

УДК [611.018.51+615.47]:612.086.2

КЛАССИФИКАЦИЯ ЭРИТРОЦИТОВ С ПОМОЩЬЮ СПЕКТРАЛЬНЫХ ОЦЕНОК АСМ-ИЗОБРАЖЕНИЙ ИХ ПОВЕРХНОСТЕЙ



И.Е. Стародубцев

Аспирант БГУ, инженер-программист ИВА-Gomel-Park



Ю.С. Харин

Директор Научно-исследовательского института прикладных проблем математики и информатики, заведующий кафедрой математического моделирования и анализа данных ФПМИ, доктор физико-математических наук, профессор, член-корреспондент НАН Беларуси

*Научно-исследовательский институт прикладных проблем математики и информатики
Белорусского государственного университета, Республика Беларусь
Белорусский государственный университет, Республика Беларусь
ООО «ИВА-Гомель-Парк», Республика Беларусь
E-mail: istarodubtsev.science@gmail.com*

Аннотация. Атомно-силовая микроскопия (АСМ) – это перспективный и уже широко применяемый метод в медико-биологических исследованиях. В связи с этим возникает необходимость разработки новых методов, алгоритмов и программных средств для анализа АСМ-изображений поверхности биологических клеток. В работе предложен метод классификации АСМ-изображений поверхностей эритроцитов с помощью статистической оценки спектральных плотностей, получаемых дискретным преобразованием Фурье. По каждой линии сканирования исходного АСМ-изображения строится периодограмма, которая сглаживается окном Даниэля для получения оценки спектральной плотности. Затем вычисляются средние значения оценок спектральных плотностей для каждой частоты по всем линиям сканирования. Диапазон частот усредненных оценок разбивается на два отрезка и для каждого отрезка рассчитывается среднее значение спектральной плотности на нем (C_1 и C_2 соответственно). Полученной паре значений в двумерном пространстве соответствует точка (C_1 , C_2). В работе проанализированы множества таких точек для АСМ-изображений поверхностей разных форм эритроцитов (дискоцитов, сфероцитов, кодоцитов и эхиноцитов). Предложенный способ анализа АСМ-изображений поверхностей эритроцитов позволил получить статистически значимые различия параметров спектральных оценок для разных форм эритроцитов, пациентов с врожденными нарушениями структуры цитоскелета (наследственный сфероцитоз).

Ключевые слова: АСМ-изображения, дискретное преобразование Фурье, спектральная плотность, статистическая классификация, эритроциты.

Введение. В настоящее время атомно-силовая микроскопия (АСМ) уже достаточно широко применяется в медико-биологических исследованиях [1-2]. АСМ-изображение представляет собой массив точек в трехмерном пространстве (x, y, z), описывающих либо карту рельефа поверхности (режим topography), либо карту локальных физико-механических свойств - латеральных сил (режим torsion) [3].

АСМ-изображение размером $N \times N$ точек представляет собой совокупность из N двумерных массивов (x, z) по N точек в каждом, расположенных на расстоянии шага сканирования вдоль оси y . Каждый массив (x, z) можно рассмотреть, как реализацию случайного процесса

[4-6], для которого можно применить дискретное преобразование Фурье [7-8]. На основе выборочного спектра $X(\omega_k)$ вычисляется периодограмма $R(\omega_k) = |X(\omega_k)|^2$, сглаживается с помощью окна Даниэля размером m (в работе использовалось $m=5$) и получают сглаженные оценки спектральной плотности $R_m(\omega_k)$ [9].

Для каждой частоты ω_k вычисляется среднее значение спектральной плотности по N массивам данных – $\overline{R_m(\omega_k)}$. Для сравнения АСМ-изображений различных биологических клеток частотная область кривой $\overline{R_m(\omega_k)}$ разбивается на 2 отрезка: $[\omega_1, \omega_t]$ и $[\omega_{t+1}, \omega_N]$, где t

– номер разграничивающей частоты на кривой $\overline{R_m(\omega_k)}$ (в работе использовался $t=19$). Для указанных отрезков находятся средние значения C_1 и C_2 , которые затем используются в качестве информативных признаков АСМ-изображений [10].

Материалы и методы. В работе анализировались записанные в режиме сканирования torsion (карта латеральных сил) АСМ-изображения поверхностей эритроцитов (дискоцитов, сфероцитов, кодоцитов и эхиноцитов), полученных от пациентов с наследственным сфероцитозом. Размер АСМ-изображений – 2,5 мкм×2,5 мкм и разрешение 256×256 пикселей ($N=256$).

Оценки спектральных плотностей были рассчитаны с помощью ПО, разработанного на языке C++ с использованием библиотеки fftw. Графики спектральных оценок построены и проанализированы в MS Excel.

Результаты. На рисунке 1 проиллюстрированы различия спектральных оценок, усредненных по всей выборке для каждой формы эритроцитов. На этом рисунке представлена также граница разделения t (для информативных признаков C_1 и C_2).

Проведен статистический анализ с использованием критерия Фишера и критерия Стьюдента информативных признаков C_1/C_2 для выборок дискоцитов, сфероцитов, кодоцитов и эхиноцитов. Установлено статистически значимое различие параметров C_1/C_2 для дискоцитов и остальных форм эритроцитов ($p<0.05$) пациентов с наследственным сфероцитозом, что свидетельствует о различии структуры цитоскелета для этих форм клеток.

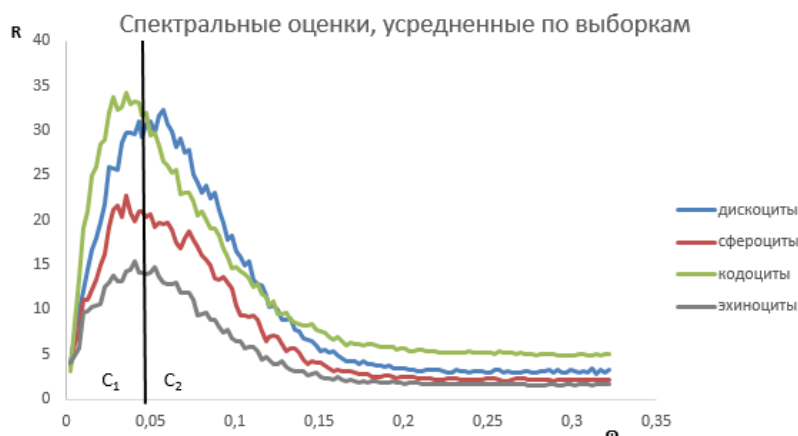


Рисунок 1. Спектральные оценки, усредненные по выборкам для дискоцитов, сфероцитов, кодоцитов и эхиноцитов

Заключение. Разработанный способ анализа АСМ-изображений поверхностей эритроцитов позволяет получить статистически значимые различия параметров спектральных оценок для разных форм эритроцитов пациентов с врожденными нарушениями структуры цитоскелета (наследственный сфероцитоз).

Список литературы

- [1]. Study of the mechanical properties of single cells as biocomposites by atomic force microscopy / M. Starodubseva, S. Chizhik, N. Yegorenkov, I. Nikitina, E. Drozd // *Microscopy: science, technology, applications and education* : in 3 vol. / eds. : A.O Mendez-Vilas, J. D. Alvarez.–Badajoz, Spain: Formatex Research Center, 2010. – Vol. 1. – P. 740-747.
- [2]. Starodubtseva, M.N. Atomic force microscopic observation of peroxy-nitrite-induced erythrocyte cytoskeleton reorganization / M.N. Starodubtseva, T.G. Kuznetsova, S.A. Chizhik, N.I. Yegorenkov // *Micron*. – 2007. – Vol. 38, № 8. – P. 782-786.
- [3]. Starodubtsev, I.E. Fractal dimension as a characteristic of biological cell AFM images // *Computer Data Analysis and Modeling: Theoretical and Applied Stochastics: Proceedings of the Eleventh International Conference (September 6-10, 2016, Minsk)*. –Minsk, 2016. – P. 304-307.
- [4]. Хусу, А.П. Шероховатость поверхностей (теоретико-вероятностный подход) / А.П. Хусу, Ю.Р. Виттенберг, В.А. Пальмов. – М.: Наука, 1975. – С. 344.
- [5]. Линник, Ю.В. Математически-статистическое описание профиля поверхности при шлифовании / Ю.В. Линник, А.П. Хусу // *Инженер. Сборник АН СССР*. – М. Академиздат, 1954. – С. 432.
- [6]. Найак, П.Р. Применение модели случайного поля для исследования случайных поверхностей / П.Р. Найак // *Проблемы трения и смазки*. – 1971. – №3. – С. 85-89.
- [7]. Харин Ю. С. Теория вероятностей, математическая и прикладная статистика: учебник / Ю. С. Харин, Н. М. Зуев, Е. Е. Жук. - Минск: БГУ, 2011. – 463 с.
- [8]. Julius O. Smith III. *Mathematics of Discrete Fourier Transformation (DFT) with audio applications*. – W3K Publishing, 2007. - 322 p.
- [9]. Daniell, P.J., Discussion on the paper by M. S. Bartlett “On the theoretical specification and sampling properties of autocorrelated time-series”. – *Suppl. J. R. Stat. Soc.* 8(1), 1946. P. 88–90.
- [10]. Стародубцев И. Е. Метод анализа АСМ-изображений поверхностей биологических клеток на основе спектральных плотностей / И.Е. Стародубцев, Ю.С. Харин // *Молодежь в науке – 2017: сб. материалов Междунар. конф. Молодых ученых (Минск, 30 окт. – 2 нояб. 2017 г.)*. В 2 ч. Ч. 2. Гуманитарные, медицинские, физико-математические, физико-технические, химические науки / Нац. акад. наук Беларуси, Совет молодых ученых ; редкол.: В. Г. Гусаков (гл. ред.) [и др.]. – Минск : Беларуская навука, 2018. – С. 216-219.

CLASSIFICATION OF ERYTHROCYTES BY THE SPECTRAL ESTIMATES OF THEIR SURFACES' AFM-IMAGES

I.E.STARODUBTSEV

*Postgraduate student of the
BSU, software engineer IBA-
Gomel-Park*

Y.S. KHARIN,

*Doctor of Physical and Mathematical Sciences
Director of the Research Institute of Applied Mathematics and Informatics Problems, Head of the Department of Mathematical Modeling and Analysis of Data of the FPMI, Professor, Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus*

Research Institute for Applied Problems of Mathematics and Informatics of the Belarusian State University, Republic of Belarus

Belarusian State University, Republic of Belarus

IBA-Gomel-Park, Republic of Belarus

E-mail: istarodubtsev.science@gmail.com

Abstract. At present, atomic force microscopy (AFM) is widely used in biomedical researches. In this connection, there arose the need to develop new methods, algorithms and software for analyzing cell surface's AFM-images. We proposed a method for classifying erythrocyte (blood cells) surfaces' AFM-images using statistical estimation of spectral densities obtained by discrete Fourier transform. A periodogram is calculated for each scan line of the initial AFM-image. They were smoothed by the Daniel window to obtain the estimations of spectral density. Then we calculated the average values of spectral density estimations for each frequency over all scan lines. The frequency range for the average estimates

is divided into two segments and for each segment the average value of the spectral density is calculated (C1 and C2). In two-dimensional space the resulting pair of values corresponds to the point (C1, C2). We analyzed sets of such points for surfaces' AFM-images of various erythrocytes' forms (discocytes, spherocytes, codons and echinocytes). The proposed method for analyzing erythrocyte surfaces' AFM-images allowed to obtain statistically significant differences in the parameters of spectral estimates for various erythrocytes' forms of patients with congenital disorders of cytoskeleton structure (hereditary spherocytosis).

Key words: AFM images, discrete Fourier transform, spectral density, erythrocytes.