

СПЕКТРАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АСМ-ИЗОБРАЖЕНИЙ БИОЛОГИЧЕСКИХ КЛЕТОК



И.Е. Стародубцев
Аспирант БГУ



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

Белорусский государственный университет, Республика Беларусь
E-mail: istarodubtsev.science@gmail.com

Abstract. Spectral analysis that is a widely used method for studying big data arrays was used to analyze AFM images of biological cells such as epithelial cells line A549 (cancerous cells) and fibroblasts. Each AFM image with the resolution of 256×256 pixels was divided into 256 sections (scanning line) and for each section the periodogram was calculated. Using the obtained set of periodograms three dimensional map of spectral density estimations was formed and studied. Distinctive features of the three dimensional map of spectral density estimations for AFM images of the studied biological cells have been analyzed depending on scanning modes and temperature.

Введение. АСМ-изображение (изображение, полученное с помощью сканирующего атомно-силового микроскопа, АСМ) является массивом точек в трехмерном пространстве (x, y, z) , описывающих либо карту рельефа поверхности (режим topography), либо карту локальных физико-механических свойств (режим torsion).

АСМ-изображение размером $N \times N$ пикселей можно рассматривать как совокупность из N двумерных массивов (x, z) по N точек в каждом, расположенных на расстоянии шага сканирования вдоль оси y .

Для каждого двумерного массива (x, z) может быть применено дискретное преобразование Фурье [1, 2]:

$$X(\omega_k) = \sum_{n=0}^{N-1} (z_n - \bar{z}) e^{-j \frac{2\pi kn}{N}}, k = 1, \dots, N - 1, \quad (1)$$

где \bar{z} — выборочное среднее по оси z , ω_k — частота, $\omega_k = 2\pi \frac{k}{NL}$, L — максимальное значение по оси x . Затем построена периодограмма (состоятельная, но смещенная оценка спектральной плотности):

$$R(\omega_k) = |X(\omega_k)|^2, \quad (2)$$

которая позволяет построить сглаженную, асимптотически несмещенную и состоятельную оценку спектральной плотности.

Совокупность оценок спектральных плотностей $N \times N$ может быть рассмотрена как поверхность (карта), описывающая изменение спектральных характеристик АСМ-изображения вдоль оси y .

Материалы и методы. В работе был проведен анализ АСМ-изображений поверхностей биологических клеток (фибробластов и эпителиальных клеток рака лёгкого (A549) человека) в зависимости от режима сканирования и температуры сканирования образцов. Изображения размером 2.5 мкм×2.5 мкм и разрешением 256×256 пикселей, были получены в режимах сканирования topography (рельеф) и torsion (карта латеральных сил) при прямом и обратном направлениях сканирования при температурах 25°C, 50°C и 70°C для клеток A549 и 30°C и 70°C для фибробластов.

Карты спектральных плотностей были рассчитаны с помощью ПО, разработанного на языке C++ с использованием библиотеки fftw. Графики карт построены в средах Mathcad и Excel.

Результаты. На рисунке 1 видны различия карт спектральных плотностей АСМ-изображений поверхностей клеток A549 в режимах topography и torsion. «Ребра», проявляющиеся на графиках, являются, вероятно, следствием дефектов исходных АСМ-изображений (рисунок 1.1). Для АСМ-изображений поверхностей клеток A549 и фибробластов были рассчитаны средние значения оценок спектральных плотностей и построены их графики (рисунок 2). При увеличении температуры абсолютные значения оценок спектральных плотностей для клеток A549 и фибробластов в режиме torsion увеличиваются (рисунки 1.2, 1.4, 2). На исходных АСМ-изображениях клеточной поверхности в режиме topography присутствует более гладкая локальная область, и она отчетливо проявляется на карте спектральных плотностей в виде области более низких значений (рисунки 1.1, 1.3, 2).

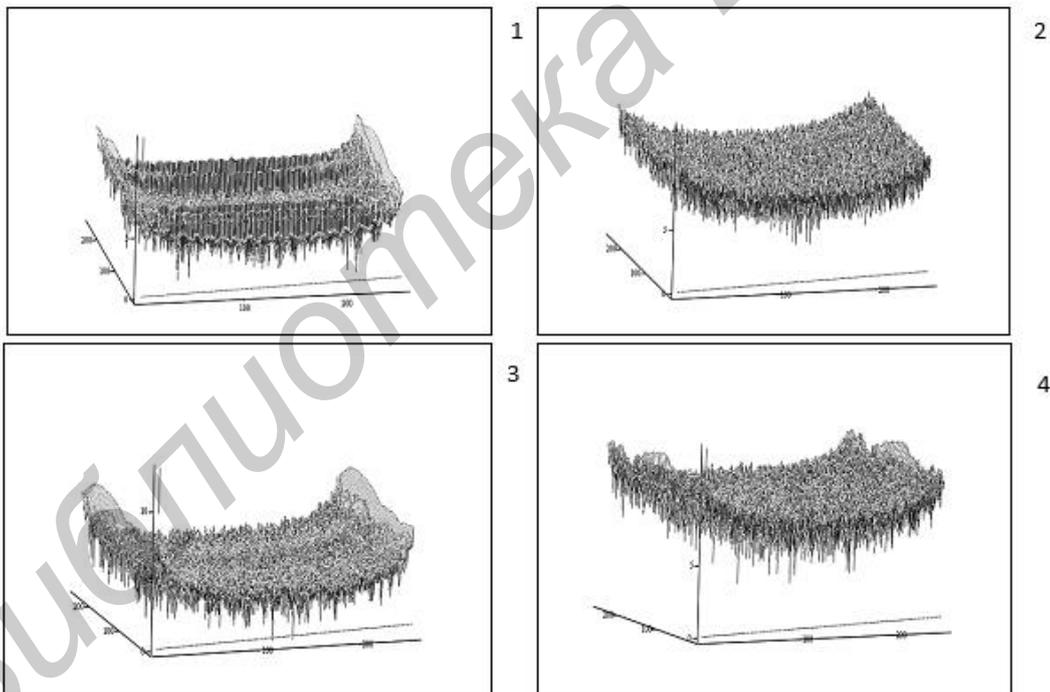


Рис. 1. Карты спектральных плотностей для АСМ-изображений клеток A549, полученных в режимах сканирования topography (1,3) и torsion (2,4) и температурах 25°C (1,2) и 70°C (3,4).

Для численной оценки карты спектральных плотностей были разбиты по оси x (частота, ω) на 7 равных фрагментов и для каждого фрагмента была рассчитана фрактальная размерность (D_F) методом подсчета кубов (box counting)[3] (рисунки 3, 4).

Анализ частотной зависимости фрактальной размерности для клеток A549 выявил, что

наиболее сложные структуры характерны для области частот 0.5-0.6 рад/нм в режиме topography и области частот 0.4-0.5 рад/нм в режиме torsion (рисунок 3). Для фибробластов частотные зависимости фрактальной размерности в обоих режимах также различается (рисунок 4).

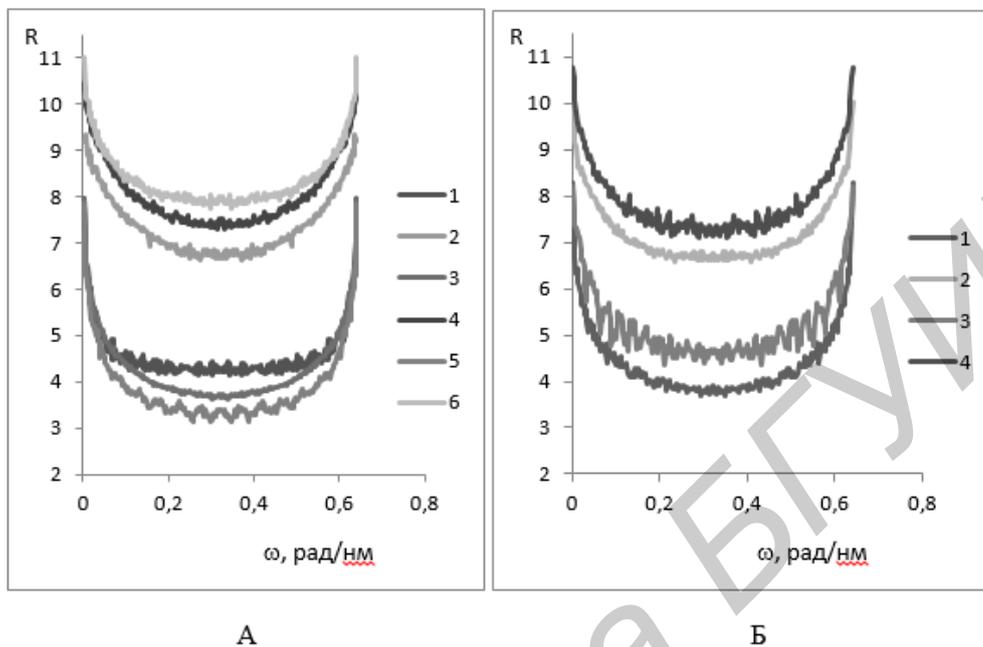


Рис. 2. А: средние значения спектральных плотностей для АСМ-изображений клеток А549, полученных в режимах сканирования topography (1,3,5) и torsion (2,4,6) и температурах 25°C (1,2), 50°C (3,4) и 70°C (5,6). Б: средние значения спектральных плотностей для АСМ-изображений фибробластов, полученных в режимах сканирования topography (1,3) и torsion (2,4) и температурах 30°C (1,2) и 70°C (3,4)

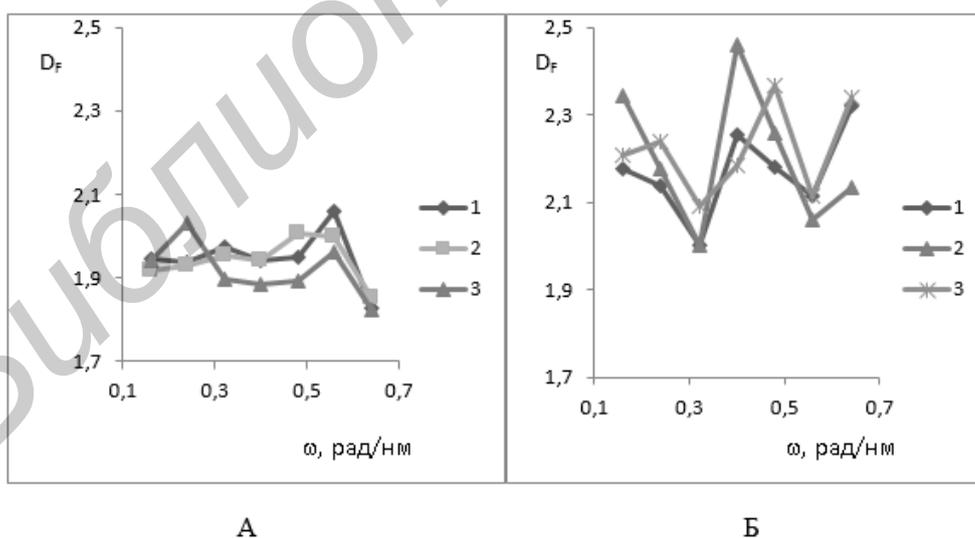


Рис. 3. Зависимость фрактальной размерности от частотного диапазона для: АСМ-изображений поверхности раковой клетки А549, полученных в режимах сканирования topography (А) и torsion (Б) при температурах 25°C (1), 50°C (2) и 70°C (3).

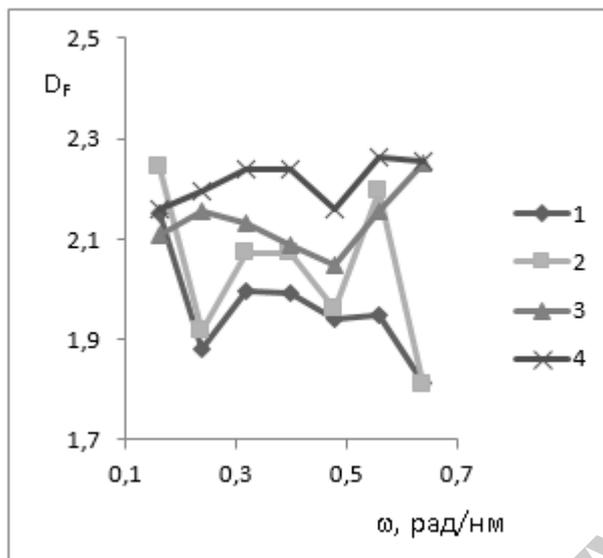


Рис. 4. Зависимость фрактальной размерности от частотного диапазона для: АСМ-изображений поверхности фибробласта, полученных в режимах сканирования topography (1, 2) и torsion (3, 4) при температурах 30°C (1, 3), и 70°C (2, 4).

Для обоих типов клеток значения фрактальной размерности карт спектральной плотности для режима torsion (2.00-2.46 рад/нм) больше, чем наблюдаемые для режима topography (1.79-2.09 рад/нм). Это свидетельствует о том, что карты оценок спектральной плотности для режима torsion имеют в целом более сложную структуру в сравнении с со структурой карт для режима topography.

Заключение. Предложенная методика, включающая построение карт оценок спектральных плотностей с последующим расчетом фрактальной размерности в различных частотных диапазонах, применима для анализа изменений структуры и свойств поверхностей биологических клеток по АСМ-изображениям.

Литература

- [1]. Харин Ю. С. Теория вероятностей, математическая и прикладная статистика: учебник / Ю. С. Харин, Н. М. Зуев, Е. Е. Жук. - Минск: БГУ, 2011. - 463 с.
- [2]. Julius O. Smith III. Mathematics of Discrete Fourier Transformation (DFT) with audio applications.- W3K Publishing, 2007. - 322 p.
- [3]. Novel fractal characteristic of atomic force microscopy images / M.N. Starodubtseva, I.E. Starodubtsev, E.G. Starodubtsev. // Micron. -2017. –Vol. 96. –P. 96-102