

**FICHA IDENTIFICATIVA****Datos de la Asignatura**

Código	44697
Nombre	Técnicas de análisis de imagen
Ciclo	Máster
Créditos ECTS	2.5
Curso académico	2021 - 2022

Titulación(es)

Titulación	Centro	Curso	Periodo
2224 - M.U. Investigación y Desarrollo en Biotecnología Biomedicina	Facultad de Ciencias Biológicas	1	Primer cuatrimestre

Materias

Titulación	Materia	Caracter
2224 - M.U. Investigación y Desarrollo en Biotecnología Biomedicina	1 - Nuevas tecnologías	Obligatoria

Coordinación

Nombre	Departamento
MORANTE REDOLAT, JOSE MANUEL	23 - Biología Funcional y Antropología Física
PERTUSA GRAU, JOSE FRANCISCO	357 - Biología Celular, Biología Funcional y Antropología Física

RESUMEN

La asignatura Técnicas de Análisis de Imagen (en adelante TAI) es un claro ejemplo de lo que ha supuesto el enorme avance de la microscopía y otras técnicas de adquisición de imágenes en la formación de los futuros profesionales de la Biología, la Biotecnología y la Biomedicina. Actualmente, existe una gran distribución de equipos de microscopía integrados con computadoras y una amplia variedad de paquetes de software y nuevos algoritmos para el análisis digital de la imagen disponibles. Este tipo de tecnologías, que ha avanzado rápidamente desde principios del siglo XXI, así como el constante incremento en la cantidad de imágenes a procesar, ha hecho necesaria la formación de investigadores especializados que deben combinar habilidades de análisis de imagen con conocimientos biológicos.



La asignatura TAI se plantea como un curso introductorio a las técnicas del tratamiento de imagen digital aplicadas fundamentalmente a imágenes biológicas, es decir al Análisis de Bioimagen (BIA, del inglés *Bioimage Analysis*). Este, consiste en la identificación de elementos biológicos de interés en imágenes y en la cuantificación de infinidad de características para abordar un problema biológico de manera no sesgada. Para ello se utilizan diferentes paquetes de software que consisten en “colecciones” de algoritmos de procesamiento y análisis de imagen (conocidos como componentes).

Sin embargo, el BIA no consiste únicamente en “aprender a manejar un determinado software” ya que, para cada problema específico, es necesario ensamblar una serie de componentes en un orden específico ajustando sus parámetros funcionales al problema que se desea resolver, obteniendo de este modo un “flujo de trabajo”. Este flujo de trabajo toma archivos de imagen como input y genera como resultado valores numéricos y/o imágenes procesadas. Además, el ensamblaje de componentes también puede hacerse en forma de script ejecutable. La conversión de flujos de trabajo en scripts tiene dos ventajas principales: 1) Permite la automatización de tareas repetitivas, pudiendo incluso desarrollar scripts para BIA de alto contenido. 2) Los scripts también destacan por su utilidad como documentación, es decir, sirven como registro de un flujo de trabajo, lo que asegura la reproducibilidad de un protocolo de BIA.

Por lo tanto, es cada vez más demandada la existencia de expertos en el ensamblaje óptimo de algoritmos de procesamiento de imagen para un desarrollo práctico del BIA: los analistas de bioimagen. Este grupo de profesionales se suman y complementan a las tres categorías clásicas de expertos implicados en el “BioImaging”: científicos del campo de las biociencias (p.ej. biólogos), instrumentalistas (p.ej. microscopistas) y desarrolladores (p.ej. programadores).

En los 2’5 créditos de duración, hacemos un recorrido sobre los fundamentos del BIA que se inicia con las características y propiedades de las imágenes digitales y su problemática específica; se continúa con los distintos algoritmos y técnicas para la construcción de flujos de trabajo y la lógica de su uso para la obtención de flujos de trabajo capaces de obtener datos cuantitativos significativos a partir de imágenes y, finalmente, se dan unas nociones básicas para la automatización de dichos flujos de trabajo en scripts para el procesado automático de gran cantidad de imágenes.

La asignatura está concebida como un paquete fundamentalmente práctico, por lo que cada uno de los conceptos teóricos que se introducen durante el curso, tiene su inmediata aplicación práctica en las sesiones siguientes.

CONOCIMIENTOS PREVIOS

Relación con otras asignaturas de la misma titulación

No se han especificado restricciones de matrícula con otras asignaturas del plan de estudios.

Otros tipos de requisitos

No hay



COMPETENCIAS

2224 - M.U. Investigación y Desarrollo en Biotecnología Biomedicina

- Que los/las estudiantes sepan aplicar los conocimientos adquiridos y su capacidad de resolución de problemas en entornos nuevos o poco conocidos dentro de contextos más amplios (o multidisciplinares) relacionados con su área de estudio.
- Que los/las estudiantes sean capaces de integrar conocimientos y enfrentarse a la complejidad de formular juicios a partir de una información que, siendo incompleta o limitada, incluya reflexiones sobre las responsabilidades sociales y éticas vinculadas a la aplicación de sus conocimientos y juicios.
- Poseer y comprender conocimientos que aporten una base u oportunidad de ser originales en el desarrollo y/o aplicación de ideas, a menudo en un contexto de investigación.
- Ser capaces de integrar las nuevas tecnologías en su labor profesional y/o investigadora.
- Utilizar adecuadamente las herramientas informáticas, métodos estadísticos y de simulación de datos, aplicando los programas informáticos y la estadística a los problemas biomédicos y biotecnológicos.
- Adquirir destrezas en el manejo de las metodologías avanzadas empleadas en las biociencias moleculares y en el registro anotado de actividades.
- Aprendizaje del uso de la instrumentación y equipamientos empleados en los laboratorios de biotecnología y biomedicina.

RESULTADOS DE APRENDIZAJE

Conocer los principios matemáticos que sustentan la obtención de medidas morfométricas y estereológicas aplicables a la microscopía.

Conocer los principios de funcionamiento de la digitalización de la imagen y sus implicaciones en el procesado y la obtención de información de la imagen biológica.

Proveer al estudiante de herramientas sencillas con la que obtener eficazmente medidas morfométricas, en el campo de la Biología Celular y Molecular.

Iniciar al estudiante en las técnicas de procesado de la imagen digital.

Relacionar los conocimientos de la Estadística, las Técnicas Microscópicas y las Técnicas Instrumentales de Análisis con las técnicas cuantitativas que se enseñan en TAI.

Entrenar a los estudiantes en el uso de programas de Análisis de Imagen de libre distribución.



DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS

0. Sesión 1: Presentación del curso: Diagrama completo del flujo de trabajo en análisis de imagen

Concepto y finalidad del Análisis de Bioimagen. Aspectos a tener en cuenta a la hora de medir. Percepción humana vs análisis computacional. Microscopía actual: volumen de imágenes generadas. Ejemplos cotidianos de análisis de imagen. La profesión de Analista de Bioimagen. Esquema básico de trabajo en Análisis de Bioimagen. Los flujos de trabajo. Ejemplos concretos. Software de análisis de imagen: ImageJ/Fiji y la importancia del Open Source. Fiji: comandos simples, comandos integrados, Plugins y Macros. Fiji Updater.

1. Sesión 2: Propiedades de la imagen digital

El proceso de digitalización. Tipos de sensores. La naturaleza numérica de la imagen digital. Digitalización del color. Luz y sistemas ópticos. Propiedades de la imagen digital: tamaño y resolución, calibrado, profundidad de bits. Espacios de color. Tipos de archivos de imagen. Paletas de falso color. Dimensiones de las imágenes biológicas.

2. Sesión 3: Realce y restauración de la imagen digital

Imagen real vs imagen digitalizada vs imagen corregida. Histograma de una imagen digital. Operaciones de realce y restauración: operaciones que cambian el número de píxeles, descomposición del color, operaciones punto a punto, operaciones entre píxeles vecinos (en el dominio espacial), operaciones en el dominio de la frecuencia. Ejemplos.

3. Sesión 4: Segmentación

Concepto de segmentación. Cerebro humano vs software de análisis. Criterios de vecindad. Técnicas de segmentación: segmentación manual, segmentación por umbrales, segmentación basada en la detección de bordes, segmentación basada en regiones, segmentación por clustering, segmentación por clasificación de píxeles (machine learning).

4. Sesión 5: Ejercicios de segmentación

5. Sesión 6: Imagen Binaria

Concepto y propiedades de la imagen binaria. Operaciones con la imagen binaria: operaciones Booleanas (AND, OR, XOR) concepto y aplicaciones. Operaciones con la imagen binaria: Morfología matemática (Erosión, Dilatación, Apertura, Cierre, Outline, Fill Holes, Skeletonize, Analyze skeleton, Mapa de distancias euclídeas, Ultimate Erode Points, Watershed, Voronoi, Reconstrucción binaria).



6. Sesión 7: Ejercicios de Integración

Ejercicios para combinar los contenidos de las sesiones 1 a 6

7. Sesión 8: Morfometría

¿Qué medir?: Información espacial y espectral. Medida vs resultado. Exactitud vs precisión. Descriptores de forma primarios y derivados: Perímetro, Área, Diámetros Feret, Rectángulo circundante, Centroide, Fracción de área, Ajuste a una elipse, Aspect ratio, Solidez, Redondez, Factor de forma. Medidas densitométricas. Ejemplos.

8. Sesión 9: Ejercicios de integración

Ejercicios para combinar los contenidos de las sesiones 1 a 8

9. Sesión 10: Automatización. Macroinstrucciones (I)

Macroinstrucciones: concepto y uso. El lenguaje macro en ImageJ. Funciones incorporadas (Built-in Macro Functions). Anotaciones. Variables: definición y uso. Operadores. Concatenación. Vectores: definición y uso. Estructuras de control (condicionales y bucles). Creación y uso de cuadros de dialogo.

10. Sesión 11: Automatización. Macroinstrucciones (II)

Ejercicios guiados de automatización de flujos de trabajo mediante macroinstrucciones.

11. Sesión 12: Ejercicios finales. Planteamiento del examen

Ejercicios finales de integración de toda la asignatura.
Planteamiento de los ejercicios para la evaluación final.

12. Sesión 13: Visita ponente externo

Presentación de casos prácticos reales por parte de ponente externo/a.



VOLUMEN DE TRABAJO

ACTIVIDAD	Horas	% Presencial
Clases de teoría	15,00	100
Tutorías regladas	10,00	100
Estudio y trabajo autónomo	17,50	0
Preparación de actividades de evaluación	20,00	0
TOTAL	62,50	

METODOLOGÍA DOCENTE

El desarrollo de la asignatura se estructura en torno a tres ejes: las sesiones de teoría, las de prácticas y la presentación de modelos de trabajo por profesionales con experiencia en la aplicación de las técnicas de tratamiento digital.

Las clases teóricas alternarán con las prácticas de manera que en unas sesiones se introducirán los conceptos relativos a la técnica de análisis de imagen, que se aplicarán posteriormente.

Las clases de prácticas se desarrollarán siguiendo dos estrategias diferentes: en unas sesiones se le aplicarán los conocimientos adquiridos en las sesiones de teoría anteriores, mediante una serie de problemas-tipo. En otras sesiones se realizarán ejercicios de carácter recopilatorio, que servirán para relacionar los conocimientos adquiridos hasta ese momento. El protagonismo de las sesiones prácticas recaerá básicamente en el estudiante, ya que será él mismo quien se tendrá que enfrentar con problemas análogos y de mayor complejidad. Los alumnos se distribuirán en grupos de dos, y el profesor se encargará de guiarlos y ayudarlos en todo momento. Una vez concluido el trabajo, los problemas serán corregidos y analizados por los mismos alumnos en el aula.

Cada estudiante dispondrá de una copia de los programas de trabajo que se utilizarán en clase, con el fin de que puedan realizar los trabajos que se programen o para que puedan trabajar la materia fuera del ámbito del aula informática de la Facultad. Durante las primeras sesiones se tendrá especial cuidado en entrenar a los estudiantes en el uso e instalación de los programas informáticos, para evitar que el manejo de ese material sea un coste añadido.

EVALUACIÓN

La evaluación del aprendizaje de los alumnos se llevará a cabo en dos estadios diferentes:

1.- Se llevará a cabo una evaluación continua de los progresos y del trabajo desarrollado a lo largo del curso, la cual se basará, en gran medida, en las cuestiones y problemas realizados en las sesiones prácticas. La nota obtenida en este apartado constituirá un 20% de la nota final.

2.- Los conocimientos adquiridos se evaluarán también mediante un examen al finalizar el curso, que contribuirán en un 80% a la nota definitiva.



El examen se compondrá de un conjunto de problemas biológicos, de los que se proporcionarán las imágenes en los correspondientes enunciados, que los estudiantes resolverán individualmente. Cada uno aportará un informe razonado de la solución propuesta a cada problema y un programa ejecutable en la plataforma *imageJ* que lo resuelva automáticamente. Se valorarán las aportaciones técnicas que el alumno haga a la resolución del problema relacionadas con las técnicas de Análisis de Imagen, así como la originalidad y la sencillez del protocolo propuesto.

REFERENCIAS

Básicas

- Bray M.A. et al (2012). Workflow and Metrics for Image Quality Control in Large-Scale High-Content Screens. *J Biomol Screen.* 17(2):266-274.
- Chaki J. & Dey N. (2020). *A Beginners Guide to Image Shape Feature Extraction Techniques.* Boca Raton: CRC Press.
- Eliceiri K.W. (2012). Biological Imaging Software Tools. *Nat Methods.* 9(7):697-710.
- Ferreira T.A. & Rasband W. (2012). *The ImageJ User Guide Version 1.46r.* <http://imagej.net/docs/guide/user-guide.pdf>
- Guiet R., Burri O. & Seitz A. (2019). Open Source Tools for Biological Image Analysis. In: Rebollo E., Bosch M. (eds) *Computer Optimized Microscopy. Methods in Molecular Biology, vol 2040.* Humana, New York, NY.
- Jost A.P.T & Waters J.C. (2019). Designing a Rigorous Microscopy Experiment: Validating Methods and Avoiding Bias. *J Cell Biol.* 218(5):1452-1466.
- Meijering E., Carpenter A.E., Peng H., Hamprecht F.A. & Olivo-Marin J.C. (2016). Imagining the Future of Bioimage Analysis. *Nat Biotechnol.* 34(12):1250-1255.
- Miura K., Tosi S., Möhl C., Zhang C., Paul-Gilloteaux P., Schulze U., Nørrelykke S.F., Tischer C. & Pengo C. (2016). *Bioimage Analysis Tools.* In: Miura K. (ed) *Bioimage Data Analysis.* Wiley-VCH, Heidelberg.
- Miura K. et al (2017). *Workflows and Components of Bioimage Analysis: The NEUBIAS Concept.* Zenodo. doi: 10.5281/zenodo.1042570.
- Myers G. (2012). Why Bioimage Informatics Matters. 9(7):659-660.

Complementarias

- Pertusa J.F. & Morante-Redolat J.M. (2019). Main Steps in Image Processing and Quantification: The Analysis Workflow. In: Rebollo E., Bosch M. (eds) *Computer Optimized Microscopy. Methods in Molecular Biology, vol 2040.* Humana, New York, NY.
- Rueden C.T., Schindelin J., Hiner M.C., DeZonia B.E., Walter A.E., Arena E.T. & Eliceiri K.W. (2017). *ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data.* *BMC Bioinformatics.* 18(1):529.
- Russ J.C (2015) *The Image Processing Handbook, Seventh Edition 6th Edition* CRC Press. London.
- Sbalzarini I.F. (2016). Seeing Is Believing: Quantifying Is Convincing: Computational Image Analysis in Biology. In: De Vos W., Munck S., Timmermans JP. (eds) *Focus on Bio-Image Informatics. Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology, vol 219.* Springer, Cham.
- Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E., Kaynig V., Longair M., Pietzsch T., Preibisch S., Rueden



C., Saalfeld S. & Schmid S. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. Nat Methods. 9(7):676-682.

Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. Nat Methods. 9(7):671-675.

ADENDA COVID-19

Esta adenda solo se activará si la situación sanitaria lo requiere y previo acuerdo del Consejo de Gobierno

1 y 2) *Contenidos y Volumen de trabajo.*

Sin cambios.

3) *Metodología.*

El punto de inicio dado el número de estudiantes y las aulas disponibles es de plena presencialidad en las actividades. Sin embargo, ante la posibilidad de que la evolución de la situación derivada de la COVID-19 obligue a una reducción de la presencialidad, se tomarán las siguientes medidas:

1) Las actividades presenciales en aula se sustituirían en función de las herramientas tecnológicas disponibles en el aula en el momento de desarrollo del curso, por las siguientes metodologías:

- Videos de presentaciones en mmedia.uv.es
- Presentaciones Powerpoint locutadas en Aula Virtual
- Presentaciones Powerpoint con apuntes extendidos en Aula Virtual
- Propuestas de actividades de resolución de Cuestionarios de Aula Virtual y entrega de tareas y cuestiones por Aula Virtual

2) Las actividades presenciales de prácticas de informática, se sustituirían por las siguientes metodologías:

- Prácticas de informática guiadas mediante grabaciones de vídeo o presentaciones Powerpoint locutadas en Aula Virtual
- Clases prácticas no presenciales síncronas, compartiendo el escritorio del profesor con una plataforma de comunicación “on-line” como Blackboard, Meet, Zoom o similar.
- Discusiones en foros asíncronos en Aula Virtual



3) Para tutorías y dudas se utilizarían las siguientes metodologías:

- Chats síncronos en Aula Virtual
- Foros asíncronos en Aula Virtual
- Comunicación directa profesor-estudiante a través del correo institucional

4) Evaluación.

En caso de que los exámenes no pudieran ser presenciales, se realizarían ‘on line’ en Aula Virtual mediante las herramientas disponibles.

Los detalles concretos de la adaptación a las situaciones que se pudieran producir se supervisarán por la CCA y se comunicaran a los estudiantes a través de Aula Virtual.