

Klasteryzacja danych hiperspektralnych w czasie rzeczywistym w mikroskopii wielofotonowej

Maciej Barna^{*a†}, Katarzyna Kunio^a, Jakub Bogusławski^a, Grzegorz Soboń^a

^a Grupa Elektroniki Laserowej i Światłowodowej, Wydział Elektroniki, Fotoniki i Mikrosystemów, Politechnika Wrocławska, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, Polska

†email: maciej.barna@pwr.edu.pl

Hiperspektralna mikroskopia dwufotonowa jest popularną techniką obrazowania fluorescencyjnego, jednak możliwości wykorzystania jej poza warunkami laboratoryjnymi są ograniczone z powodu wysokich kosztów rejestratora widm. Z tego powodu opracowano uproszczoną wersję mikroskopu [1], która rejestruje dane bezpośrednio w postaci fazorowej [2], zastępując spektrometr dwoma filtrami optycznymi. Jednak istniejące metody analizy danych fazorowych nie pozwalają na przetwarzanie w czasie rzeczywistym. W niniejszej pracy przedstawiamy metodę, która znacząco przyspiesza analizę danych fluorescencyjnych przy jednoczesnym zachowaniu dokładności.

Jednym z głównych celów analizowania danych fluorescencyjnych jest klasteryzacja, polegająca na segmentacji obrazu na podstawie widm optycznych zarejestrowanych w poszczególnych pikselach. W przypadku danych przedstawionych w przestrzeni fazorowej, klasteryzacja odbywa się na podstawie współrzędnych fazorów spektralnych. Jedną z bardziej popularnych metod klasteryzacji jest algorytm k-średnich [3], który iteracyjnie grupuje dane, minimalizując sumę kwadratów odległości punktów od centrów klastrów. Metoda proponowana przez nas przyspiesza wyszukiwanie centrów klastrów poprzez analizę histogramu, a następnie grupuje punkty na wykresie fazorowym, wykorzystując algorytm ważenia odwrotnością odległości (ang. inverse distance weighting, IDW) [4].

Do porównania obu metod wykorzystano dane syntetyczne symulujące obecność dwóch fluoroforów w obrazie. Przykładowe widma wygenerowanych fluoroforów przedstawiono na Rys. 1a. Metody testowano dla różnych separacji spektralnych ($\Delta\lambda$) w zakresie od 20 do 80 nm; poniżej pokazano przykład dla $\Delta\lambda = 20$ nm. Rys. 1b prezentuje obraz referencyjny, w którym kolor pikseli oznacza dominujący fluorofor (pomarańczowy – fluorofor a, czerwony – fluorofor b). Wyniki klasteryzacji uzyskane metodą k-średnich i IDW przedstawiono odpowiednio na Rys. 1c i 1d.



Rysunek 1: **Dane syntetyczne i porównanie metod klasteryzacji** (a) przykładowe widma optyczne wygenerowanych fluoroforów, (b) syntetyczny obraz referencyjny, (c) wynik klasteryzacji metodą k-średnich, (d) oraz metodą IDW

Otrzymane wyniki pokazały, że zaproponowana metoda przyspiesza klasteryzację danych hiperspektralnych przy zachowaniu porównywalnej dokładności. Obie metody uzyskują dokładność na poziomie powyżej 95%, jednak metoda k-średnich potrzebuje od 2 do 3 sekund na uzyskanie wyników, podczas gdy IDW potrzebuje mniej niż 0.2 sekundy, co daje ponad 20-krotną redukcję czasu obliczeń. Redukcja czasu została umożliwiona poprzez zastąpienie iteracyjnego szukania centrów klastrów analizą histogramu. Zastosowanie metody pozwoli na wyświetlenie wyniku klasteryzacji w czasie rzeczywistym.

Podziękowania i źródła finansowania

Badania sfinansowano ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach projektu (2021/43/D/ST7/01126).

Literatura

- [1] N. Hedde, R. Cinco, L. Malacrida, A. Kamaid, E. Gratton, *Communications Biology* **4**(1), 501 (2021).
- [2] L. Malacrida, E. Gratton, D. M. Jameson, *Methods Appl. Fluoresc.* **3**, 047001 (2015)
- [3] J. Macqueen, *Berkeley Symp. on Math. Statist. and Prob.*, 281-297 (1967).
- [4] D.W.S. Wong, *International Encyclopedia of Geography: People, the Earth, Environment and Technology*, 1-7 (2017).