Wang [et al.] // *Lab Chip.* – 2018. – Vol. 18, N 6. – P. 851–860. <https://doi.org/10.1039/c7lc01084b>
15. Costamagna, G. Advancing Drug Discovery for Neurological Disorders Using iPSC-Derived Neural Organoids / G. Costamagna, G. P. Comi, S. Corti // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22, N 5. – Art. 2659. <https://doi.org/10.3390/ijms22052659>

References

1. D'Souza G. X., Rose S. E., Knupp A., Nicholson D. A., Keene C. D., Young J. E. The application of *in vitro*-derived human neurons in neurodegenerative disease modeling. *Journal of Neuroscience Research*, 2021, vol. 99, no. 1, pp. 124–140. <https://doi.org/10.1002/jnr.24615>
2. Pacitti D., Privolizzi R., Vax B. E. Organs to Cells and Cells to Organoids: The Evolution of *in vitro* Central Nervous System Modelling. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 2019, vol. 13. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00129>
3. Mobini S., Hye Y. S., McCrary M. W., Schmidt C. E. Advances in *ex vivo* models and lab-on-a-chip devices for neural tissue engineering. *Biomaterials*, 2019, vol. 198, pp. 146–166. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.05.012>
4. Ossinger A., Bajic A., Pan S., Andersson B., Ranefall P., Hailer N. P., Schizas N. A rapid and accurate method to quantify neurite outgrowth from cell and tissue cultures: Two image analytic approaches using adaptive thresholds or machine learning. *Journal of Neuroscience Methods*, 2020, vol. 331, art. 108522. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2019.108522>
5. Mencattini A., Spalloni A., Casti P., Comes M. C., Giuseppe D. D., Antonelli G., D'Orazio M., Filippi J., Corsi F., Isambert H., Di Natale C., Longone P., Martinelli E. NeuroTES. Monitoring neurite changes through transfer entropy and semantic segmentation in bright-field time-lapse microscopy. *Patterns*, 2021, vol. 2, no. 6, art. 100261. <https://doi.org/10.1016/j.patter.2021.100261>
6. Siddique N., Paheding S., Elkin C. P., Devabhaktuni V. U-Net and its Variants for Medical Image Segmentation: A Review of Theory and Applications. *IEEE Access*, 2021, vol. 9, pp. 82031–82057. <https://doi.org/10.1109/access.2021.3086020>
7. Facci L., Skaper S. D. Culture of rodent cortical and hippocampal neurons. *Neurotrophic Factors*, 2012, vol. 846, pp. 49–56. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-536-7_5
8. Reza A. M. Realization of the Contrast Limited Adaptive Histogram Equalization (CLAHE) for Real-Time Image Enhancement. *Journal of VLSI Signal Processing-Systems for Signal, Image, and Video Technology*, 2004, vol. 38, no. 1, pp. 35–44. <https://doi.org/10.1023/b:vlsi.0000028532.53893.82>
9. Lee G., Kim S., Kim J., Yun S.-Y. MEDIAR: Harmony of Data-Centric and Model-Centric for Multi-Modality Microscopy. *arXiv:2212.03465*, 2022. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2212.03465>
10. Rother C., Kolmogorov V., Blake A. “GrabCut”: interactive foreground extraction using iterated graph cuts. *ACM Transactions on Graphics*, 2004, vol. 23, no. 3, pp. 309–314. <https://doi.org/10.1145/1015706.1015720>
11. Arshadi C., Günther U., Eddison M., Harrington K. I. S., Ferreira T. A. SNT: a unifying toolbox for quantification of neuronal anatomy. *Nature Methods*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 374–377. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01105-7>
12. Binley K. E., Ng W. S., Tribble J. R., Song B., Morgan J. E. Sholl analysis: a quantitative comparison of semi-automated methods. *Journal of Neuroscience Method*, 2014, vol. 225, pp. 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2014.01.017>
13. Stukel J. M., Willits R. K. The interplay of peptide affinity and scaffold stiffness on neuronal differentiation of neural stem cells. *Biomedical Materials*, 2018, vol. 13, no. 2, art. 024102. <https://doi.org/10.1088/1748-605x/aa9a4b>
14. Wang Y., Wang L., Zhu Y., Qin J. Human brain organoid-on-a-chip to model prenatal nicotine exposure. *Lab on a Chip*, 2018, vol. 18, no. 6, pp. 851–860. <https://doi.org/10.1039/c7lc01084b>
15. Costamagna G., Comi G. P., Corti S. Advancing Drug Discovery for Neurological Disorders Using iPSC-Derived Neural Organoids. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, vol. 22, no. 5, art. 2659. <https://doi.org/10.3390/ijms22052659>

Информация об авторах

Денисов Андрей Анатольевич – канд. биол. наук, заведующий лабораторией. Белорусский государственный университет (пр. Независимости, 4, 220030, Минск, Республика Беларусь). E-mail: an.denisov@gmail.com.

Никифоров Антон Владимирович – стажер мл. науч. сотрудника. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: sky92033@live.com.

Богданова Анастасия Валерьевна – мл. науч. сотрудник. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: bognasty23@mail.ru.

Пашкевич Светлана Георгиевна – канд. биол. наук, доцент, заведующий лабораторией. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: skupasht@mail.ru.

Сердюченко Николай Сергеевич – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор. Институт физиологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: temporo@mail.ru.

Information about the authors

Denisov Andrey A. – Ph. D. (Biology), Head of the Laboratory. Belarusian State University (4, Nezavisimosti Ave., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: an.denisov@gmail.com.

Nikiforov Anton V. – Trainee Junior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sky92033@live.com.

Bahdanava Anastasiya V. – Junior Researcher. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bognasty23@mail.ru.

Pashkevich Svetlana G. – Ph. D. (Biology), Associate Professor, Head of the Laboratory. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: skupasht@mail.ru.

Serdyuchenko Nikolai S. – Corresponding Member, D. Sc. (Medicine), Professor. Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (28, Akademicheskaya str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: temporo@mail.ru.