بسم الله الرحمن الرحیم

پردازش هوشمند تصاویر زیست پزشکی

نیم‌سال اول ۰۳-۰۲

مدرس: محمدحسین رهبان

دانشگاه صنعتی شریف

دانشکده‌ی مهندسی کامپیوتر

تمرین سوم	میکروسکوپ	مهلت ارسال:

- مهلت ارسال پاسخ تا ساعت **۲۳:۵۹** روز مشخص‌شده است.
- در طول ترم امکان ارسال با تاخیر تمرین‌ها بدون کسر نمره تا سقف ۱۲ روز وجود دارد. محل بارگزاری جواب تمرین‌ها بعد از ۴ روز بسته خواهد شد و پس از گذشت این مدت، پاسخ‌های ارسال‌شده پذیرفته نخواهند شد.
- توجه داشته‌باشید که نوت‌بوک‌های شما باید قابلیت بازاجرای ۱۰۰ درصد داشته باشند و در صورت نیاز به نصب یک کتابخانه یا دسترسی به یک فایل، مراحل نصب و دانلود (از یک محل عمومی) در نوت‌بوک وجود داشته باشد.
- هم‌فکری در انجام تمرین مانعی ندارد، فقط توجه داشته باشید که پاسخ تمرین حتما باید توسط خود شخص نوشته شده باشد. همچنین در صورت همفکری در هر تمرین، در ابتدای جواب تمرین نام افرادی که با آن‌ها هم‌فکری کرده اید را حتما ذکر کنید.
- برای پاسخ به سوالات نظری در صورتی که از برگه خود عکس تهیه می‌کنید، حتما توجه داشته باشید که تصویر کاملا واضح و خوانا باشد. درصورتی که خوانایی کافی را نداشته باشد، تصحیح نخواهد شد.
- محل بارگذاری سوالات نظری و عملی در هر تمرین مجزا خواهد بود. به منظور بارگذاری بایستی تمارین تئوری در یک فایل زیپ با نام SPB_Theo_hw[HW-Number]_[First-Name]_[Last-Name]_[Student-Id].zip و تمارین عملی نیز در یک فایل مجزای زیپ با نام SPB_Prac_hw[HW-Number]_[First-Name]_[Last-Name]_[Student-Id].zip بارگذاری شوند.
- در صورت وجود هرگونه ابهام یا مشکل، در کوئرای درس آن مشکل را بیان کنید و از پیغام دادن مستقیم به دستیاران آموزشی خودداری کنید.

بخش تئوری (۷۰ نمره)

۱. سوال اول (۱۰ نمره)

آ) تعریف روزولوشن را برای میکروسکوپ‌ها با استفاده از مفهوم minimum-distance بیان کنید.
توانایی میکروسکوپ‌ها برای تشخیص جزئیات، که این توانایی را می‌توان با استفاده از مفهوم مینیمم فاصله‌ی بین دو نقطه‌ی قابل تشخیص و مجزا از هم مشخص کرد.
ب) فرمول مربوط به minimum-distance را بنویسید و توضیح دهید هر کدام از پارامترها به چه نحوی رزولوشن را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

$$d = \frac{0.61\lambda}{\mu \sin \alpha}$$

همانطور که می‌دانیم با کاهش d روزلوشن افزایش پیدا می‌کند. همچنین رزولوشن تحت تاثیر طول موج نور مورد استفاده (λ) ضریب انکسار محیط میکروسکوپ (μ) و همچنین زاویه‌ی مخروط نقطه‌ی نورانی (α) و لنز میکروسکوپ است. با افزایش زاویه و ضریب انکسار و کاهش طول موج، رزولوشن افزایش پیدا می‌کند.
ج) برای افزایش رزولوشن کدام پارامترها را می‌توانیم تغییر دهیم؟ به چه طریقی می‌توان برای افزایش رزولوشن این پارامترها را تغییر داد؟

برای افزایش رزولوشن طول موج را خیلی نمی‌توانیم تغییر بدهیم. در نتیجه برای افزایش رزولوشن باید پارامترهای α و μ را افزایش داد. برای افزایش α می‌توان نقطه‌ی نورانی را به سطح تصویربرداری نزدیک کنیم و یا از عدسی بزرگ‌تری استفاده کنیم. همچنین می‌توانیم ضریب انکسار را افزایش دهیم که برای این کار باید از ماده‌ی تریdense استفاده کنیم.

د) از نوری با فرکانس ۶۰۰ تراهرتز برای تصویربرداری در مدیا با ضریب شکست ۱.۲ استفاده شده است. نیم‌زاویه نور ورودی به لنز objective برابر ۳۰ درجه است. حداکثر فاصله‌ی دو نقطه‌ی نورانی قابل تمایز در تصویر ثبت شده این میکروسکوپ چقدر است؟

$$\lambda = \frac{c}{f} = \frac{3 * 10^8}{600 * 10^{12}} = 0.5 * 10^{-6}$$

$$d = \frac{0.61\lambda}{\mu \sin\alpha} = \frac{0.61 * 0.5 * 10^{-6}}{1.2 * 0.5} \approx 0.5 * 10^{-6} = 500nm$$

۲. سوال دوم (۱۲ نمره)

آ) مبنای کار میکروسکوپ bright-field را توضیح دهید.
بخش‌های مختلف نمونه ضخامت متفاوت دارد انکسارهای متفاوتی ایجاد می‌کند و باعث تغییر در شکست نور می‌شود اختلاف فاز می‌ساز و این تغییرات در سطح تصویر برداری کانترست ایجاد میکند.
ب) در میکروسکوپ dark-field چگونه از ورود نور مزاحم جلوگیری می‌شود؟
یک سطح مات را در مسیر نورد ورودی و پشت عدسی condencer قرار می‌دهیم که نور مزاحم را در زوایای بالا متمرکز کند.
ج) از میکروسکوپ dark-field برای تصویربرداری در چه کاربردهایی استفاده می‌شود؟
این نو عتصویربرداری برای کاربردهایی مناسب است که contrast بالا مد نظر است و magnification کم برای مرز تک سلول‌ها مطلوب است. به طور مثال برای مشاهده‌ی سلول اسپرم مناسب است.
د)در مورد معایب و محدودیت های میکروسکپ الکترونی تحقیق کرده و یکی از این موارد را توضیح دهید.
هزینه: میکروسکوپ های الکترونی بسیار گران هستند و صدها هزار یا حتی میلیون ها دلار هزینه دارند.
اندازه: میکروسکوپ های الکترونی همچنین بسیار بزرگ و حجیم هستند و فضای زیادی را در آزمایشگاه اشغال می کنند.
پیچیدگی: میکروسکوپ های الکترونی ابزارهای پیچیده ای برای کار و نگهداری هستند. برای کار با میکروسکوپ الکترونی به طور مناسب، آموزش تخصصی لازم است.
تهیه نمونه: بسیاری از تکنیک های میکروسکوپی الکترونی نیاز دارند که نمونه ها به روش خاصی تهیه شوند. این می تواند دشوار و وقت گیر باشد و مهم است که نمونه ها را با دقت آماده کنید تا از مصنوعات(Artifacts) جلوگیری شود.
محیط خلاء: نمونه های میکروسکوپی الکترونی باید در خلاء تجزیه و تحلیل شوند. این بدان معنی است که نمونه های زنده قابل تجزیه و تحلیل نیستند و برخی از نمونه ها ممکن است در اثر محیط خلاء آسیب ببینند.
تصاویر سیاه و سفید: میکروسکوپ های الکترونی فقط تصاویر سیاه و سفید تولید می کنند. رنگ را می توان به صورت مصنوعی اضافه کرد، اما این کار همیشه دقیق نیست.
برای اطلاعات بیشتر می توانید لینک اول و لینک دوم را مشاهده کنید. همچنین موارد دیگر نیز با ذکر منبع معتبر قابل قبول هستند.

۳. سوال سوم (۱۲ نمره)

تحقیق کنید که در هر کدام از موارد زیر استفاده از چه میکروسکوپی مناسب‌تر است. دلیل خود را توضیح دهید.

(آ) شمارش سلول‌های گلبول قرمز خون
با توجه به ابعاد گلبول های قرمز خون می‌توان از میکروسکوپ های Bright-field یا Dark-field برای مشاهده و شمارش آن‌ها استفاده کرد. بهترین رزولوشن توسط میکروسکوپ‌های الکترونی فراهم می‌شود که هزینه و محدودیت دسترسی دارند.
(ب) مشاهده‌ی هاگ‌های قارچ
با توجه به ابعاد هاگ‌های قارچ می‌توان از میکروسکوپ compound برای مشاهده‌ی آن‌ها با contrast خوب استفاده کرد.
(پ) تصویربرداری از ویروس کرونا
در ابعاد ویروس‌ها از میکروسکوپ الکترونی استفاده می‌شود.
(ج) مطالعه پروتئین‌های غشایی سلول
برای دیدن پروتئین‌های غشایی با بزرگ‌نمایی و جزئیات مناسب از STED استفاده می‌شود.
(د) مشاهده‌ی کریستال ویتامین‌ها
از polarizing microscope استفاده می‌شود. به کمک این نوع از میکروسکوپ‌ها می‌توان اطلاعاتی در مورد رنگ‌های جذب شده و مسیرهای نوری در کریستال‌های با ضریب شکست متفاوت بدست آورد. البته میکروسکوپ‌های Bright-field قابل تبدیل به میکروسکوپ polarizing به کمک اضافه کردن polarizer به آن‌ها هستند.
(ر) تصویربرداری دو بعدی اندامک‌های داخلی و جزئیات سلول از یک نمونه نازک
برای مشاهده‌ی اندامک‌های داخلی بزرگ‌تر می‌توان از میکروسکوپ نوری مانند Contrast Phase استفاده کرد اما برای دیدن اندامک‌های کوچک‌تر و جزئیات بیشتر نیاز به استفاده از میکروسکوپ الکترونی است.
(ز) تصویربرداری سه بعدی از ساختار سطحی یک نمونه نسبتا ضخیم و فیکس شده
استفاده از میکروسکوپ laser scanning confocal مناسب است چرا که امکان تصویر برداری سه بعدی با رزولوشن بالا از نمونه های نسبتا ضخیم را فراهم می‌آورد.
(و) تصویربرداری سه بعدی سلول‌های یک نمونه زنده و نازک
استفاده از میکروسکوپ confocal مناسب است چرا که امکان تصویر برداری سه بعدی با رزولوشن بالا از نمونه های زنده را فراهم می‌آورد.
(ه) مطالعه ساختاری و عملکرد نورون‌های هرمی مغز
از آنجایی که نورونهای مغزی شاخه‌های نازکی دارند و جزئیات زیادی در آنها وجود دارد، استفاده از میکروسکوپ STED بهتر است تا جزئیات به خوبی و با contrast بالا دیده شود.
(ی) تهیه تصاویر هیستوپاتولوژی از بافت بدن
با توجه به میزان و نوع جزئیاتی که نیاز است و همینطور ضخامت بافت، از انواع میکروسکوپ‌های مختلف (شامل میکروسکوپ‌های نوری و الکترونی) برای تهیه‌ی تصاویر هیستوپاتولوژی از بافت بدن می‌توان استفاده کرد.

موارد دیگر با ذکر منبع معتبر قابل قبول هستند.

۴. سوال چهارم (۱۶ نمره)

با توجه به این مقاله به پرسش‌های زیر پاسخ دهید:

(آ) منظور از neuron tracing چیست؟
مورفولوژی نورونی، به ویژه شاخه های نورونی دندریت و آکسون که از سوما شاخه می زنند را می‌توان به صورت ساختاری شبیه به درخت، در قالب دیجیتالی مختصرتری نسبت به تصویر نورون نمایش داد. به تولید این درخت neuron tracing گفته می‌شود که اساسی برای بررسی سیستماتیک و کمی سیستم عصبی است.
(ب) در مورد دو نوع خطای fiber missing و fiber crossing توضیح دهید.
دو خطای معمول هستند. fiber missing به معنای این است که قسمتی از رشته وجود ندارد و fiber crossing به معنای عبور دو رشته از روی یکدیگر است.
(ج) روش‌های مبتنی بر Deep Learning چگونه به بهبود الگوریتم های حل مسئله‌ی neuron tracing کمک کرده‌اند؟
روش های مبتنی بر deep learning با به کار رفتن در دو کاربرد neuronal image segmentation و critical point detection قبل از اعمال کردن الگوریتم های tracing به شکل قابل ملاحظه‌ای حل مسئله‌ی neuron tracing را

بهبود بخشیده‌اند.
در سگمنت کردن تصاویر نورونی با برداشتن نویز و کنار گذاشتن سیگنال های ناهمگن و همچنین سگمنت کردن بهتر قبل از tracing و در تشخیص نقاط بحرانی، با بهتر تشخیص دادن این نقاط. همچنین به کمک این روش ها نیاز به کارهای دستی از بین رفته است.
(د) ارزیابی خروجی متدهای مطرح شده برای neuron tracing با gold standard به کمک متریک‌های فاصله‌ای مشکلی به همراه دارد. ابتدا این مشکل را توضیح داده و بنویسید برای حل این مشکل به سراغ چه متریک‌هایی می‌رویم و این نوع متریک ارزیابی را توضیح دهید.
متریک‌های فاصله‌ای ارزیابی را به کمک فاصله هندسی انجام می‌دهند که این باعث می‌شود اتصالات مورفولوژی نادیده گرفته شود که در نتیجه آن، این متریک ارزیابی به خطاهای توپولوژی حساس نخواهد بود. بنابراین به سراغ متریک‌های ارزیابی توپولوژی می‌رویم. این متریک‌ها با مچ کردن کامپوننت‌های توپولوژیکال مثل مسیرها و زیرگراف‌ها ارزیابی را انجام می‌دهند. به عنوان مثال متریک DIADEM با مچ کردن محل تقسیم شاخه‌ها و پایانه‌ها و توپولوژی بین این نقاط ارزیابی را انجام می‌دهد.

۵. سوال پنجم (۲۰ نمره)

یکی از دو مقاله‌ی زیر را به دلخواه خود انتخاب کرده و ابتدا به صورت خلاصه در یک یا دو پاراگراف در مورد مسئله‌ای که مقاله در پی حل آن است و همچنین متدی که به کمک آن چالش عنوان شده را حل می‌کند، توضیح داده و سپس به سوالات مربوط به مقاله‌ی انتخابی خود پاسخ دهید.

۱. مقاله اول

این مقاله به حل مشکل detect کردن و profiling رویدادهای apoptotic با رویکردی قابل اتکاتر و بدون نیاز به لیبل می‌پردازد. رویکردهای فعلی بر مبنای مارکرهای فلورسنت هستند که دارای محدودیت‌هایی مانند inconsistent بودن و late indication در این زمینه است. این مقاله روشی بر مبنای شبکه‌های عصبی یه ویژه مدلی بر اساس شبکه‌ی ResNet50 را برای شناسایی apoptotic bodies با دقت بالاتر و ارور کمتر ارائه می‌دهد. این روش به تشخیص بهتر apoptosis کمک کرده و شناسایی سلول‌های apoptotic را امکان‌پذیر می‌کند. همچنین اضافه کردن تجزیه و تحلیل apoptotic bodies به تشخیص بدون استفاده از لیبل‌ها کمک می‌کند.
پایپلاین استفاده شده در این مقاله شامل دو شبکه‌ی CNN است. در شبکه‌ی اول از ویدیو به شکل sequence ای از تصاویر به عنوان وردی استفاده می‌کند . به وسیله‌ی شبکه‌ی عصبی تصاویر را برحسب حضور و یا عدم حضور ApoBDs دسته‌بندی می‌کند. سپس با استفاده از سه فریم که شامل ApoBDs هستند زمان cell death را محاسبه می‌کند. در قسمت بعدی به همراه یک timing algorithm، ابتدا ApoDBs را سگمنت کرده و سپس apoptotic cell را شناسایی می‌کند.

(آ) چه چالش‌هایی در رابطه با robustness در تصویربرداری Annexin-V وجود دارد؟
یکی از مشکلات موجود این است که Annexin-V می‌تواند یک مدل دیگری از cell death را هم تحت عنوان necrosis لیبل‌گذاری کند و چالش موجود تمایز بین این دو مدل cell death است. چالش دوم مربوط به این موضوع است که رنگ‌آمیزی Annexin-V می‌تواند نویز ایجاد کند که بر روی کیفیت تصاویر و در نتیجه تحلیل تصاویر تاثیر منفی داشته باشد. این محدودیت‌ها بر روی reliability مدل‌ها تاثیر می‌گذارد.

(ب) به چه علت segment کردن object های ریز در تصاویر پزشکی ارزشمند است؟
سگمنت کردن object های کوچک یکی از چالش‌ها در تحلیل تصاویر پزشکی است اما این کار به ما کمک می‌کند که با افزایش رزولوشن بتوانیم تحلیلی با جزئیات بیشتر و دقت بالاتر در تصاویر بدون نیاز به لیبل‌های فلورسنت که بسیار زمان‌بر هستند داشته باشیم. همچنین سگمنت‌کردن دقیق و موثر object های کوچک به ما قابلیت تحلیل کمی می‌دهد و با استفاده از اطلاعات دقیق در مورد کمیت object ها می‌توانیم اطلاعات ارزشمندی از تصاویر به دست آوریم. همچنین Signal Interference را کاهش می‌دهد و باعث ساده‌سازی Experimental Design می‌شود.

۲. مقاله دوم

مشکلی که این مقاله به دنبال رفع آن است وجود artifact هایی‌ست که در تصاویر میکروسکوپی فلورسانس وجود دارد و به دلیل عوامل نامشخصی مانند دستگاه‌های optical و یا خود نمونه‌ها اتفاق افتاده باشد که می‌تواند تاثیر منفی

زیادی روی کیفیت تصاویر و در نتیجه تحلیل آن‌ها داشته باشد. این مقاله یک راه حل بر مبنای یادگیری عمیق به نام "Self-Corection (SSCOR) Sripe" را معرفی می کند. SSCOR از یک طرح نمونه گیری و یک الگوی self-training برای اصلاح این نوارها با استفاده از patch های بدون این artifact ها استفاده می کند. علاوه بر این، SSCOR به گونه‌ای طراحی شده است که کاربر پسند باشد زیرا نیازی به تخمین پارامترهای فیزیکی، annotation دستی ندارد. متد استفاده شده در این مقاله شامل سه stage است. stage اول مربوط به Proximity Sampling است که patch هایی از تصاویر نرمال و همچنین anomaly به عنوان training-data جدا می‌شوند. در stage بعدی artifact ها توسط دو زیر شبکه که یکی correction و دیگری synthesis network است با رویکرد adversarial با حفظ اطلاعات موجود در تصاویر حذف می‌شوند. همچنین کیفیت تصاویر خروجی توسط discriminator ارزیابی می‌شود. در استیج نهایی با استفاده از شبکه‌ی train شده patch ها اصلاح شده و با ادغام آن‌ها تصویر بدون artifact نهایی را شکل می‌دهند.

(آ) چه مزایایی در patch-based بودن روش ارائه شده نسبت به روش‌های tile-based وجود دارد؟
یک مزیت روش patch-based در مقایسه با tile-based این است که خروجی روش tile-based وابسته به این است که هر کدام از tile ها چگونه با هم ادغام می‌شوند تا تصویر نهایی را بسازند واین حفظ اطلاعات می‌تواند به درستی صورت نگیرد. در مقایسه روش patch-based به عبارتی tolerance بیشتری نسبت به پارتیشن‌های نادقیق و یا موارد دیگری مانند روتیشن دارد. همچنین روش patch-based نمونه‌برداری بهتری انجام می‌دهد از این جنبه که patch ها در مقایسه کوچک‌تر هستند و به ما اجازه‌ی نمونه‌گیری با تعداد بالاتر را می‌دهند و در نتیجه با افزایش تعداد patch های استفاده شده برای train کردن مدل، generalizability مدل افزایش می‌یابد.
(ب) در این مقاله، یکی از متریک‌های استفاده شده intensity profile است. در مورد این متریک توضیح دهید.
متریک اول intensity profile است که اختلاف بین تصویر اصلاح شده و اصلاح نشده را اندازه گیری می کند. intensity ها در ROI ها در جهت موازی با stripe ها محاسبه شدند. intensity profile در قسمت‌های stripes و غیر stripe به ترتیب می‌توانند توانایی حذف artifact ها و حفظ فیچرهای تصویر را نشان دهد.