Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București

Școala Doctorală de Științe Aplicate

Caracterizarea proceselor biofizice celulare prin microscopie hiperspectrală și holografică

REZUMAT

Student-doctorand: Ing. fiz. Raluca-Daniela Negoiță

Profesor coordonator: Prof. fiz. Mona Mihăilescu

Interdisciplinaritatea reprezintă un element cheie al progresului în domeniul biomedical, unde studiul sistemelor biologice complexe necesită tehnici complementare. În acest sens, teza utilizează două tehnici de microscopie pentru imagistică cantitativă: microscopia hiperspectrală în câmp întunecat (MHCI) și microscopia holografică digitală (MHD) pentru a obține hipercuburi spectrale I(x, y, λ) și, respectiv, imagini de fază. Scopul tezei mele a fost stabilirea parametrilor relevanți pentru caracterizarea comportamentului celular în procesele biofizice investigate, extragerea lor din imaginile de MHCI și MHD și utilizarea pentru identificare, clasificare, modele realiste de simulare. Pentru aceasta, am combinat activitatea experimentală cu modelarea matematică, simularea fenomenelor, clasificarea cu *machine learning*, analiza statistică a rezultatelor. Din imaginile MHCI au fost extrași parametri spațial-spectrali pentru: 1) clasificarea prin *machine learning* a nucleelor iradiate cu demonstrarea că metrica *sensibilitate* a clasificatorului reprezintă o măsură directă a eficienței alterării indusă prin iradiere, 2) pentru identificarea nanoparticulelor intracelulare prin mapare spectrală și 3) pentru diferențierea speciilor fungice patogene prin considerarea profilelor spectrale ca vectori cu 468 de elemente sau ca funcții 1D. Imaginile de fază MHD au furnizat forme realiste a celulelor în două stadii de malignitate și diferențe de fază în fiecare pixel folosite la atribuirea constantelor dielectrice pentru simularea fenomenelor și determinarea 1) tensiunii transmembranare pentru celula aflată în câmp continuu și 2) densității porilor membranari la aplicarea pulsurilor bipolare de electroporare. Am extins modelarea la celula musculară, prin simularea comportării la electroporare și prin propunerea unor modele matematice cu forțe de rezistență suplimentare pentru descrierea comportării mușchilor obosiți. Astfel, am caracterizat procesele biofizice celulare, folosind parametri fizici de natură optică, aflați în relații matematice cu parametri biologici relevanți.

Universitatea Națională de Știință și Tehnologie POLITEHNICA București

Școala Doctorală de Științe Aplicate

Characterization of cellular biophysical processes using hyperspectral and holographic microscopy

ABSTRACT

PhD Student: Ing. fiz. Raluca-Daniela Negoiță

PhD Supervisor: Prof. fiz. Mona Mihăilescu

Interdisciplinarity represents a key element of progress in the biomedical field, where the study of complex biological systems requires complementary techniques. In this regard, this thesis employs two microscopy techniques for quantitative imaging: enhanced dark-field hyperspectral microscopy (MHCI) and digital holographic microscopy (MHD), to obtain spectral hypercubes $I(x, y, \lambda)$ and quantitative phase images, respectively. The aim of my thesis was to establish the relevant parameters to characterize cellular behavior in the investigated biophysical processes, to extract them from MHCI and MHD images, and to use for identification, classification, and realistic models for simulation. For this purpose, I combined experimental activity with mathematical modelling, phenomenon simulation, machine learning classification, and statistical analysis of results. From MHCI images, spatial-spectral features were extracted for: 1) machine learning classification of irradiated nuclei, demonstrating that the *sensitivity* metric of the classifier represents a direct measure of efficiency of irradiation-induced alterations. 2) identification of intracellular nanoparticles through spectral mapping, and 3) differentiation of pathogenic fungal species by treating spectral profiles as 468-element vectors and as 1D functions. MHD phase images provided realistic shapes of cells in two malignancy stages and per-pixel phase shifts used in the assignment of dielectric constants for the simulation of phenomena and the determination of 1) transmembrane potential for cells under electric field conditions and 2) membrane pore density upon application of bipolar electroporation pulses. I extended the modelling to the muscle cell, through simulation of electroporation behavior and by proposing mathematical models with additional resistive forces to describe the behavior of fatigued muscles. Thus, I characterized biophysical processes at single cell level using physical parameters of an optical nature, which are in mathematical relationships with relevant biological parameters.