

**FITXA IDENTIFICATIVA****Dades de l'Assignatura**

Codi	44697
Nom	Tècniques d'anàlisi d'imatge
Cicle	Màster
Crèdits ECTS	2.5
Curs acadèmic	2023 - 2024

Titulació/titulacions

Titulació	Centre	Curs	Període
2224 - M.U. Investigació i Desenvolup en Biotecnologia Biomedicina	Facultat de Ciències Biològiques	1	Primer quadrimestre

Matèries

Titulació	Matèria	Caràcter
2224 - M.U. Investigació i Desenvolup en Biotecnologia Biomedicina	1 - Noves tecnologies	Obligatòria

Coordinació

Nom	Departament
MORANTE REDOLAT, JOSE MANUEL	357 - Biologia Cel·lular, Biologia Funcional i Antropologia Física

RESUM

L'assignatura Tècniques d'Anàlisi d'Imatge (d'ara endavant TAI) és un clar exemple del que ha suposat l'enorme avanç de la microscòpia i altres tècniques d'adquisició d'imatges en la formació dels futurs professionals de la Biologia, la Biotecnologia i la Biomedicina. Actualment, existeix una gran distribució d'equips de microscòpia integrats amb computadores i una àmplia varietat de paquets de programari i nous algorismes per a l'anàlisi digital de les imatges disponibles. Aquest tipus de tecnologies, que ha avançat ràpidament des de principis del segle XXI, així com el constant increment en la quantitat d'imatges a processar, ha fet necessària la formació d'investigadors especialitzats que han de combinar habilitats d'anàlisi d'imatge amb coneixements biològics.

L'assignatura TAI es planteja com un curs introductori a les tècniques del tractament d'imatge digital aplicades fonamentalment a imatges biològiques, és a dir a l'Anàlisi de Bioimatge (BIA, de l'anglès Bioimage Analysis). Aquest, consisteix en la identificació d'elements biològics d'interés en imatges i en la quantificació d'infinat de característiques per a abordar un problema biològic de manera no esbiaixada. Per a això s'utilitzen diferents paquets de programari que consisteixen en "col·leccions" d'algorismes de processament i anàlisi d'imatge (coneguts com a 'components').



No obstant això, el BIA no consisteix únicament a “aprendre a manejar un determinat programari” ja que, per a cada problema específic, és necessari assemblar una sèrie de components en un ordre específic ajustant els seus paràmetres funcionals al problema que es desitja resoldre, obtenint d'aquesta manera un “flux de treball”. Aquest flux de treball pren arxius d'imatge com a input i genera com a resultat valors numèrics i/o imatges processades. A més, l'assemblatge de components també pot fer-se en forma de script executable. La conversió de fluxos de treball en scripts té dos avantatges principals: 1) Permet l'automatització de tasques repetitives, podent fins i tot desenvolupar scripts per a BIA d'alt contingut. 2) Els scripts també destaquen per la seua utilitat com a documentació, és a dir, serveixen com a registre d'un flux de treball, la qual cosa assegura la reproducibilitat d'un protocol de BIA.

Per tant, és cada vegada més demandada l'existència d'experts en l'assemblatge òptim d'algorismes de processament d'imatge per a un desenvolupament pràctic del BIA: els analistes de bioimatge. Aquest grup de professionals se sumen i complementen a les tres categories clàssiques d'experts implicats en el “BioImaging”: científics del camp de les biociències (p. ex. biòlegs), instrumentalistes (p. ex. microscopistes) i desenvolupadors (p. ex. programadors).

En els 2'5 crèdits de duració, fem un recorregut sobre els fonaments del *BIA que s'inicia amb les característiques i propietats de les imatges digitals i la seua problemàtica específica; es continua amb els diferents algorismes i tècniques per a la construcció de fluxos de treball i la lògica del seu ús per a l'obtenció de fluxos de treball capaços d'obtenir dades quantitatives significatives a partir d'imatges i, finalment, es donen unes nocions bàsiques per a l'automatització d'aquests fluxos de treball en *scripts per al processament automàtic de gran quantitat de imatges.

L'assignatura està concebuda com un paquet fonamentalment pràctic, per la qual cosa cadascun dels conceptes teòrics que s'introdueixen durant el curs, té la seua immediata aplicació pràctica en les sessions següents.

CONEIXEMENTS PREVIS

Relació amb altres assignatures de la mateixa titulació

No heu especificat les restriccions de matrícula amb altres assignatures del pla d'estudis.

Altres tipus de requisits

No hi ha cap

COMPETÈNCIES

2224 - M.U. Investigació i Desenvolup en Biotecnologia Biomedicina

- Que els estudiants sàpiguem aplicar els coneixements adquirits i la seua capacitat de resolució de problemes en entorns nous o poc coneguts dins de contextos més amplis (o multidisciplinaris) relacionats amb la seua àrea d'estudi.



- Que els estudiants siguen capaços d'integrar coneixements i afrontar la complexitat de formular judicis a partir d'una informació que, sent incompleta o limitada, incloga reflexions sobre les responsabilitats socials i ètiques vinculades a l'aplicació dels seus coneixements i judicis.
- Posseir i comprendre coneixements que aportin una base o oportunitat de ser originals en el desenvolupament i / o aplicació d'idees, sovint en un context de recerca.
- Ser capaços d'integrar les noves tecnologies en la seva tasca professional i / o investigadora.
- Utilitzar adequadament les ferramentes informàtiques, mètodes estadístics i de simulació de dades, aplicant els programes informàtics i l'estadística als problemes biomèdics i biotecnològics.
- Adquirir destreses en el maneig de les metodologies avançades empleades en les biociències moleculars i en el registre anotat d'activitats.
- Aprenentatge de l'ús de la instrumentació i equipaments empleats en els laboratoris de biotecnologia i biomedicina.

RESULTATS DE L'APRENENTATGE

Conèixer els principis de funcionament de la digitalització de la imatge i les seves implicacions en el processament i l'obtenció d'informació de la imatge biològica.

Proveir l'estudiant d'eines senzilles amb la qual obtenir eficaçment mesures morfomètriques, en el camp de la Biologia Cel·lular i Molecular.

Iniciar l'estudiant en les tècniques de processament de la imatge digital.

Relacionar els coneixements de l'Estadística, les Tècniques Microscòpiques i les Tècniques Instrumentals d'Anàlisi amb les tècniques quantitatives que s'ensenyen a TAI.

Entrenar els estudiants en l'ús de programes d'Anàlisi d'Imatge de lliure distribució.

Conèixer i aplicar instruccions i estructures de control bàsiques en llenguatge macro de programació.

Ser capaç d'automatitzar fluxos de treballs d'anàlisi d'imatge mitjançant la creació de macroinstruccions, tant per a l'anàlisi d'imatges individuals com per a diversos arxius i/o piles d'imatges.

DESCRIPCIÓ DE CONTINGUTS

0. Sessió 1: Presentació del curs: Diagrama complet del flux de treball en anàlisi d'imatge

Concepte i finalitat de l'Anàlisi de Bioimatge. Aspectes a tindre en compte a l'hora de mesurar. Percepció humana vs anàlisi computacional. Microscòpia actual: volum d'imatges generades. Exemples quotidians d'anàlisi d'imatge. La professió d'Analista de Bioimatge. Esquema bàsic de treball en Anàlisi de Bioimatge. Els fluxos de treball. Exemples concrets. Programari d'anàlisi d'imatge: ImageJ/Fiji i la importància del Open Source. Fiji: comandos simples, comandos integrats, Plugins i Macros. Fiji Updater.



1. Sessió 2: Propietats de la imatge digital

El procés de digitalització. Tipus de sensors. La naturalesa numèrica de la imatge digital. Digitalització del color. Llum i sistemes òptics. Propietats de la imatge digital: grandària i resolució, calibrat, profunditat de bits. Espais de color. Tipus d'arxius d'imatge. Paletes de fals color. Dimensions de les imatges biològiques.

2. Sessió 3: Realç i restauració de la imatge digital

Imatge real vs imatge digitalitzada vs imatge corregida. Histograma d'una imatge digital. Operacions de realització i restauració: operacions que canvien el nombre de píxels, descomposició del color, operacions punt a punt, operacions entre píxels veïns (en el domini espacial), operacions en el domini de la freqüència. Exemples.

3. Sessió 4: Segmentació

Concepte de segmentació. Cervell humà vs programari d'anàlisi. Criteris de veïnatge. Tècniques de segmentació: segmentació manual, segmentació per llindars, segmentació basada en la detecció de vores, segmentació basada en regions, segmentació per clustering, segmentació per classificació de píxels (machine learning).

4. Sessió 5: Exercicis de segmentació

5. Sessió 6: Imatge Binària

Concepte i propietats de la imatge binària. Operacions amb la imatge binària: operacions Booleanes (AND, OR, XOR) concepte i aplicacions. Operacions amb la imatge binària: Morfologia matemàtica (Erosió, Dilatació, Obertura, Tancament, Outline, Fill Holes, Skeletonize, Analyze skeleton, Mapa de distàncies euclidianes, Ultimate Erode Points, Watershed, *Voronoi, Reconstrucció binària).

6. Sessió 7: Exercicis d'Integració

Exercicis per a combinar els continguts de les sessions 1 a 6

7. Sessió 8: Morfometria

Què mesurar?: Informació espacial i espectral. Mesura vs resultat. Exactitud vs precisió. Descriptors de forma primaris i derivats: Perímetre, Àrea, Diàmetres Feret, Rectangle circumdant, Centroide, Fracció d'àrea, Ajust a una el·lipse, Aspect ratio, Solidesa, Redonesa, Factor de forma. Mesures densitomètriques. Exemples.

**8. Sessió 9: Exercicis d'integració**

Exercicis per a combinar els continguts de les sessions 1 a 8

9. Sessió 10: Automatització. Macroinstruccions (I)

Macroinstruccions: concepte i ús. El llenguatge macro en ImageJ. Funcions incorporades (Built-in MacroFunctions). Anotacions. Variables: definició i ús. Operadors. Concatenació. Vectors: definició i ús. Estructures de control (condicionals i bucles). Creació i ús de quadres de diàleg.

10. Sessió 11: Automatització. Macroinstruccions (II)

Exercicis guiats d'automatització de fluxos de treball mitjançant macroinstruccions.

11. Sessió 12: Exercicis finals. Plantejament de l'examen

Exercicis finals d'integració de tota l'assignatura.
Plantejament dels exercicis per a l'avaluació final.

12. Sessió 13: Visita ponent extern

Presentació de casos pràctics reals per part de ponent extern/a.

VOLUM DE TREBALL

ACTIVITAT	Hores	% Presencial
Classes de teoria	15,00	100
Tutories reglades	10,00	100
Estudi i treball autònom	17,50	0
Preparació d'activitats d'avaluació	20,00	0
TOTAL	62,50	

METODOLOGIA DOCENT

El desenvolupament de l'assignatura s'estructura al voltant de tres eixos: les sessions de teoria, les de pràctiques i la presentació de models de treball per professionals amb experiència en l'aplicació de les tècniques de tractament digital.

Les classes teòriques s'alternaran amb les classes de pràctiques de manera que en unes sessions s'introduiran els conceptes relatius a la tècnica d'anàlisi d'imatge, que s'aplicaran posteriorment.



Les sessions de pràctiques, que es realitzaran en les sessions de tutoria en grup reduït d'alumnes, es desenvoluparan seguint dues estratègies complementaries: en unes sessions s'aplicaran els coneixements adquirits en les sessions de teoria anteriors, mitjançant una sèrie de problemes-tipus. En altres sessions es realitzaran exercicis de caràcter recopilatori, que serviran per relacionar els coneixements adquirits fins a aquest moment. El protagonisme de les sessions pràctiques recaurà bàsicament en l'estudiant, ja que serà ell mateix qui s'haurà d'enfrontar amb problemes anàlegs i de major complexitat. Una vegada conclòs el treball, els problemes seran corregits i analitzats pels mateixos alumnes a l'aula.

Cada estudiant disposarà d'una còpia dels programes de treball que s'utilitzaran a classe, per tal que puguin realitzar els treballs que es programen o perquè puguin treballar la matèria fora de l'àmbit de l'aula informàtica de la Facultat. Durant les primeres sessions es tindrà especial cura en entrenar els estudiants en l'ús i instal·lació dels programes informàtics, per evitar que el maneig d'aquest material sigui un cost afegit.

AVALUACIÓ

L'avaluació de l'aprenentatge dels alumnes es durà a terme en 2 estadis diferents:

- 1.- Es durà a terme una avaluació contínua dels progressos i del treball desenvolupat al llarg del curs, la qual es basarà, en gran mesura, en les qüestions i problemes realitzats en les sessions pràctiques. La nota obtinguda en aquest apartat constituirà un 20% de la nota final.
- 2.- Els coneixements adquirits s'avaluaran també mitjançant un examen al finalitzar el curs, que contribuiran en un 80% a la nota definitiva.

L'examen es compondrà d'un conjunt de problemes biològics, dels quals es proporcionaran les imatges en els corresponents enunciats, que els estudiants resoldran individualment. Cada un aportarà un informe raonat de la solució proposada a cada problema i un programa executable a la plataforma ImageJ que el resolgui automàticament. Es valoraran les aportacions tècniques que l'alumne faci a la resolució de el problema relacionades amb les tècniques d'Anàlisi d'Imatge, així com l'originalitat i la senzillesa de l'procotolo proposat.

REFERÈNCIES

Bàsiques

- 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>
- Güet 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.

Complementàries

- 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.