



УНИВЕРЗИТЕТ
У НОВОМ САДУ



ФАКУЛТЕТ
ТЕХНИЧКИХ НАУКА

Трг Доситеја Обрадовића 6, 21000 Нови Сад, Република Србија
Деканат: 021 6350-413; 021 450-810; Централa: 021 485 2000
Рачуноводство: 021 458-220; Студентска служба: 021 6350-763
Телефакс: 021 458-133; e-mail: ftndean@uns.ac.rs

ИНТЕГРИСАНИ
СИСТЕМ
МЕНАџМЕНТА
СЕРТИФИКОВАН ОД:



Наш број: 01.сл

Ваш број:

Датум: 2014-11-28

ИЗВОД ИЗ ЗАПИСНИКА

Наставно-научног већа Факултета техничких наука у Новом Саду, на 31. редовној седници одржаној дана 26.11.2014. године, донело је следећу одлуку:

-непотребно изостављено-

Тачка 12.1. Верификација нових техничких решења и именовање рецензента

Тачка 12.1.7: У циљу верификације новог техничког решења усвајају се рецензенти:

1. Др Никола Зоговић, научни сарадник, Институт Михајло Пупин, Београд
2. Доц. др Оливера Швељо, Центар за имиџинг Института за онкологију, Сремска Каменица

Назив техничког решења:

УБРЗАЊЕ АКВИЗИЦИЈЕ ФЛОУРЕСЦЕНТИХ ДВОФОТОНСКИХ МИКРОСКОПСКИХ СЛИКА

Аутори техничког решења: Тамара Теранић, Дејан Пантелић, Бранислав Јеленковић, Александар Крмпот, Михаило Рабасовић и Драгана Бајић.

-непотребно изостављено-

Записник водила:

Јасмина Димић, дипл. правник

Тачност података оверава:
Секретар

Иван Нешковић, дипл. правник



Проф. др Радослав Дорословачки

РЕЦЕНЗИЈА ТЕХНИЧКОГ РЕШЕЊА

1. Подаци о техничком решењу

- Назив техничког решења: Убрзање аквизиције флуоресцентних двофотонских микроскопских слика
- Ознака техничког решења: TP32040_14_01
- Категорија техничког решења: Нова метода (алгоритам) - M85
- Назив пројекта: Развој мултиваријабилних метода за аналитичку подршку биомедицинској дијагностици, у сарадњи са пројектима, Генерисање и карактеризација нанофотонских функционалних структура у биомедицини и информатици и Холографске методе генерисања специфичних таласних фронтова за ефикасну контролу квантних кохерентних ефеката у интеракцији атома и ласера - III45016 и OII71038
- Ознака пројекта: TP32040
- Руководилац пројекта: Проф. др Драгана Бајић
- Организација: Факултет техничких наука – УНС¹ и Институт за физику Земун²
- Одговорно лице: Тамара Ђеранић
- Реализатори: Тамара Ђеранић¹, Дејан Пантелић², Бранислав Јеленковић², Александар Крмпот², Михаило Рабасовић² и Драгана Бајић¹

2. Евалуација техничког решења

1. **Сажетак описа техничког решења:**
У оквиру пројекта Института за физику конструисан је нелинеарни двофотонски ласерски скен микроскоп. Показало се да је аквизиција веома дугачка јер се снимање вишеструко понавља како би се, једноставним усредњавањем, у што већој мери елиминисао шум. Предложено техничко решење уводи и анализира методе за обраду слике прилагођене специфичном шуму, које, користећи знатно мањи број поновљених снимака, генеришу слике поредљивог квалитета. У решењу се уводи алгоритам за предобраду слике, а за финалну обраду предложена је једна од могућих СВД метода. Техничко решење пореди и друге могуће методе, уз приказ и поређење резултата.
2. **Релевантност техничког решења за примењену област:**
Техничко решење је значајно јер уводи поступак прилагођен карактеристичном шуму микроскопа и решава проблем времена обраде. Поред тога, решење може да се примени и на друге, комерцијалне, ласерске микроскопе који такође захтевају поновљена снимања (на пример у Сремској Каменици).
3. **Проблем који се решава:** Решава се проблем предугачког времена аквизиције. За добијање 3Д слике потребно је снимити на више различитих дубина, а на свакој дубини се снимање понавља 20 до 50 пута. Хардверско убрзање је доведено до граница, даља убрзања су могућа само софтверском обрадом која редукује број потребних слика на једној дубини.
4. **Стање решености истог проблема у свету:** Оваквих микроскопа нема много а конкретно овај је развијен на Институту за физику. У доступној литератури

може се наћи само неколико радова који су тек начели овај проблем. Радови су излистани у списку литературе.

5. **Квалитет објашњења и описа решења:** Решење је јасно изложено на разумљив начин.
6. **Применљивост резултата рада:** Ово техничко решење може да се користи не само за конкретан микроскоп који је конструисан у Институту за физику, већ за сваки ласерски микроскоп који захтева понављање снимања једне слике у циљу елиминације шума. Конкретно, такав проблем се јавио у Институту за онкологију у Сремској Каменици..
7. **Научни допринос:** Предложена је нова техника елиминације шума из двофотонских ласерских микроскопа.

ОПШТА ОЦЕНА КВАЛИТЕТА РАДА:

Решење је комплетно и квалитетно урађено.

Да ли се техничко решење прихвата (Да или Не):

Да, решење се прихвата.

3. Квалитети техничког решења

Ово техничко решење је, коришћењем погодног метода предобраде слике која је загађена карактеристичним шумом нелинеарног двофотонског ласерског микроскопа, уз избор једног од СВД поступака, омогућило скраћену аквизицију слике, односно значајно смањење времена снимања. Субјективни квалитет слике је остао неизмењен.

4. Примедбе на техничко решење

Немам суштинских примедби на ово техничко решење.

Београд, 19. 12. 2014.

Рецензент:



доцент др Оливера Швељо,
Центар за имидинг Института за
онкологију, Сремска Каменица

РЕЦЕНЗИЈА ТЕХНИЧКОГ РЕШЕЊА

1. Подаци о техничком решењу

- Назив техничког решења: Убрзање аквизиције флуоресцентних двофотонских микроскопских слика
- Ознака техничког решења: TP32040_14_01
- Категорија техничког решења: Нова метода (алгоритам) - M85
- Назив пројекта: Развој мултиваријабилних метода за аналитичку подршку биомедицинској дијагностици, у сарадњи са пројектима, Генерисање и карактеризација нанофотонских функционалних структура у биомедицини и информатици и Холографске методе генерисања специфичних таласних фронтова за ефикасну контролу квантних кохерентних ефеката у интеракцији атома и ласера - П45016 и ОИ171038
- Ознака пројекта: TP32040
- Руководилац пројекта: Проф. др Драгана Бајић
- Организација: Факултет техничких наука – УНС¹ и Институт за физику Земун²
- Одговорно лице: Тамара Ћеранић
- Реализатори: Тамара Ћеранић¹, Дејан Пантелић², Бранислав Јеленковић², Александар Крмпот², Михаило Рабасовић² и Драгана Бајић¹

2. Евалуација техничког решења

1. **Сажетак описа техничког решења:**
Техничко решење разматра проблем времена снимања узорака за која се користи нелинеарни двофотонски ласерски микроскоп који је у потпуности домаће израде, конструисан и реализован на Институту за физику у Земуну. Да би се елиминисао шум, снимање се понавља 20 до 50 пута а финална слика се добија израчунавањем средње вредности снимака. Квалитет такве слике је задовољавајући, али снимање предуго траје. Ово техничко решење дискутује могућност примене познатих метода обраде слике које на овим сликама не дају задовољавајућа решења. Затим се уводи решење које комбинује алгоритам за предобраду слике са одабраном СВД методом. Тако се, са мање снимака, добија квалитет поредљив са усредњавањем већег броја слика.
2. **Релевантност техничког решења за примењену област:**
Решење је значајно из више разлога: прво, ради се о значајно смањеном времену снимања, а друго, за потребе одабира алгоритма потребно је анализирати карактеристике шума, што у доступној литератури није на адекватан начин урађено.
3. **Проблем који се решава:**
Нелинеарном двофотонском ласерском микроскопу придружен је софтвер за 3Д реконструкцију, што значи да, за сваку 3Д слику треба снимати на различитим дубинама, односно потребно је више десетина слојева слике. За сваки слој је потребно поновити снимање од 20 до 50 пута. Хардверско убрзање подразумева понављања снимања једне линије (пре него што се пређе на следећу) уз наизменично снимање напред-натраг. Дање убрзање је могуће само смањивањем броја слика на једној дубини.

4. **Стање решености истог проблема у свету:**
Доступна литература која се бави сличним проблемима сумирана је у техничком решењу. Радова нема много, нови су, а ни један се не односи на баш овакав тип микроскопа. Може се рећи да се тек започело са решавањем овог проблема. Додатно, не постоји ни модел шума, постоје само хипотезе које се у нашем случају нису потврдиле.
5. **Квалитет објашњења и описа решења:**
Начин излагања овог решења је разумљив, објашњења следе једно из другог и илустрована су примерима. Стручњак из области може да га имплементира.
6. **Применљивост резултата рада:**
Сваки ласерски микроскоп који захтева понављање снимака а има шум сличних карактеристика може да користи ово техничко решење за убрзање рада смањењем броја потребних слика.
7. **Научни допринос:**
Предложена је нова техника елиминације шума из двофотонских ласерских микроскопа.

ОПШТА ОЦЕНА КВАЛИТЕТА РАДА:

Решење је комплетно и квалитетно урађено.

Да ли се техничко решење прихвата (Да или Не):

Да, решење се прихвата.

3. Квалитети техничког решења

Ово техничко решење је, коришћењем погодног метода предобраде слике која је загађена карактеристичним шумом нелинеарног двофотонског ласерског микроскопа, уз избор једног од СВД поступака, омогућило скраћену аквизицију слике, односно значајно смањење времена снимања. Субјективни квалитет слике је остао неизмењен.

4. Примедбе на техничко решење

Немам суштинских примедби на ово техничко решење.

Београд, 19. 12. 2014.

Рецензент:



др Никола Зоговић, научни сарадник,
Институт Михајло Пупин, Београд

UBRZANJE AKVIZICIJE FLUORESCENTNIH DVOFOTONSKIH MIKROSKOPSKIH SLIKA

AUTORI: Tamara Čeranić, Dejan Pantelić, Branislav Jelenković,
Aleksandar Krmpot, Mihailo Rabasović i Dragana Bajić

Univerzitet u Novom Sadu,
Fakultet tehničkih nauka,
Katedra za telekomunikacije i obradu signala
Institut za fiziku, Zemun

TIP TEHNIČKOG REŠENJA: M85

ZAVRŠENO: 2014.

OBLAST: Telekomunikacije i obrada podataka

KORISNICI: Institut za fiziku u Beogradu, Centar za imidzing Sremska
Kamenica

RAZVIJENO: U okviru projekta "Razvoj multivarijabilnih metoda za analitičku podršku biomedicinskoj dijagnostici" (TR 32040) za podršku projektima "Generisanje i karakterizacija nanofotonskih funkcionalnih struktura u medicini i informatici" i "Holografske metode generisanja specifičnih talasnih frontova za efikasnu kontrolu kvantnih koherentnih efekata u interakciji atoma i lasera" - III45016 i OI171038.

Kratak opis

Fluorescentna mikroskopija omogućava vizualizaciju najsitnijih detalja bioloških procesa sa prostornom rezolucijom od nekoliko nanometara do nekoliko centimetara. Mogućnost posmatranja ćelija uživo (*in vivo*) u svom prirodnom okruženju dovodi do široke primene fluorescentnih mikroskopa u različitim istraživačkim oblastima kao što su biomedicina, biologija i sl. Uprkos razvoju sofisticirane mikroskopske tehnike (optičkih uređaja, mikroskopskih objektiv, laserskih izvora), ograničenje nametnuto prirodnom interakcijom svetlosti i snimanog uzorka (apsorpcija, rasipanje svetlosti, slučajni broj emitovanih fotona) otežava uticaj na krajnji kvalitet mikroskopske slike.

Šum nastao prilikom snimanja uzoraka fluorescentnim mikroskopima potiče iz više izvora. Neretko dominira šum fotonskog snopa, u potpunosti zavisao od signala, ali ne treba zanemariti ni uticaj termalnog šuma, šuma pozadine, šuma

fluorofora. Dodatno, potpuno slučajna priroda emitovanih/detektovanih fotona otežava pravilan odabir strategije za obradu mikroskopske slike.

Na Institutu za fiziku u Beogradu konstruisan je nelinearni dvo-fotonski laserski sken mikroskop. Najznačajnija prednost ovog instrumenta je velika mogućnost rasipanja svetlosti kako po površini tako i po dubini. Za pobudu se koristi infracrveni deo spektra, što povoljno utiče na smanjenje mogućnosti oštećenja snimanog uzorka. Uprkos velikim mogućnostima koje nudi dvo-fotonski laserski skeniran mikroskop, korisniku nisu dostupni svi detalji snimljenog uzorka zbog lošeg kvaliteta slike. Kako bi se dobila slika odgovarajućeg kvaliteta, korisnici su prinuđeni da ponove snimanje i do nekoliko desetina puta (čak i do 50 puta) za odgovarajuću dubinu slike. Jasno je da za formiranje 3D slike uzorka vreme snimanja postaje preterano dugo.

Jedno rešenje za bržu akviziciju slike zadovoljavajućeg kvaliteta je uvođenje adekvatne i vremenski nezahtevne obrade manjeg broja ponovljenih slika, umesto usrednjavanja većeg broja slika.

Ovo Tehničko rešenje opisuje algoritam za predobradu mikroskopske slike kao i izbor odgovarajuće metode za obradu mikroskopske slike zasnovan na SVD metodi.

Po našim saznanjima, u dosadašnjoj literaturi SVD metode nije korišćena za obradu fluorescentnih dvofotonskih/multifotonskih mikroskopskih slika. SVD metodom vrši se filtracija u prostoru u kome su promenjive nekorelisane, što predstavlja jednu od njenih prednosti.

TEHNIČKE KARAKTERISTIKE REŠENJA: Tehničko rešenje je verifikovano na 2D signalima snimljenim pomoću ručno konstruisanog dvo-fotonskog laserski skeniranog mikroskopa na Institutu za fiziku u Beogradu. Za implementaciju metode obrade i predobrade korišćen je softver razvijen u Matlabu.

PRIMENA: Predloženi postupak može se primenjivati za obradu mikroskopskih slika snimljenih pomoću bilo kog fluorescentnog mikroskopa, mada je razvijen prevashodno za dvo-fotonski laserski sken mikroskop samostalno razvijen na Institutu za fiziku u Beogradu.

Abstract: Na Institutu za Fiziku u Beogradu samostalno je konstruisan nelinearni dvo-fotonski laserski sken mikroskop. Loš kvalitet mikroskopske slike zahteva je višestruko ponavljanje snimanja uzorka čijim se usrednjavanjem redukuje šum iz slike. Zadatak Tehničkog rešenja je da se adekvatnom obradom mikroskopske slike smanji vreme utrošeno na ponovljena snimanja a pri tome očuvaju korisne informacije o signalu. U Tehničkom rešenju predložen je algoritam za predobradu slike kao i odabir jedne od mogućih SVD metoda za obradu mikroskopskih slika. Tehničko rešenje nalazi svoju primenu u obradi dvo-fotonski laserski skeniranih mikroskopskih slika u vidu softvera koji omogućuje brzu i efikasnu obradu slike.

Stanje u svetu

O širokoj primeni fluorescentne mikroskopije kao i potrebi za unapređenjem obrade slike svedoči razvoj brojnih savremenih metoda za otklanjanje šuma iz mikroskopske slike. U skorašnjoj literaturi predložene su metode bazirane na BM3D (*Block Match*) 3D filtru (2014-ta godina) [1], adaptivnom ONLM (*Optimized Nonlocal Means*) filtru sa procenom varijanse šuma u wavelet domenu (*Collaborative Approach for eNhanced Denoising under Low-light Excitation* – CANDLE metoda, 2012-ta godina) [2] i PURE-LET (*Poisson-Gaussian Unbiased Risk Estimate – Linear Expansion of Threshold*) metoda zasnovana na otklanjanju šuma u wavelet domenu uz upotrebu adaptivnih pragova (2009-ta godina) [3]. Metode su validirane na dvo-fotonskim laserski skeniranim mikroskopskim slikama, 3D multi-fotonskim laserski skeniranim mikroskopskim slikama i fluorescentnim slikama sa malim brojem detektovanih fotona, respektivno. Pomenute metode uglavnom se zasnivaju na prilagođavanju tradicionalnih metoda za obradu slike (definisanjem adaptivnih pragova i sl.) ili kombinaciji više poznatih metoda kako bi se postigli željeni rezultati.

O složenosti problema svedoči i činjenica da je još uvek otvoreno pitanje modelovanja šuma [2]. Na početku šum se modelovao Gausovom raspodelom lokalne stacionarnosti, potom Poasonovom raspodelom dok se u skorašnjoj literaturi pominje miks Poasonove raspodele i Gausove raspodele [2]. Bez obzira da li se za detekciju signala koriste fotomultiplikatorske cevi ili digitalna kamera, usvojen je isti model šuma, kombinacija Poasonove i Gausove raspodele [1]. Stoga, pomenute metode možemo podeliti na one koje se bore direktno sa izvornim šumom (PURE-LET) i na metode koje „gausinizacijom” pokušavaju prilagoditi šum obradama razvijanim prvenstveno za otklanjanje Gausovog šuma (CANDLE metoda i BM3D filter) .

Metoda, koju opisujemo ovim tehničkim rešenjem, smanjuje uticaj izvornog šuma i time izbegavamo upotrebu standardnih transformacija za stabilizaciju varijanse („gausinizaciju”) koje obično i nisu uvek efikasne kada su u pitanju signali niskog intenziteta [3].

Analiza problema i opis rešenje

1. Tehnički opis mikroskopa

Na Institutu za fiziku u Beogradu konstruisan je nelinearni dvo-fotonski laserski sken mikroskop. Za pobudu autofluorescencije uzoraka korišćeni su femtosekundarni laserski impulsi. Ozračavanje se najčešće vršilo u infracrvenom delu spektra čime se minimizovala apsorpcija svetlosti kroz tkiva uzoraka. Simultanim delovanjem dva fotona (što je ekvivalent delovanju jednog fotona dvostruko veće energije) postignuta je lokalizovanost u veoma maloj oblasti oko fokalne tačke. Time se dobija odlično razlaganje, kako po površini, tako i po dubini uzorka, što je jedna od najvažnijih prednosti ovakvog instrumenta. Osim toga, ozračavanje se vrši na jednoj talasnoj dužini, sa optičkim efektima koji su ekvivalenti ozračavanju uzorka svetlošću dvostruko

manje talasne dužine. Ovo je značajna prednost kod bioloških uzoraka jer se smanjuje mogućnost oštećenja tkiva i ćelija.

Ručno konstruisani mikroskop, za pobudu koristi titan-safirni laser, čija se talasna dužina može podešavati u intervalu od oko 800-900 nm. Laserski snop se preko dva skenerska ogledala uvodi u mikroskop, koji svetlost fokusira na površinu uzorka. Zračenje dobijeno dvofotonskom pobudom se dihroičnim filterom odvaja od pobudnog i detektuje foto-multiplikatorom. Računar upravlja procesom rasterskog skaniranja i detekcijom fluorescentnog signala, uz upotrebu akvizicione kartice [4].

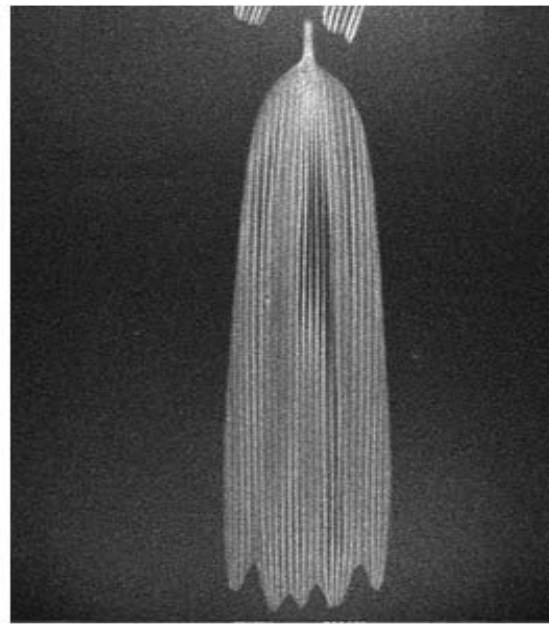
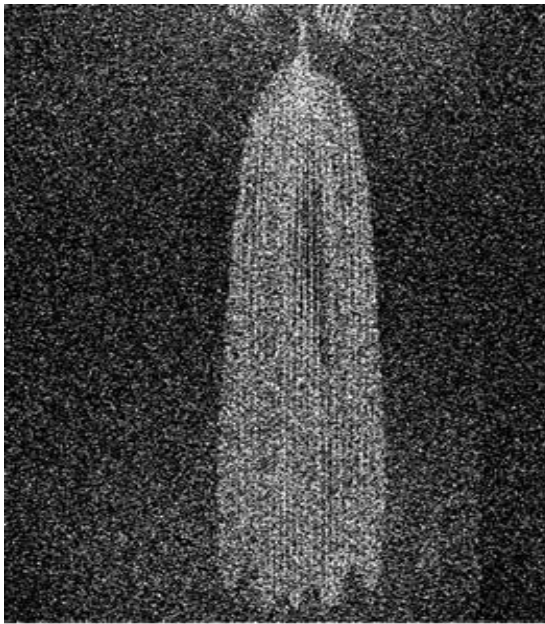
2. Način snimanja mikroskopske slike

Uzorci se snimaju liniju po liniju. Nakon završenog višestrukog snimanja jedne linije prelazi se na snimanje naredne linije. Laserski snop praćen skenerima kreće se prvo sa leva na desno. Potom se šalje signal za promenu smera kretanja skenera i započinje snimanja linije uzorka, zdesna nalevo. Po prijemu signala obaveštenja o promeni smera kretanja, po inerciji ogledalo nastavlja kretanje u istom smeru i tek nakon određenog vremena uspeva da se okrene.

U tekstualnom fajlu zapisuju se vrednosti piksela (u opsegu od 0 do 0.1), kao i broj ponovljenih snimanja linije i dimenzije slike. Rekonstrukcija slike vrši se na osnovu dostupnih podataka iz tekstualnog fajla i eksperimentalnim putem utvrđenog kašnjenja koje unosi kretanje ogledala [4].

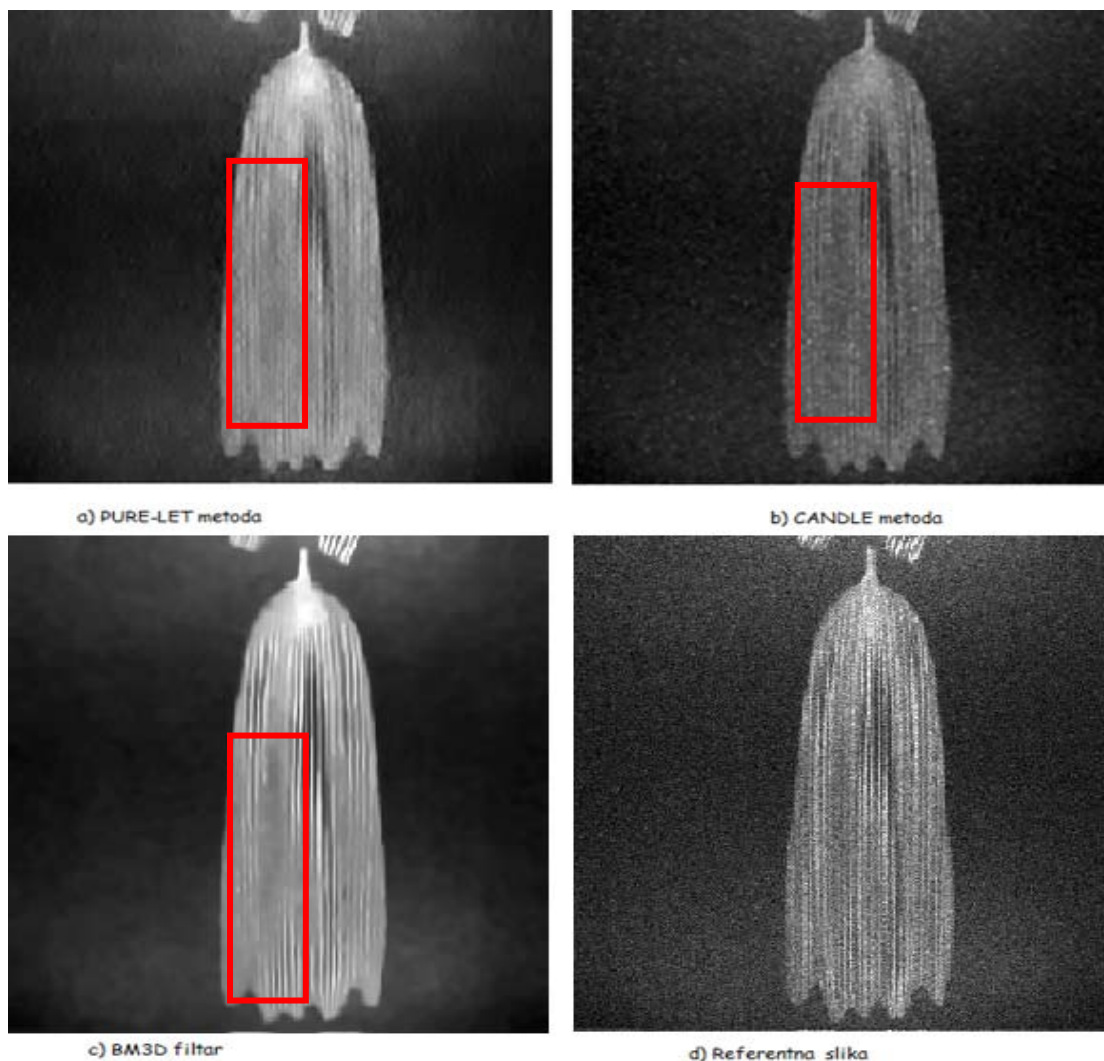
3. Analiza šuma/problema

Na pojedinačnim slikama uzoraka primećeno je intenzivno prisustvo šuma i potpuna slučajna raspodela šuma što dodatno otežava obradu slike. Zbog lošeg kvaliteta mikroskopske slike neophodno je višestruko ponavljati snimanje uzorka kako bi usrednjavanjem potisnuli šum iz slike i time dobili zadovoljavajuću referentnu sliku (Sl. 1.).



Sl. 1. a) Slika ljuspice sa krila noćnog leptira (*Diachrysia chrysitis*) b) Rezultat usrednjavanja 50 pojedinačnih slika uzorka.

Jedan od načina za smanjenje utrošenog vremena na ponovljena snimanja jesete i odabir adekvatne metode za otklanjanje šuma iz signala. Testirali smo postojeće metode za obradu fluorescentnih mikroskopskih slika na snimku ljuspice sa krila noćnog leptira (*Diachrysia chrysitis*). Referentna slika je dobijena usrednjavanjem 50 pojedinačnih snimaka (Sl. 2d). Na Sl. 2a, 2b i 2c prikazani su rezultati PURE-LET metode, CANDLE metode i BM3D filtra (respektivno) na 10 ponovljenih snimaka uzorka.

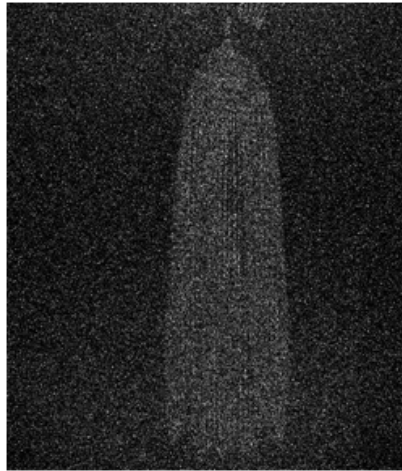


Sl. 2. Uporedni prikaz rezultata obrade 10 ponovljenih snimanja metodama PURE-LET (Sl. 2a), CANDLE metoda (Sl. 2b) i BM3D filtra (Sl. 2c). Na Sl. 2d prikazana je referentna slika, dobijena usrednjavanjem 50 ponovljenih snimaka.

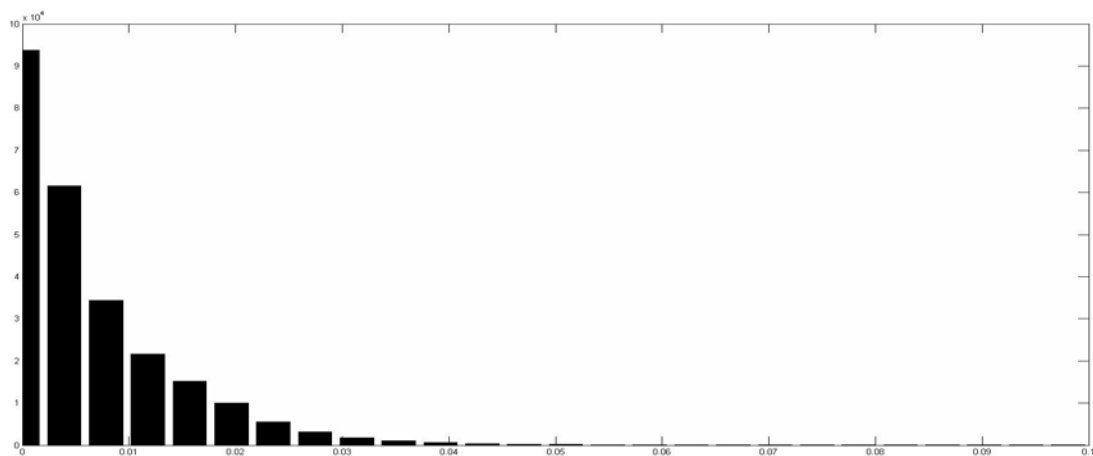
Na Sl.2 primetna je redukcija šuma ali i degradacija informacija signala (najugroženiji delovi signala označeni su crvenim pravouganikom).

S obzirom na to da pomoću postojećih metoda nisu postignuti željeni rezultata, urađena je detaljnu analizu šuma. Posmatrali smo nezavisno 1D signale (jedna linije slike) u vremenskom i frekvencijskom domenu. Način snimanja signala nam je omogućio da pretpostavimo nezavisnosti između linija. Poredili smo odgovarajuću liniju pojedinačnog snimka (figuriše „šum“ iako postoji deo korisnog signala) i odgovarajuću liniju referentne slike (figuriše „signal“ iako je delimično prisutan šum). Rezultati nas nisu doveli do karakteristika filtra koje bi trebalo da koristimo za obradu slike. Furijeovi spektri u frekvencijskom domenu su se preklapili. Takođe, primećeno je da su najniže vrednosti amplituda kvantovane na određeni nivo. Analizu smo ponovili i na 2D signalima. Međutim, ni obradom 2D signala nismo uspeali otkriti kriterijum za filtraciju šuma iz signala.

Poasonovom raspodelom se modeluje šum nastao usled nedovoljnog broja detektovanih fotona (šum je zavistan od signala), dok šum nastao iz drugih izvora (termalni šum, fluktuacije elektrona akvizicione opreme i sl.) modeluje se aditivnim Gausovim šumom i smatra se nezavisnim od signala [5]. Sa ciljem da otkrijemo koji od izvora šuma je najdominatniji, posmatrali smo raspodelu šuma. Uzorci koje smo posmatrali nisu promenjivi u vremenu tako da oduzimanjem dve slike istog uzorka dobijamo vrednosti šuma. Na Sl. 3. primetno je povećano prisustvo šuma u predelima gde postoje signal, što svedoči o zavisnosti šuma od signala. Raspodela šuma je prikazana na Sl. 4.



Sl. 3. Razlika dva pojedinačna snimka istog uzorka.

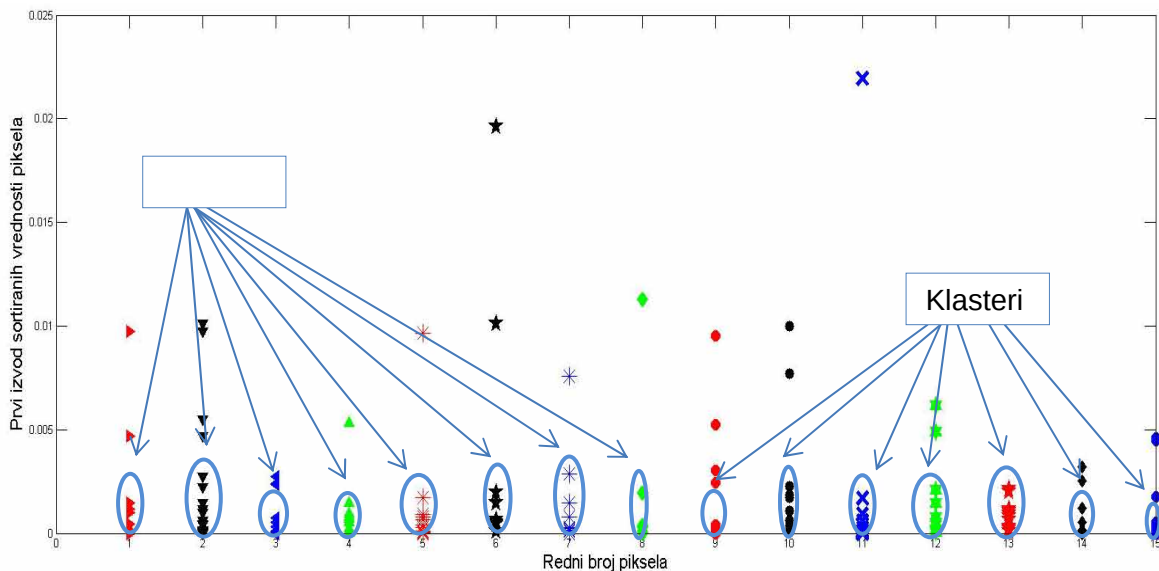


Sl. 4. Histogram šuma.

4. Algoritam za predobrada signala

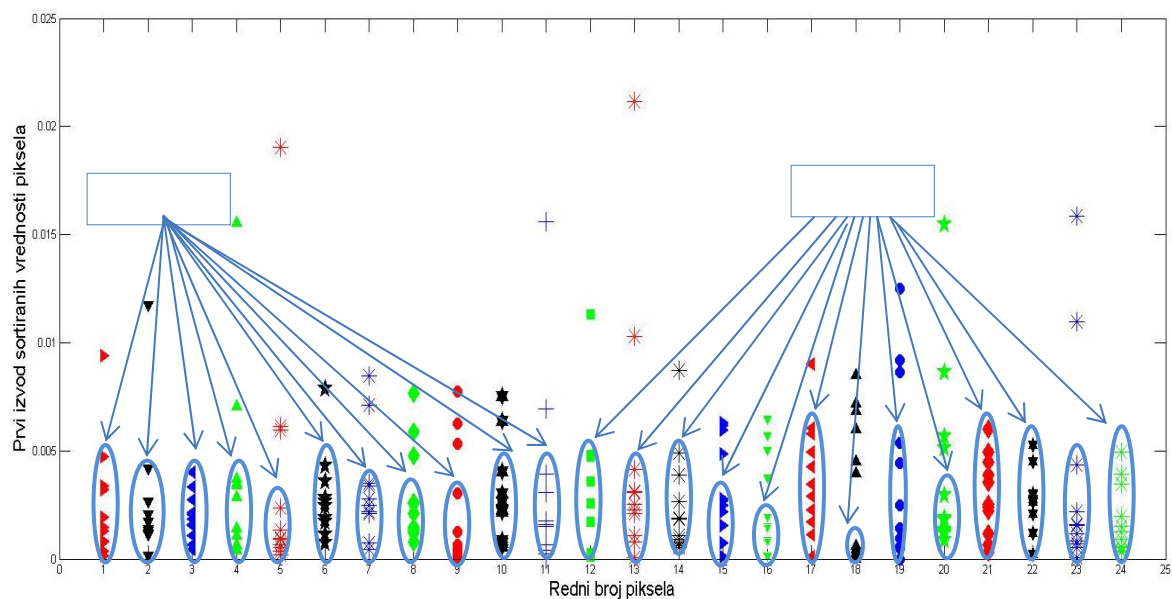
Uočili smo da bi tradicionalnim metodama dobili značajno bolji rezultat ukoliko bi signali snimljeni na ručno konstruisanom dvo-fotonski laserski skaniranom mikroskopu pretrpeli određenu predobradu. Jasno je, predobradom sirovih snimaka ne smemo izgubiti korisne informacije iz signala.

Posmatrali smo vrednosti piksela na istim pozicijama na 12 uzastopnih snimanja. Odabrali smo deo slike koji predstavlja pozadinu (*background*) signala. Posmatrane vrednosti piksela nisu nosile nikakve korisne informacije o signalu. Nakon sortiranja vrednosti piksela, uradili smo prvi izvod sa namerom da uočimo maksimalnu promenu u vrednostima piksela. Većina piksela ima približno iste vrednosti, te se samo neke od njih značajnije razlikuju. Pretpostavka je da baš ove vrednosti negativno utiču na otklanjanje šuma usrednjavanjem. Naime, iako ih je malo drastično se razlikuju od ostalih vrednosti, te imaju veći uticaj na krajnji rezultat dobijen usrednjavanjem (Sl. 5).



Sl. 5. Prikaz prvog izvoda vrednosti piksela na istim pozicijama 12 uzastopnih snimaka (*background*)

Isti postupak smo ponovili za deo slike u kome se nalazi signal. Pored korisnih informacija o signalu ove vrednosti piksela imaju u sebi i nekoristan deo (šum) (Sl. 6). Primećujemo da postoje veće razlike između vrednosti prvog izvoda piksela u poređenju sa šumom (*background*). Pretpostavljamo da je to posledica dominantnijeg šuma fotonskog snopa u prisustvu signala.



Sl. 6. Prikaz prvog izvoda vrednosti piksela na istim pozicijama 12 uzastopnih snimaka (signal)

Prag na osnovu koga se vrši predobrada definisan je kao najveća vrednost piksela koji formiraju klaster (grupu). Svim vrednostima piksela većim od pomenutog praga dodeljuje se minimalna vrednosti piksela koji pripada klasteru. Nakon izvršene predobrade, primenili smo SVD metodu na svaki pojedinačni snimak.

5. SVD

SVD metodom transformišemo korelisane promenjive u skup nekorelisanih promenjivih sa namerom da bolje predstavimo različite veze između originalnih podataka [6]. SVD metodu možemo tumačiti na više načina. Ovom metodom moguće je vršiti redukciju dimenzionalnosti ili identifikovati i ređati dimenzionalnosti duž kojih podaci ispoljavaju najveću varijaciju [6]. Takođe, metodu možemo koristiti za filtraciju podataka tako što zadržavamo nekorelisane promenjive sa većom energijom, pod pretpostavkom da one nose koristan deo informacija i eliminišemo promenjive sa manjom energijom uz pretpostavku da one predstavljaju šum.

Metoda je bazirana na teoremi linearne algebre koja govori da pravougaona matrica X (m -vrsta i n -kolona) može biti faktorizovana na proizvod tri matrice – ortogonalne matrice $U = [u_1, u_2, \dots, u_m]$, dijagonalne matrice S (samo na glavnoj dijagonali su vrednosti veće od nule, označene sa σ_i) i transponovane ortogonalne matrice $V = [v_1, v_2, \dots, v_n]$

$$U^T X V = \text{diag}(\sigma_1, \sigma_2, \dots, \sigma_p) \quad (1)$$

gde su $\sigma_1 \geq \sigma_2 \geq \dots \geq \sigma_p \geq 0$, σ_i sopstvene vrednosti matrice X , a vektori u_i i v_i su i -ti levi sopstveni vektor i i -ti desni sopstveni vektor, respektivno [7].

U literaturi se često faktorizacija matrice X prikazuje u sledećem obliku:

$$X_{mn} = U_{mm} S_{mn} V_{nn}^T \quad (2)$$

što se svodi na izraz (1), poštujući osobinu ortonormalnih matrica $U^{-1} = U^T$.

Ako definišemo r (rank matrice X) tako da važi $\sigma_1 \geq \sigma_2 \geq \dots \geq \sigma_r > \sigma_{r+1} = \dots = \sigma_p = 0$, $\text{null}(X) = \text{span}(v_{r+1}, \dots, v_n)$, $\text{ran}(X) = \text{span}(u_1, \dots, u_r)$, SVD matrice X možemo zapisati i na sledeći način:

$$X = \sum_{i=1}^r u_i \sigma_i v_i^T \quad (3)$$

[7].

Ukupna energija matrice X , $E[X]$ je definisana preko Frobenius norme matrice X , dimenzija $m \times n$

$$\|X\| = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 \quad (4)$$

[8].

Frobenius normu matrice X , ranka r , možemo zapisati i na sledeći način:

$$\|X\| = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n x_{ij}^2 = \sum_{k=1}^r \sigma_k^2 \quad (5)$$

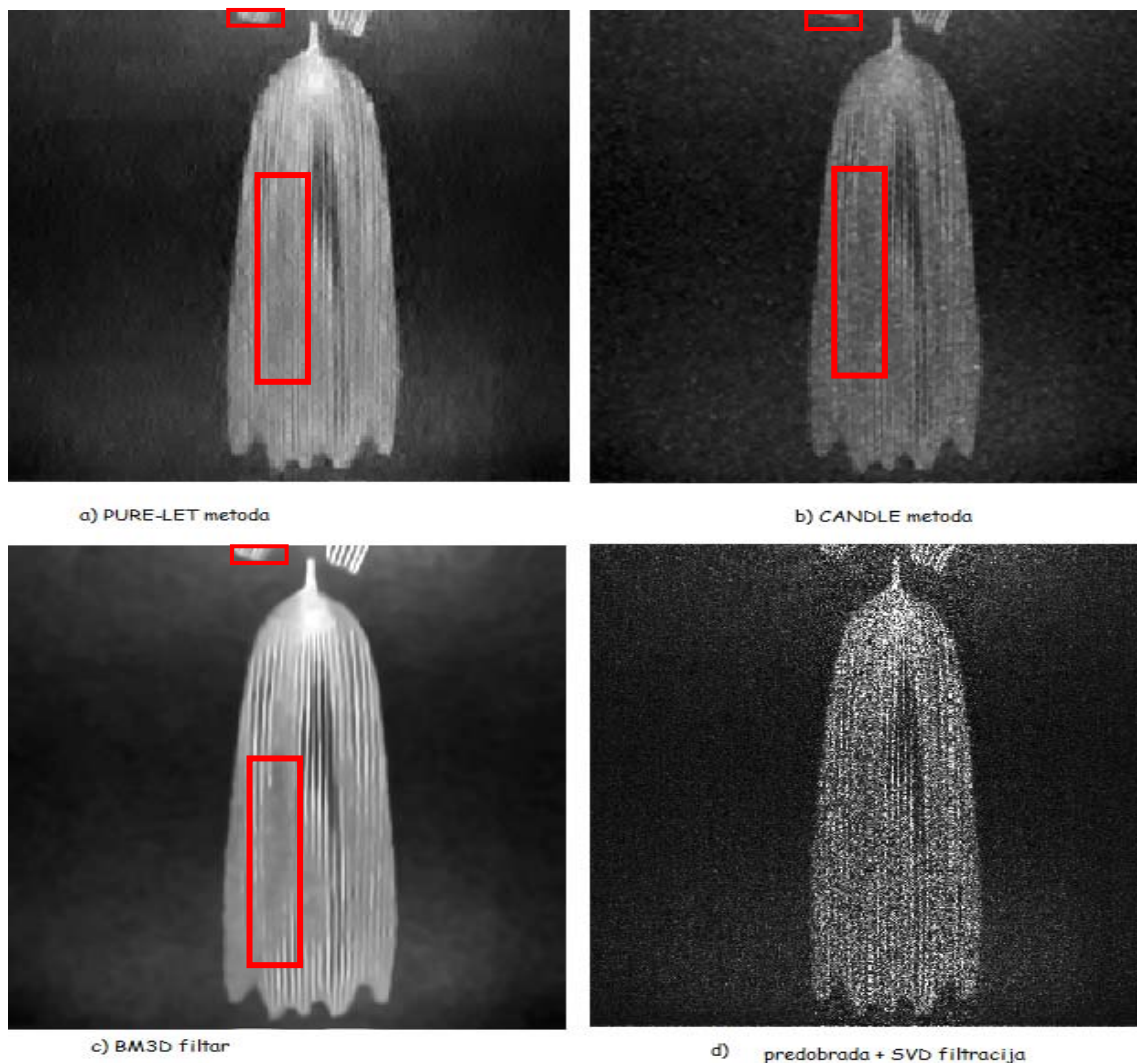
gde su σ_k sopstvene vrednosti matrice X . Ukupna energija vektora sekvence $\{x_k\}$ pridruženim matrici X kao što je definisano u (4) je jednaka energiji sopstvenog spektra [8]. Najmanje nenulte sopstvene vrednosti odgovaraju rastojanjima Frobenius norme matrice najbliže matrici nižeg ranka [8].

Lema: Neka $m \times n$ matrica X ima SVD kao što je zapisano u (2). Kolone matrice U su sopstveni vektori od Gramian matrice $X X^T$. Vrstice matrice V su sopstveni vektori od Gramian matrice $X^T X$. Pozitivni realni brojevi σ_i je nenulte sopstvene vrednosti matrice X ako i samo ako su σ_i^2 je nenulte sopstvene vrednosti oba proizvoda $X X^T$ i $X^T X$ [8].

Filtriranje šuma smo vršili tako što smo posmatrali p najznačajnijih sopstvenih vektora, $Y = U S_p V^T$ eliminišući na taj način šum (nekorelisane promenjive sa najmanjom energijom).

6. Rezultati obrada mikroskopske slike

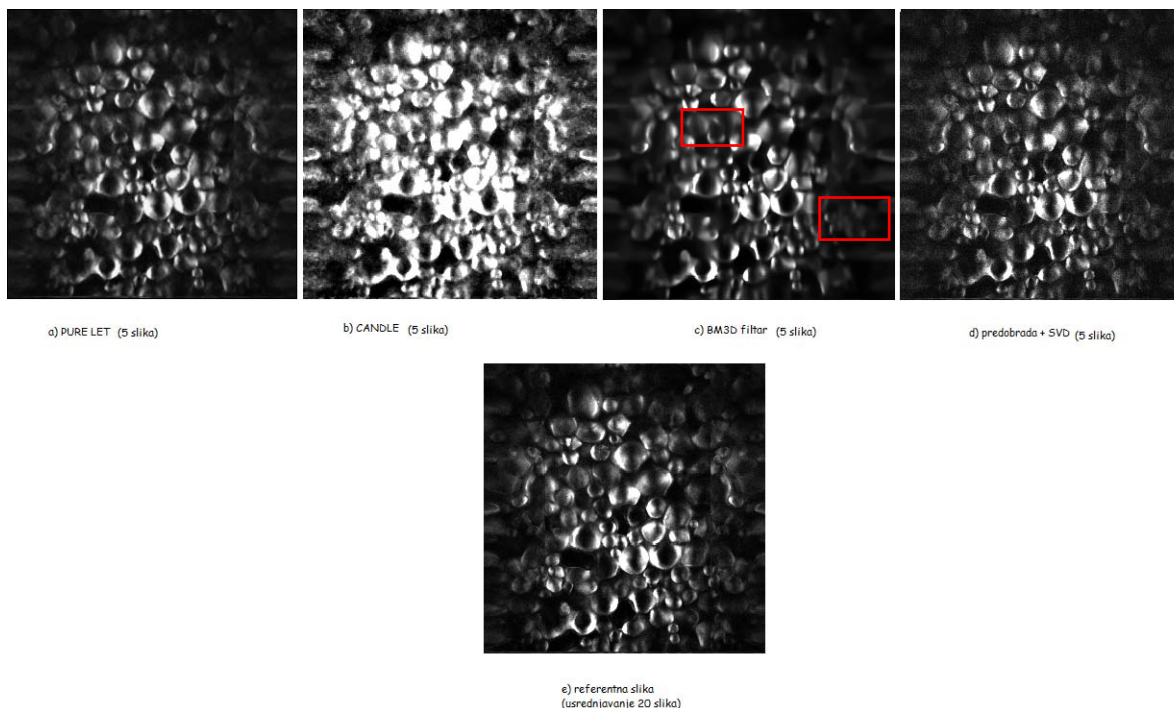
Sa namerom da redukujemo uticaj šuma na kvalitet slike izvršili smo poboljšanje sirovih podataka. Nakon toga, svaki pojedinačni snimak filtriran je SVD metodom, redukcijom dimenzionalnosti. Krajnji rezultat, dobijen sumiranjem 10 pojedinačno obrađenih slika je prikazan na Sl. 7d.



Sl. 7. Uporedni prikaz rezultata obrade 10 ponovljenih snimanja metodama PURE-LET (Sl. 7a), CANDLE metoda (Sl. 7b), BM3D filtra (Sl. 7c) i predobrada sirovih slika+ SVD filtracija (Sl. 7d).

U poređenju sa pomenuti metodama PURE-LET (Sl. 7a), CANDLE metoda (Sl. 7b), BM3D filtra (Sl. 7c), SVD filtracijom sa odgovarajućom predobradom očuvani su detalji (Sl. 7d).

Metodu (algoritam za predobradu + SVD) smo testirali i na snimcima skroba. Korisnik je zadovoljan referentnom slikom dobijenom usrednjavanjem 20 ponovljenih snimanja (Sl. 8e). Rezultati dobijeni obradom 5 pojedinačnih snimaka prikazani su na Sl. 8. Nakon obrade slike BM3D filtrom (Sl. 8c) uočena je degradacija korisnih informacija signala (označena crvenim pravougaonikom). Rezultati obrade snimaka CANDLE metodom (Sl. 8b) drastično se razlikuju od referentne slike (Sl. 8e). PURE-LET metoda (Sl. 8a) u ovom slučaju daje prihvatljivo rešenje.



Sl. 8. Uporedni prikaz rezultata obrade 5 ponovljenih snimanja metodama PURE-LET (Sl. 8a), CANDLE metoda (Sl. 8b), BM3D filtra (Sl. 8c) i predobrada sirovih slika+ SVD filtracija (Sl. 8d) i referentne slike (Sl. 8e).

Zaključak i primena

Predloženo Tehničko rešenje prevashodno je razvijano za obradu dvo-fotonskih laserski skeniranih mikroskopskih slika prikupljenih pomoću ručno konstruisanog mikroskopa na Institutu za Fiziku u Beogradu. Savremene metoda (CANDLE, PURE-LET i BM3D) smanjuju prisustvo šuma ali uz pojavu degradacije informacija o signalu. Ovo Tehničko rešenje nudi jednostavan algoritam za predobradu slike uz adekvatan odabir metode za obradu mikroskopskih slika.

Tehničke karakteristike

Programski paket Matlab
 Matlab skripte sa implementacijom algoritma

LITERATURA

- [1] A. Danielyan, Y. W. Wu, P. Y. Shih, Y. Dembitskaya, and A. Semyanov, "Denoising of two-photon fluorescence images with Block-Matching 3D filtering," *Methods*, vol. 68, pp. 308-316, 2014.
- [2] P. Coupe, M. Munz, J. V. Manjon, E. S. Ruthazer, and D. L. Collins, "A CANDLE for a deeper in vivo insight," *Medical Image Analysis*, vol. 16, pp. 849-864, 2012.
- [3] F. Luisier, C. Vonesch, T. Blu, and M. Unser, "Fast Haar-wavelet denoising of multidimensional fluorescence microscopy data," *Biomedical Imaging: From Nano to Macro, IEEE International Symposium*, pp. 310-313, 2009.
- [4] T. Čeranić, D. Pantelić, B. Jelenković, A. Krmpot, M. Rabasović, i D. Bajić, „Pregled mogućnosti za smanjenje direktno zavisnog šuma u mikroskopskim slikama”, *Digitalna obrada govora i slike*, pp.59-62, 2014.
- [5] F. Luisier, T. Blu, and M. Unser, "Image Denoising in Mixed Poisson-Gaussian Noise," *IEEE Trans. on Image Processing*, vol.20, pp. 696-708, 2011.
- [6] Kirk Baker, "Singular Value Decomposition Tutorial," Mart 2005.
- [7] Golub, G., C. Van Loan, "Matrix Computations," John Hopkins University Press, London, 1983.
- [8] De Moor, B., J. Staar, J. Vandewalle, "Oriented Energy and Oriented Signal-to-Signal Ratio Concepts in the Analysis of Vector Sequences and Time Series," in *SVD and Signal Processing*, E. F. Deprettere, Ed., Elsevier Science Publishers B. V., (North-Holland), 1988.



УНИВЕРЗИТЕТ
У НОВОМ САДУ



ФАКУЛТЕТ
ТЕХНИЧКИХ НАУКА

Трг Доситеја Обрадовића 6, 21000 Нови Сад, Република Србија
Деканат: 021 6350-413; 021 450-810; Централа: 021 485 2000
Рачуноводство: 021 458-220; Студентска служба: 021 6350-763
Телефакс: 021 458-133; e-mail: ftndean@uns.ac.rs

ИНТЕГРИСАНИ
СИСТЕМ
МЕНАџМЕНТА
СЕРТИФИКОВАН ОД:



Наш број: 01.сл

Ваш број:

Датум: 2015-01-05

ИЗВОД ИЗ ЗАПИСНИКА

Наставно-научно веће Факултета техничких наука у Новом Саду, на 33. седници одржаној дана 24.12.2014. године, донело је следећу одлуку:

-непотребно изостављено-

ТАЧКА 13. Питања научноистраживачког рада и међународне сарадње

Тачка 13.1.7.: На основу позитивног извештаја рецензената верификује се техничко решење под називом:

УБРЗАЊЕ АКВИЗИЦИЈЕ ФЛОУРЕСЦЕНТИХ ДВОФОТОНСКИХ МИКРОСКОПСКИХ СЛИКА

Аутори техничког решења: Тамара Ћеранић, Дејан Пантелић, Бранислав Јеленковић, Александар Крмпот, Михаило Рабасовић и Драгана Бајић.

-непотребно изостављено-

Записник водила:

Јасмина Димић, дипл. правник

Тачност података оверава:
Секретар

Иван Нешковић, дипл. правник



Декан

Проф. др. Радо Дорословачки