



VILNIAUS GEDIMINO TECHNIKOS UNIVERSITETAS

ELEKTRONIKOS FAKULTETAS

ELEKTRONINIŲ SISTEMŲ KATEDRA

Mantas KAVOLIŪNAS

**BALTYMŲ PĖDSAKŲ GEOMETRINIŲ IŠKRAIPYMŲ ŠALINIMAS
DVIMATĖS ELEKTROFOREZĖS GELIŲ VAIZDUOSE
REDUCTION ON GEOMETRIC DISTORTION IN PROTEIN SPOTS IN
IMAGES OF TWO DIMENSION ELECTROPHORESIS GELS**

Magistro baigiamasis darbas

Informatikos inžinerijos studijų kryptis

Informacinių elektroninių sistemų studijų programa, valstybinis kodas 621E15003

Atvirojo kodo sistemų specializacija

Vilnius, 2014

VILNIAUS GEDIMINO TECHNIKOS UNIVERSITETAS
ELEKTRONIKOS FAKULTETAS
ELEKTRONINIŲ SISTEMŲ KATEDRA

TVIRTINU
Katedros vedėjas

(parašas)
prof. habil. dr. R. Martavičius
2014 m. _____ mėn. ____ d.

Mantas KAVOLIŪNAS

**BALTYMŲ PĖDSAKŲ GEOMETRINIŲ IŠKRAIPYMŲ ŠALINIMAS
DVIMATĖS ELEKTROFOREZĖS GELIŲ VAIZDUOSE**
**REDUCTION ON GEOMETRIC DISTORTION IN PROTEIN SPORTS IN
IMAGES OF TWO DIMENSION ELECTROPHORESIS GELS**

Magistro baigiamasis darbas

Informatikos inžinerijos studijų kryptis

Informacinių elektroninių sistemų studijų programa, valstybinis kodas 621E15003

Atvirojo kodo sistemų specializacija

Vadovas prof. dr. D. Navakauskas
(mokslinis vardas ir laipsnis, vardas, pavardė)
Konsultantas lekt. dr. Vaida Buivydienė
(mokslinis vardas ir laipsnis, vardas, pavardė)

Baltymų pėdsakų geometrinių iškraipymų šalinimas dvimatės elektroforezės gelių vaizduose. Magistro baigiamasis darbas informatikos inžinerijos laipsniui. Vilniaus Gedimino technikos universitetas. Vilnius, 2014, 63 p., 38 iliustr., 5 lent., 24 bibl., 1 priedas.

Anotacija

Magistro baigiamajame darbe nagrinėjama dvimatės elektroforezės gelių (DEG) vaizdų geometrinių iškraipymų problema. Dvimatė elektroforezė yra biocheminis tyrimas, skirtas mėginio baltymų išrūšiavimui. DEG vaizdai naudojami baltymų pokyčiams nustatyti, tiriant ląstelių ir audinių sudėtį. DEG vaizdų geometrinių iškraipymų neįvertinimas lemia diagnostikos ir paieškos klaidas, gaišamas laikas kartojant tyrimus. Darbo tikslas pasiūlyti ir ištirti dvimatės elektroforezės gelių vaizdų baltymų pėdsakų geometrinių iškraipymų šalinimo sudėtinius algoritmus. Atliekant analitinę literatūros apžvalgą, pagrindžiamas pasirinktas geometrinio iškraipymo nustatymo būdas, geometrinės transformacijos, tinkančios apdoroti DEG vaizdams. Siūloma alternatyvių algoritmų sudarymo strategija, išskaidant algoritmus į sudedamąsias elementarias dalis. Įgyvendintiems algoritmams pasiūlyti ir atlikti natūriniai bei imitacinių vertinimo rodiklių tyrimai. Suformuluotos rekomendacijos.

Prasminiai žodžiai

Dvimatė elektroforezė, dvimatės elektroforezės geliai, geometrinių iškraipymų šalinimas, vaizdų apdorojimas, vaizdo transformacijos, kompiuterinė rega.

Annotation

The problem of two-dimensional gel electrophoresis (2DE) image geometric distortion is analyzed in this master's thesis. Two-dimensional electrophoresis is a biochemical research for a sample of protein sorting. 2DE images are used to identify the protein changes, investigating cell and tissue composition. The problem of 2DE image geometric distortion is in terms of qualitative and temporally. The aim is to offer and explore the composite algorithm that eliminates geometric distortion in protein spots in 2DE gel images. Literature review approved the selected geometric distortion method and appropriate transformation of 2DE image. Offered strategy for alternative algorithms decomposition, breaks down algorithms into its constituent elementary parts. Algorithm to perform quality research and recommendations formed.

Prasminiai žodžiai

Two-dimensional electrophoresis, two-dimensional gel electrophoresis, reduction on geometric distortion, image processing, image transformation, computer vision.

TURINYS

Žymenys ir santrumpos	5
1. ĮVADAS	4
1.1. Darbo aktualumas ir tikslas	6
1.2. Darbo uždaviniai	6
1.3. Naudoti tyrimo ir analizės metodai	6
1.4. Darbo naujumas ir praktinė nauda	7
1.5. Darbo struktūra.....	7
2. DVIMATĖS ELEKTROFOREZĖS GELIŲ VAIZDŲ GEOMETRINIAI IŠKRAIPYMAI IR JŲ ŠALINIMAS	8
2.1. Dvimatės elektroforezės gelių vaizdai ir jų iškraipymai	9
2.2. Baltymų pėdsakų iškraipymų šalinimo metodai	11
2.3. Vaizdo transformacijos	16
3. ALTERNATYVŲS SUDĖTINIAI BALTYMŲ PĖDSAKŲ GEOMETRINIŲ IŠKRAIPYMŲ ŠALINIMO ALGORITMAI	27
3.1. Alternatyvų sudarymo strategija	27
3.2. Sudėtiniai algoritmai	31
3.3. Algoritmų įgyvendinimo ypatumai	38
4. ĮGYVENDINTŲ ALGORITMŲ KOKYBĖS TYRIMO REZULTATAI	46
4.1. Tyrimų planas.....	46
4.2. Imitacinių tyrimų rezultatai	53
4.3. Natūrinių tyrimų rezultatai	57
5. IŠVADOS IR REKOMENDACIJOS	61
Literatūra	62

Žymenys ir santrumpos

Žymenys

Θ	grandianto nuokrypio slenkstis, ° (laipsniai)
γ	Vaizdo korekcijos matrica
$h(x)$	vaizdo taškų skaičius su slapvos lygiu x
J_D	intensyvumo skirtumo kvadratas
J_E	elastinga energija, J
m	aibės atskaita
MM	Molekulinė masė – santykinis dydis, rodantis, kiek kartų cheminės medžiagos molekulės masė didesnė už standartinį atominės masės vienetą (AMV).
p	Kiekviename iteracijos žingsnyje parametro vektorius
pH	pH (vandenilio potencialas) – vandenilio jonų (H^+) koncentracijos tirpale matas
pI	izielektrinis fokusavimas, Mw,kDa
q	Kiekviename iteracijos žingsnyje pakeistas parametro vektorius
v	vaizdo taško intensyvumo vertė

Santrumpos

AMV	Atominis masės vienetas
CMY	spalvų modelis (žydra, purpurinė, geltona, juoda)
CMYK	spalvų modelis (žydra, purpurinė, geltona, juoda)
DE	dvimatė elektroforezė
DEG	dvimatis elektroforezės gelis
DEGV	dvimatis elektroforezės gelio vaizdas
GIS	geometrinio iškraipymo šalinimas
HSV (angl. <i>Hue Saturation Value</i>)	spalvų modelis (atspalvis sodrumas, reikšmė)
IEF	izoelektrinis fokusavimas
JPG (angl. <i>Joint Photographic Group</i>)	vaizdų failų formatas
MM	molekulinė masė
NDS-PAGE	natrio dodecil sulfato poliakrilamido gelio elektroforezė
OZZ (angl. <i>Orthogonal Zig-Zag</i>)	ortogonalus stačiakampis
RGB (angl. <i>Red Green Blue</i>)	spalvų modelis (raudona, žalia, mėlyna)
RŽM	spalvų modelis (raudona, žalia, mėlyna)
SOM (angl. <i>Self-Organizing Map</i>)	save organizuojantis tinklas
TIFF (angl. <i>Tagged Image File Format</i>)	vaizdų failų formatas
U-matrica (angl. <i>Unified distance matrix</i>)	unifikuotos matricos vaizdavimas
ŽPGJ	spalvų modelis (žydra, purpurinė, geltona, juoda)

1. ĮVADAS

1.1. Darbo aktualumas ir tikslas

Pramonėje, moksluose tyrimuose, kasdienėje žmogaus buityje daugėja sugeneruojamų vaizdų kiekis. Remiantis Europos Sąjungos statistikos tarnybos (Eurostat) 2013-10-28 pateiktais duomenimis,¹ pastaruosius penkerius metus medicinoje naudojamų vaizdų kiekio augimas yra didesnis nei 6 %, o 2012 metais augimas perkopė 12 %, lyginant su prieš tai buvusiais metais. Tai akivaizdus įrodymas, kad tenka apdoroti vis didesnius duomenų kiekius. Didėjant duomenų kiekiui aktualesnė problema tampa laiko sąnaudos, kurias galima spręsti, didinant duomenų apdorojimo tikslumą – ištaisant nekorektiškus vaizdus. Kita efektyvi vaizdų korekcijos poreikio priežastis – riboti kompiuterinių priemonių resursai. Norint minimizuoti kompiuterinę įrangą, sumažinti jos energijos sąnaudas, reikalinga ir efektyvi vaizdų apdorojimo strategija. Sritis, kurioje gausu vaizdinių duomenų, yra ir į ląstelių, ir audinių sudėtį įeinančių baltymų tyrimai. Šie tyrimai – reikalaujantys tikslumo, skaitmeniniai dvimatės elektroforezės gelių (toliau DEG) vaizdų apdorojimai. Didinti duomenų apdorojimo tikslumą bei efektyvumą, galima koreguojant iškraipytus vaizdus, atstatant jų savybes. Magistriniam darbui pasirinkta artima šiam aktualumui tema – *Baltymų pėdsakų geometrinių iškraipymų šalinimas dvimatės elektroforezės gelių vaizduose*. Darbo tikslas: pasiūlyti ir ištirti dvimatės elektroforezės gelių vaizdų baltymų pėdsakų geometrinių iškraipymų šalinimo sudėtinius algoritmus.

1.2. Darbo uždaviniai

1. Atlikti dvimatės elektroforezės gelių vaizdų geometrinių iškraipymų ir jų šalinimo metodų apžvalgą.
2. Sudaryti ir įgyvendinti baltymų pėdsakų geometrinių iškraipymų šalinimo alternatyvius metodus.
3. Sukurti tyrimo planą ir vaizdų rinkinius, skirtus algoritmų kokybei vertinti.
4. Ištirti dvimatės elektroforezės gelių vaizdų baltymų pėdsakų geometrinių iškraipymų šalinimo alternatyvius algoritmus ir pateikti jų taikymo rekomendacijas.

1.3. Naudoti tyrimo ir analizės metodai

Darbe taikomos skaitmeninio signalų apdorojimo priemonės. Vaizdinės medžiagos analizė, vaizdo savybių nustatymas. Algoritmų sudarymo metodika, pritaikymas algoritmo dalių testavimui. Kompiuterinis modeliavimas, taikant MATLAB programinę įrangą. Tyrimo

¹ http://appsso.eurostat.ec.europa.eu/nui/show.do?dataset=hlth_co_exam&lang=en

pavyzdžių sukūrimas, atliekant imitacinius tyrimus bei realių duomenų panaudojimas natūriniais tyrimams.

1.4. Darbo naujumas ir praktinė nauda

Naujumas

- Išnagrinėtos dvimatės elektroforezės gelių formavimo fizikinių savybių sąsajos su vaizdo savybėmis, leidžiančios nustatyti geometrinius iškraipymus.
- Pasiūlytas algoritmų išskaidymas į sudedamąsias dalis būdas leidžia, pritaikyti algoritmą skirtingo dydžio geometriniams iškraipymams..
- Pasiūlytas dvimatės elektroforezės gelio vaizdo persidengiančio kadro su adaptacija apdorojimo būdas, leidžiantis išskirti baltymų pėdsakų grupių trajektorijas.

Praktinė nauda

- Sukurtas baltymų pėdsakų geometrinių iškraipymų šalinimo dvimatės elektroforezės gelių vaizduose algoritmas.
- Pasiūlytos baltymų pėdsakų geometrinių iškraipymų šalinimo dvimatės elektroforezės gelių vaizduose rekomendacijos.

1.5. Darbo struktūra

Darbą sudaro: įvadas, trys skyriai, bendrosios išvados, literatūros sąrašas. Pirmame skyriuje: dvimatės elektroforezės gelių vaizdų iškraipymas, siejamas su vaizdo gavimo fizikinėmis savybėmis; pateikiami baltymų pėdsakų iškraipymo šalinimo metodai, aptariamos DEG vaizdams tinkamos vaizdo transformacijos. Antrame skyriuje: siūloma alternatyvų sudarymo strategija, išskaidant algoritmus į sudedamąsias, elementarias dalis; kuriami alternatyvūs algoritmai; aptariami algoritmų įgyvendinimo ypatumai. Trečiame skyriuje: pateikiamas tyrimų planas, skirtas ištirti parametrų įtaką algoritmų kokybėms; ištiriamas algoritmų gebėjimas ištaisyti imitacinius iškraipymus bei sąveika su realiais gelio duomenimis; pateikiamos tyrimų išvados. Darbo pabaigoje apibendrinami gauti rezultatai ir pateikiamos bendros išvados.

2.DVIMATĖS ELEKTROFOREZĖS GELIŲ VAIZDŲ GEOMETRINIAI IŠKRAIPYMAI IR JŲ ŠALINIMAS

Perduodama vaizdinė informacija yra viena svarbiausių, pažįstant ir analizuojant aplinką, orientuojantis erdvėje. Dažnai vienas vaizdas yra reikšmingesnis nei daugelis pasakytų žodžių. Ne išimtis ir mokslinė veikla. Apdorojant vaizdus, yra gaunamas didelis kiekis informacijos, pastaroji vėliau naudojama tyrimams atlikti. Vaizdinė informacija – tyrimo duomenys gaunami, analizuojant gyvą organizmą sudarančius baltymus. Baltymų kiekio pokytis nustatomas, analizuojant DEG vaizdus.

Šiame skyriuje nagrinėjamos baltymų prigimtinių savybės. Analizuojamos išskylančios problemos ir nusibrėžiamos gairės, kurių laikydamiesi galime spręsti tolimesnes analizavimo problemas. Atliekama literatūros apžvalga ir susipažinimas su darbo tematika.

Proteomika – mokslo sritis, tirianti proteomą – visus baltymus, esančius ląstelėje, įskaitant ir tuos, kurie yra susintetinti organizme pagal jo genetinę informaciją, ir tuos, kurie turi daugybę modifikuotų, atsiradusių po transliacinių, procesų, dėl išorinio arba vidinio ląstelės signalo perdavimo, tai pakeičia baltymo funkciją ar aktyvumą (Naučienė 2012). Baltymai (proteinai) didelės molekulinės masės organinės medžiagos, sudarytos iš aminorūgščių, sujungtų peptidiniu ryšiu. Baltymo pavadinimas yra kilęs iš vokiečių kalbos žodžio *eiweiss*, kuris reiškia kiaušinio baltymą. Kitas naudojamas baltymo vardas – proteinas yra kilęs iš graikų kalbos žodžio *protos*, reiškiančio – pirminis, svarbiausias. Baltymai ląstelėse atlieka labai daug įvairių funkcijų. Pagrindinės funkcijos yra šios:

- katalizinė – tai yra viena svarbiausių baltymų funkcijų. Baltymo fermentai katalizuoja ląstelėje vykstančias chemines reakcijas, todėl jos vyksta labai dideliais greičiais ir švelniose sąlygose;
- pernašos – baltymai organizme perneša įvairias medžiagas, nuo elektronų iki makromolekulių. Hemoglobinas transportuoja deguonį iš plaučių į audinius, žmogaus serumo albuminas perneša riebalų rūgštis kraujyje. Labai svarbi pernašos baltymų klasė yra membranose lokalizuoti baltymai – nešikliai ir kanalai;
- struktūrinė – baltymai susijungę su lipidais sudaro biologines membranas. Pagrindinis jungiamojo audinio baltymas yra kolagenas, plaukai, nagai taip pat yra baltymai;
- hormoninė – jie reguliuoja medžiagų apykaitą. Pavyzdžiui, insulinas mažina cukraus koncentraciją kraujyje, somatotropinis hormonas reguliuoja augimą;
- apsauginė – organizme sintetinami antikūnai apsaugo jį nuo bakterijų, pašalinių baltymų. Virusinė infekcija žmogaus organizme iššaukia baltymo interferono sintezę, kuri stabdo tolesnį virusų dauginimąsi;

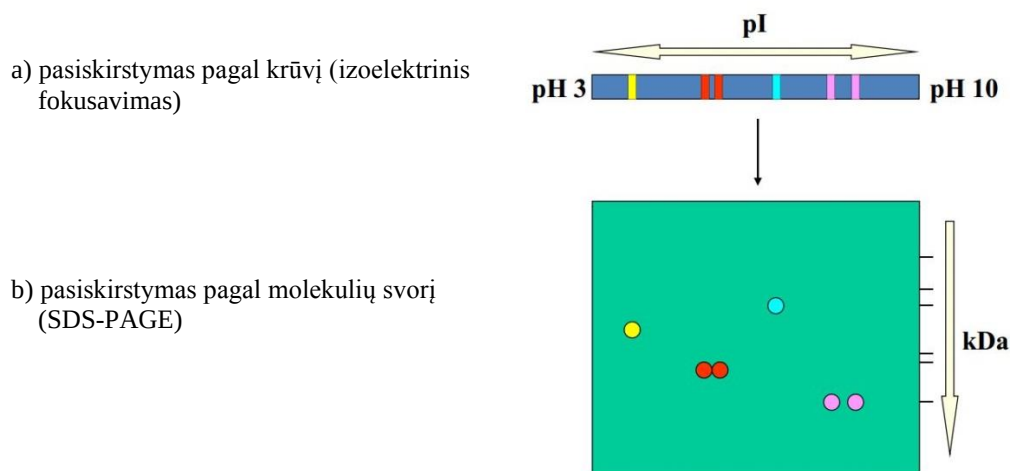
- energetinė – oksiduojantis baltymuose esančioms aminorūgštims, išsiskyrusi energija panaudojama organizmo energetiniams poreikiams tenkinti;
- motorinė – raumenys yra sudaryti iš aktino ir miozino, jų pagalba cheminė energija yra paverčiama mechanine. Bakterijų baltymas flagelinas reikalingas jų judėjimui;
- toksinai – choleros, botulizmo, difterijos, gangrenos toksinai yra baltymai;
- infekcinė medžiaga – baltymas prionas atsakingas už neurodegeneratyvinių ligų išsivystymą tiek žmogaus, tiek gyvulių organizmuose;
- receptorinė – baltymai receptoriai, išsidėstę ant membranų paviršiaus, sąveikauja su hormonais, neuromediatoriais, šviesa ir kitomis medžiagomis ir perduoda signalą per membraną;
- reguliatorinė – baltymai gali prisijungti prie nukleorūgščių, kitų baltymų ir keisti jų biologinį aktyvumą;
- atsarginė maisto medžiaga – pieno kazeinas, kiaušinio baltymai yra medžiagos, kuriose sukauptos organizmo vystymuisi reikalingos energetinės ir statybinės medžiagos;
- egzotiniai baltymai – antifrizinis baltymas pažemina šiaurėje plaukiojančių žuvų kraujo užšalimo temperatūrą, baltymas monelinas yra kelis tūkstančius kartų saldesnis už cukrų, jūrų kriauklės išskiria baltymus, kurie priklįuoja jas prie įvairių paviršių (Naučienė 2012).

Iš visų baltymų rinkinio sprendžiama apie ląstelės ar viso organizmo būseną, pavyzdžiui, gali būti nustatomos ligos. Vienintelio baltymo nebuvimas ar atsiradimas (pakitimai) įtakoja didelius organizmo funkcijų pakitimus. Taigi reikalingi tyrimo metodai, kuriais būtų galima aptikti ir apibūdinti visus baltymus (Sanchez, Corthals ir kt. 2004).

2.1. Dvimatės elektroforezės gelių vaizdai ir jų iškraipymai

Baltymų analizei atlikti yra keletas būdų, vienas iš jų – dvimatė elektroforezė (DEG). Taikant DEG, kelių tūkstančių baltymų mišinys plokštumoje, specialiame gelyje, išskaidomas į tos pačios rūšies baltymų sankaupas. Baltymai išrūšiuojami pagal dvi nepriklausomas savybes – izoelektrinį fokusavimą (pI) ir molekulinę masę (MM). 2.1 paveiksle pateikiama DEG vaizdo gavimo schema (Navakauskienė 2009).

Visų pirma (2.1 pav., a) izoelektrinis fokusavimas (IEF) įmanomas dėl tokios baltymų savybės, kai nuo tirpalo pH, kuriame yra baltymas, priklauso baltymo bendro krūvio ženklas ir dydis. Kiekvienas baltymas turi savitą izoelektrinį tašką (pI) – tai tirpalo pH reikšmė, kuriai esant bendras baltymo krūvis yra neutralus. Sudarius terpę, kurioje yra pH gradientas ir



2.1 pav. DEG vaizdo gavimo schema (Navakauskienė 2009)

patalpinus į ją mėginį su baltymais bei sukūrus išilgai gradiento elektrinį lauką, baltymai judės iki savojo pI.

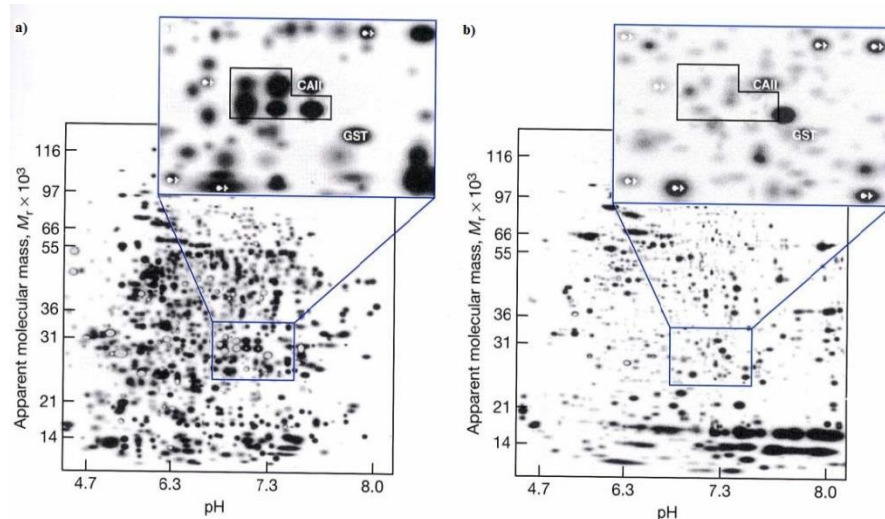
Molekulinės masės skirstymas, atliekamas po izoelektrinio fokusavimo. Juostelė (2.1 pav., b), kurioje yra išskirstyti baltymai, įtaisoma poliakrilamido gelio viršuje. Paveikus baltymus anijoniniu detergentu, baltymui suteikiamas bendras neigiamas krūvis. Sudarius elektrinį lauką, baltymai judės link anodo greičiu, atvirkščiai proporcingu molekulių dydžiui. Poliakrilamido geliuose, dėl mažo porų dydžio, dideli baltymai juda lėčiau. Skirstymas šiame etape baigiamas, kai pirmieji (mažiausi) baltymai pasiekia gelio apačią. Tokia skirstymo pagal masę technologija pilnai vadinama natrio dodecil sulfato poliakrilamido gelio elektroforeze (NDS-PAGE). Jei šalia nežinomos molekulinės masės (MM) baltymų yra žinomos MM, tada galima apskaičiuoti visu baltymų MM, nes tarp baltymo santykinio migravimo nuotolio ir jo molekulinės masės dešimtainio logaritmo yra neigiama tiesinė priklausomybė (Matuzevičius 2010).

Atlikus baltymų skirstymą jie vizualizuojami (detektuojami) – padaromi matomais akiai ar specialioms skeneriams. Gali būti naudojamas dažymas sidabru, Coomassie meliu, fluorescentiniais dažais, naudojamas radioaktyvus žymėjimas, potransliacines modifikacijas aptinkantys dažai. Nuo mėginių surinkimo iki gelių vaizdų gavimo tyrėjas turi atlikti nemažai tikslų veiksmų. Visa tai lemia gelių vaizdų kokybę, tam tikrus iškraipymus ar netolidumus. Kai kurių procesų baltymų atskyrimo neįmanoma tiksliai kontroliuoti, būtent čia ir galima taikyti DE gelių iškraipymo šalinimo priemones, siekiant nustatyti ir ištaisyti esamas klaidas (Matuzevičius 2010).

Tyrimo pabaigoje gaunamas dvimatis vaizdas (2.2 pav., b), kuriame kiekvienas pėdsakas atitinka vieną tam tikrą baltymą arba jų grupę (Januškevičienė 2012). Šitaip tuo pačiu metu gali būti išskirti tūkstančiai skirtingų baltymų ir gauta informacija apie jų pI, MM bei kiekį. Naudojant DE molekulinėje biologijoje, biochemijoje, genetikoje, klinikiniuose tyrimuose ir

kitur, sukuriami daug gelių, kuriuos reikia tarpusavyje palyginti. Atliekant sudėtingus tyrimus, lyginamųjų gelių skaičius padidėja, todėl palyginimas tampa varginančiu tyrimo etapu.

2.2 pav. parodyta dviejų DE gelių vaizdų palyginimas. Kaip matyti, pirminis gelis lyginamas su tiriamuoju, ieškoma gelyje esančių arba neesančių pakitusių baltymų pėdsakų.



2.2 pav. Gelių vaizdų palyginimas (Mildažienė 2007)

Baltymo atitikmenų nustatymas yra daug laiko reikalaujantis procesas. Jis vis dar yra sudėtingas dėl didelio kiekio iškraipymų. Sutapdinimą galima išskirti į dvi pagrindines dalis. Pirmoji yra dėmės radimas. Antroji – dėmių suliginimas (Veeser, Dunn ir kt. 2001). Sutapdinimas taip pat sudėtingas, kai yra daug baltymų pėdsakų. Taikant automatines sistemas, didelę įtaką turi geometriniai vaizdo iškarpymai, baltymų grupių susiliejimas ar netikslus gelio nuskanavimas. Geometriniai iškraipymai yra vienas iš pagrindinių trukdžių. Sprendžiant šią problemą, į ją galima žiūrėti kompleksiskai, skirstant į dvi veiksmų grupes. Pirmoji yra vaizdo fizikinių savybių pritaikymas, iškraipymams rasti. Antroji – ištaisyti iškraipytą DEG vaizdą, taikant duomenų transformacijas. Todėl būtina žinoti baltymų pėdsakų iškraipymų šalinimo metodus, kurie toliau ir nagrinėjami.

2.2. Baltymų pėdsakų iškraipymų šalinimo metodai

Baltymų pėdsakų geometrinių iškarpymų šalinimo metodus galima skirti į dvi dalis: vaizdo fizikinių savybių nustatymą ir transformaciją. 2.1 skyriuje nagrinėta vaizdo išgavimo technologija. Ši technologija lemia gelio baltymo tekėjimą vertikalios ir horizontalios kryptimi. Tai yra, baltymų išskyrimas dviem nepriklausomomis ašimis, gaunamas tekant baltymui. Tekėjimo eigoje susiformuoja baltymo pėdsako šleifas. Kaip minėta anksčiau, baltymų pėdsakų skleidimas vyksta skirtingomis ašimis paeiliui, todėl galimi tik horizontalūs ir vertikalūs baltymų pėdsakų šleifai. Dažant DEG gelį dažomąja medžiaga, pasidengia ir užsiteršęs gelis,

todėl išryškėja negrynas gelis. Dėl šios priežasties galima nustatyti gelio savybėms neatitinkančius vaizdo elementus.

Vaizdo transformacija yra funkcija, taikoma vaizdui apdoroti, dėl kurios įtakos vaizdo taškai pakeičia savo intensyvumo lygį arba savo koordinates. Tai yra vietą horizontalia ir vertikalio kryptimi (Glasbey and Mardia 1998). Vaizdui taikant tam tikrą transformacijos funkciją, galima pasiekti įvairių rezultatų, pavyzdžiui, foto kameros lęšio netolydumų iškraipymo šalinimą arba vaizdų gretinimą, juos išlyginant. Tokia transformacija būtent ir reikalinga DEG vaizdo geometrinio iškraipymo šalinimui.

Baltymų pėdsakų vaizdo iškreiptumą galima aprašyti mažo laipsnio daugianarių funkcijomis (Gustafsson, Blomberg ir kt. 2001). Be to, vaizdo tiesinį iškraipymą taip pat galima išreikšti daugianariu. Toks iškraipymas gali atsirasti netiesiai nuskanavus vaizdą. Tolesniame darbe bus pasirinktas minėtas iškraipymo aprašymo būdas.

Sėkmingas daugianario reikšmių radimas gali būti grindžiamas elementarių atkarpų sujungimu, artimiausio kaimyno metodu. Šio metodo panaudojimas, nustatant artimas atkarpas, gali būti panaudotas keletu lygių. Išgaunant norimą rezultatą ir sujungiant elementarius vienetus į reikiamą grupę (Horton and Nakai 1997). Pagal gautas sujungtas grupes galima atlikti bazinės vaizdo transformavimo operacijas.

Geometrinės transformacijos apibrėžiamos taip: operacijos, kurios vaizdo tašką arba jų grupę iš vienos rastrinio vaizdo vietos perkelia į kitą ir gali pasirinktinai (laisvai) keisti objekto formą, vadinamos geometrinėmis arba erdvinėmis transformacijomis (Januškevičienė 2012). Terminą rastrinis galima paaiškinti taip: tai dvimatė duomenų struktūra, kuri gali būti atvaizduojama tam tikro intensyvumo vaizdo taškais. Geometrinės transformacijos modifikuoja erdvinį sąryšį tarp vaizdo taškų, žymėdamos jų padėties pasikeitimą iš pradinės, originaliame vaizde, į naują, transformuotame vaizde. Rastrinių vaizdų deformavimas (angl. *image warping*) yra procesas, kurio metu vaizdas paveikiamas taip, kad bet kuri vaizdo forma reikšmingai iškraipoma. Pirmiausia, rastrinių vaizdų deformavimas, apdorojant vaizdus, gali būti taikomas vaizdų geometriniais iškraipymams, atsiradusiems dėl netobulų atvaizdavimo sistemų (pavyzdžiui, dėl optikos, esančios tarp kameros ir vaizdo), koreguoti. Šios transformacijos dar vadinamos laisvos formos (angl. *rubber sheet*) transformacijomis ir pasižymi savybe keisti objekto formą, kol jis bus pageidaujamos formos (Januškevičienė 2012).

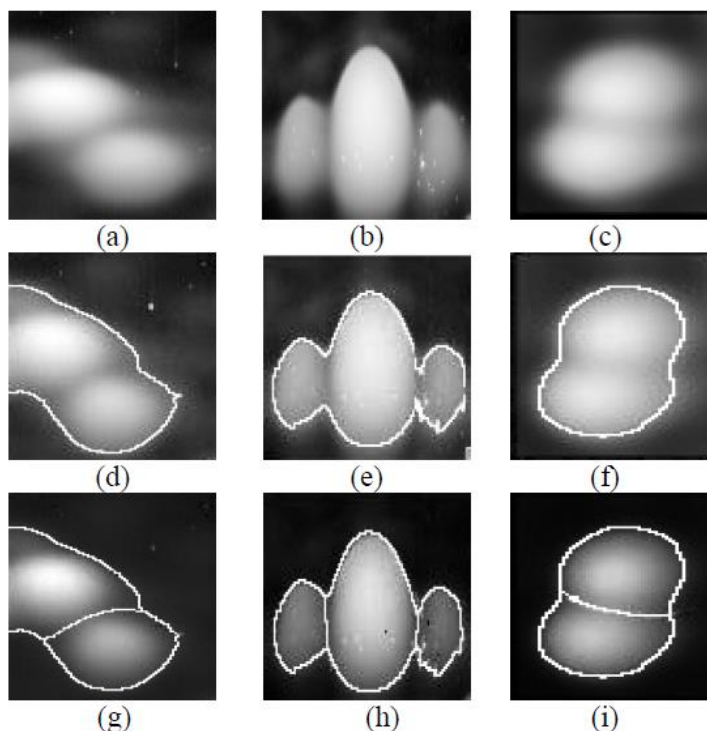
Įvairūs netiesiniai komponentai gali sukurti daug sudėtingesnius iškraipymus nei prieš tai paminėti. Baziniai vaizdo transformavimo metodai:

- poslinkio transformacija;
- mastelio keitimo transformacija;
- posūkio transformacija;

- atspindžio transformacija;
- šlyties transformacija;
- projekcinės transformacijos;
- lokalios vaizdo transformacijos;
- interpoliavimo metodai.

Išvardinti vaizdinės transformacijos būdai yra skirti duomenų vaizdui apdoroti bei pateikti. Šie bruožai drauge su daugeliu kitų: vaizdo filtravimui, vaizdo morfologinėmis transformacijomis ir kt., naudojami vaizdo apdorojimo srityje (angl. *Image Processing*). Kompiuterinė rega (angl. *Computer Vision*) – puiki vaizdo signalų analizavimo priemonė. Tai plati vaizdų analizės sritis, kurios pagrindinis tikslas – išgauti informaciją apie analizuojamą vaizdą, siekiant ją panaudoti skaičiavimuose ar priimti reikiamus sprendimus. Pagrindinis skirtumas tarp vaizdų apdorojimo ir kompiuterinės regos yra tas, kad pirmoji sritis skirta pateikti vaizdus žmogui, o antroji – analizuoti juos kompiuteriu. Iš dalies šios dvi mokslo sritys tarpusavyje siejasi ir dažnai viena kitą papildo. Žmogaus rega ir kompiuterių galimybės yra savaip apribotos, todėl vaizdo atpažinimo sistemų projektuotojas privalo atsižvelgti į žmogaus regos ypatybes, aparatinės įrangos galimybių ribas ir kurti sistemas, ieškodamas optimalaus sprendimo apjungiant funkcionalumą, kokybę ir greitį. Ne išimtis ir proteomika. Todėl analizuojant baltymų pėdsakus, būtina atsižvelgti į vykstančius pokyčius gyvuose organizmuose (Serackis 2008).

Vienas dažniausiai taikomų tyrimų yra DEG. Deja DEG gelių vaizdų analizė ir palyginimas – ypatingo atidumo reikalaujantis darbas. Specialistas, sulygindamas du gelių vaizdus tarpusavyje, gali užtrukti kelias valandas. Dvimatės elektroforezės geliams analizuoti, pasaulyje kuriamos automatinės baltymų pėdsakų atpažinimo gelių vaizduose programos, naudojančios trimačio vaizdo rekonstravimo technologijas, baltymų pėdsakams atpažinti. Ne visuomet šios programos geba teisingai atskirti baltymų pėdsakus vaizde. Neretai pasitaiko atvejų, kai naujai gauti DEG gelių vaizdai turi būti palyginti su prieš kelis mėnesius gautais. Norima nustatyti kokie pokyčiai įvyko organizme per šį laiką ir kaip vaistai ar pacientui atliktos procedūros paveikė pažeisto organo baltymų struktūrą. Tokiu atveju, eksperimento pakartoti negalima ir turi būti analizuojami anksčiau gauti vaizdai su visais juose esančiais iškraipymais ir įsisotinisiais ar persisotinisiais baltymų pėdsakais. Specializuotose DEG gelių analizės programose naudojamos baltymų pėdsakų vaizdo segmentavimo technologijos pritaikytos greitiems skaičiavimams (Serackis 2008).



2.3 pav. DEG gelių vaizdų baltymo pėdsako segmentavimo rezultatai (Savelonas, Maroulis ir kt. 2009)

2.3 pav. pateikiamas vienas iš gelių analizės etapų. Matyti, kaip skirtingi gelio baltymo pavyzdžiai yra segmentuojami. Iš viršaus į apačią, eiliškumo tvarka, pavaizduoti baltymo pėdsakai (a, b, c), baltymo grupės radimas (d, e, f) bei grupės pėdsakų išskyrimas (g, h, i). Kaip matyti pėdsako formos nėra taisyklingos. DEG geliai labai jautrūs išoriniam poveikiui, todėl neretai pasitaiko gelių įtrūkimų, geometrinių iškreipimų, fone atsirandančių nešvarumų ir pašalinių vaizdo triukšmų. Tai lemia klaidingą gelių vaizdų segmentavimą, netikrų pėdsakų radimą. DEG gelių vaizduose būna ir dirbtinių iškreipimų. Įvairiais dažikliais, išryškinant blogai matomus baltymų pėdsakus, tose vietose, kur baltymo kiekis yra didelis, nuskaitymo metu neretai iškreipiama pėdsako forma. Baltymų pėdsako viršūnė nuskaitytame vaizde gali tapti plokščia ar net įdubusi. Tokio pobūdžio iškreipimai neleidžia teisingai nustatyti baltymo kiekio pėdsake ir lemia klaidingą gelio vaizdo segmentavimą. Šie iškreipimai nuskaitymo metu atsiranda tada, kai stipriai šviesą atspindėjęs gelis per daug apkrauna skaitytuvo šviesos jutiklį arba stipriai sužadintas šviesos jutiklis per daug apkrauna analoginį skaitmeninį keitiklį. Tačiau tokie iškreipimai nelaikomi geometriniiais, todėl jų detaliau neanalizuosime.

Nagrinėta keletas vaizdų transformacijos būdų, kuriuos galima būtų taikyti vaizdų iškreipimų šalinimui. Vienas iš būdų – vaizdo iškreipimų mažinimas, kuomet vaizdas yra užfiksuotas nestandžiame objekte, kaip pavyzdys, galėtų būti vandenyje, skystyje, taip pat drabužiuose ar žmogaus organuose. Tai yra sudėtingi iškreipimai ir juos dalinai atstatyti galima pasinaudojus kompiuterine rega (Tian and Narasimhan 2010). Taikomi du metodai: pirmas iš jų – Lucas-Kanade metodas. Tai plačiai naudojamas skirtuminis metodas, optinio

srauto įvertinimui. Daroma prielaida, kad srautas yra iš esmės pastovus kaimyninių vaizdo taškų atžvilgiu. Derinant informaciją, iš kelių netolimų taškų, Lucas-Kanade metodas dažnai gali išspręsti neaiškumus optinio srauto lygtyje. Antrasis metodas – artimiausio kaimyno (angl. *Nearest-Neighbor*) klasifikavimo metodas. Esant suskirstytiems objektams į klases, paimamas naujas objektas ir jis priskiriamas artimiausių kaimynų klasei. Šiam metodui naudoti yra parenkami mokymo pavyzdžiai. Derinant šiuos du metodus yra gaunami rezultatai, gebantys atitaisyti nestandžių objektų iškraipymus (Tian and Narasimhan 2010).

Analizuojant vaizdų iškraipymus ir darant geometrinius lyginimus, pasitelkti du pagrindiniai metodai:

- Pagrįstas intensyvumu (angl. *Intensity-Based*);
- Pagrįstas žymėmis (angl. *Landmark-Based*) (Worz, Winz ir kt. 2008).

Derinant šių dviejų metodų privalumus, buvo gautas metodas, leidžiantis sugretinti du vaizdus. Atliekama dviejų vaizdų registracija (gretinimas), pritaikius tam tikrą sukurta trijų požymių formulę

$$J_H = \lambda_I J_{D,I(g_1, g_2, u)} + J_{D,L((p_i, q_i), u)} + \lambda_E J_{E(u)}. \quad (2.1)$$

Formulėje naudojama išraiška J_E yra elastinga energija (angl. *Elastic energy*). Ši energija – potenciali mechaninė energija, esanti medžiagoje ar fizinėje sistemoje. Ji gelio įgyjama tuomet, kai vyksta procesas, siekiantis atkurti energiją tarp sukurto gelyje elektrinio lauko ir savosios joninės energijos (Martin Strojnik and Podgornik 2008). Lygtis sudaryta remiantis (angl. *Navier–Stokes equations*) skysčių judesio lygtimi, darant prielaidą kad skystis yra klampus. Tokius skaičiavimus apibūdina daug kriterijų, todėl skaičiavimai gali būti pritaikyti modeliuojant, oro srautus, vandens sroves, vandens srautus vamzdyje, ar net oro srautui aplink sparną, modeliuoti. Dėl šių savybių skaičiavimo, pritaikymas yra labai platus: nuo automobilių, orlaivių pramonių iki kraujotakos. Panaudota skysčių judesio lygtis leidžia aptikti deformacijos poveikį kuomet, viena kryptimi sukeltas judėjimas, įtakoja išsiplėtimą visomis kryptimis aplinkui. J_D yra intensyvumo skirtumo kvadratas. Žymenų p, q panaudojimas leidžia, aptikti informaciją, kuriai vien tik intensyvumo nepakanka. Intensyvumui rasti buvo naudotas *Levenberg-Marquardt* algoritmas. Algoritmo pagrindinė esmė yra spręsti mažiausių kvadratų duomenų radimą (Gavin 2011). Prieš tai pateikti išlyginimo skaičiavimai yra naudojami apjungti, sulygininti dviem, skirtingu metu padarytiems, pavyzdžiams.

DEG vaizdam būdingi iškraipymai. Šių iškraipymų įtakoje negalima pasinaudoti automatiniais gelių vaizdų sutapdinimo metodais nei taikant vaizdo segmentavimą, nei lyginant du gretimus vaizdus. Pirmuoju atveju iškraipymai įtakoja neteisingą segmentų nustatymą, todėl galimai gaunami klaidingi rezultatai. Antruoju atveju, neteisingai sulyginami nevienodi, skirtingu metu, skirtingomis sąlygomis padaryti vaizdai. Vienas iš galimų problemos

sprendimo būdų – pasirinkti keletą tų pačių baltymų DEG vaizdų ir iš jų atrinkti mažiausiai iškraipytą. Kitas būdas – nustatyti DEG vaizde, esančius iškraipymus, juos apjungti artimiausių kaimynų metodu ir nustatyti globalų vaizdo iškraipymą, aprašytą daugianarių aproksimacijomis. Tuomet, taikant elementarias vaizdo transformacijas, siekti atstatyti nustatytą iškraipymą. Tiek pirmasis, tiek antrasis metodai reikalauja, aptikti vaizde esantį iškraipymą. Tai galima atlikti, taikant vaizdo apdorojimui skirtas vaizdo transformavimo operacijas.

2.3. Vaizdo transformacijos

2.2 skyriuje nagrinėti DEG vaizdo iškraipymo aptikimo būdai, galimi taikant įvairias vaizdo transformavimo operacijas. Atitinkamai paveikto vaizdo rezultatas gali suteikti arba išryškinti jame esančią informaciją. Taigi, norint gauti tam tikras vaizdo charakteristikas, iš kurių būtų galima nustatyti reikiamus parametrus tolimesniems apdorojimo veiksams, reikia turimus vaizdo taškus perskaičiuoti, sujungti, praplėsti, nustatyti elementų pasiskirstymo charakteristikas. Toliau išnagrinėtos vaizdo transformacijos, kuriomis remiantis galima apdoroti DEG vaizdus.

Išanalizuotų vaizdų vieno elemento intensyvumo dydį aprašo 8 dvejetainės skiltys. Tai yra 2^8 galimos vaizdo taško reikšmės pasiskirsto intervale nuo 0 iki 255. Taigi, norint detalai išgauti iš vaizdo visus galimus duomenis, turimų vaizdo taškų skalę reikia praplėsti iki aptartų rėžių. Taip pat, žinant esamus rėžius, galima padidinti ar sumažinti vaizdo kontrastingumą, pakeisti intensyvumo ar šviesumo lygį. Tai galima atlikti, taikant histogramines operacijas.

Tarkime, kad turime nespalvotą rastrinę vaizdą, kuriame vaizdo taškų reikšmės kinta nuo 0 (juoda) iki L (balta). Tuomet galime suskaičiuoti kiekvieno intensyvumo lygio vaizdo taškus. Grafikas, kuriame x ašyje yra intensyvumas, o y ašyje – vaizdo taškų skaičius, vadinamas histograma. Operacijos, kurias lengviau suprasti išsiaiškinus, kaip jos pakeis histogramą, vadinamos histogramų operacijomis (kai kur literatūroje jos vadinamos nulinės atminties operacijomis). Daugumoje operacijų skaičiuoti histogramą nėra būtina. Ką galima sužinoti iš histogramos? Jei histogramos pradžioje yra didelis „kalnas“, tai reiškia, kad vaizdas yra per tamsus, o jei pabaigoje – tai per šviesus. Du „kalnai“ pradžioje ir pabaigoje rodo, kad vaizdas yra labai kontrastingas. Jei histograma sudaryta iš „kalnų“ su smailiom viršūnėmis, tai reiškia, kad blogai išnaudojamas galimų spalvų spektras. Tokiame vaizde sunku įžiūrėti panašios spalvos detales, kai tuo tarpu plokščia histograma rodo, kad visas galimų spalvų spektras pilnai išnaudojamas. Histogramų operacijos kiekvienai vaizdo taškų intensyvumo reikšmei priskiria naują intensyvumo reikšmę. Šias operacijas patogiau pavaizduoti grafiškai, kur x ašyje yra seni intensyvumai u , o y ašyje – nauji v .

Populiariausios histogramų operacijos:

- kontrasto sustiprinimas (angl. *Contrast Stretching*)

$$v = \begin{cases} Au, & \text{jei } 0 \leq u < a; \\ B(u-a) + v_a, & \text{jei } a \leq u < b; \\ C(u-b) + v_b, & \text{jei } b \leq u < L; \end{cases} \quad (2.2)$$

- pjaustymas ir binarizavimas (angl. *Clipping and Thresholding*) $A = C = 0$;
- inversija (angl. *Digital Negative*) $v = L - u$;
- intensyvumo lygio išpjovimas (angl. *Intensity Level Slicing*);

a) be fono:

$$v = \begin{cases} L, & \text{jei } a \leq u \leq b, \\ 0, & \text{priešingu atveju;} \end{cases} \quad (2.3)$$

b) su fonu:

$$v = \begin{cases} L, & \text{jei } a \leq u \leq b, \\ u, & \text{priešingu atveju} \end{cases} \quad (2.4)$$

c) logaritminis atvaizdis:

$$V = C \log(1 + u), \quad (2.5)$$

$$\text{čia, } C = (L-1)/\log(L). \quad (2.6)$$

Naudojamas diapazonui suspausti vaizdą pašviesinant. Gali būti naudojamas ir atvirkščias vaizdą patamsinantis atvaizdis, nusakomas formule:

$$v = e^{u/C} - 1, \quad (2.7)$$

$$v = C u^\gamma, \text{ čia } C = L^{1-\gamma}. \quad (2.8)$$

Skirtingai nuo logaritminio atvaizdžio apima visą kreivių šeimą, kai $\gamma < 1$ vaizdą pašviesina, o kai $\gamma > 1$ – patamsina. Dar vadinamas gama korekcija;

- histogramų išlyginimas.

Tarkime, kad turime vaizdą, sudarytą iš dviejų sričių: šviesių detalių šviesiame fone ir tamsių detalių tamsiame fone. Tokio vaizdo histograma turės du „kalnus“: pradžioje ir pabaigoje. Be abejo, būtų patogiu, kad fono ir detalių spalva kuo labiau skirtųsi, tai yra, kad histograma būtų kuo galima plokštesnė. Idealiu atveju būtų pasiektas tuomet kai visi histogramos stulpelių aukščiai būtų vienodi. Deja, negalima sutrumpinti per ilgų stulpelių, todėl atliekama per trumpų stulpelių apjungimas ir per ilgų stulpelių paslinkimas taip, kad jų svoris būtų išsidėstęs kuo galima tolygiau po visą histogramą. Užrašykime tai formulėmis:

$$p_u(x) = \frac{h(x)}{\sum_{x=0}^{L-1} h(x)}, \quad (2.9)$$

čia $h(x)$ – vaizdo taškų skaičius su spalvos lygiu x .

$$f(u) = v^n = \sum_{x=0}^u p_u(x). \quad (2.10)$$

$$v = \left\lceil \frac{v^n - v_{\min}^n}{1 - v_{\min}^n} (L-1) + 0,5 \right\rceil. \quad (2.11)$$

Galima gauti ir kitokias funkcijas $f(u)$, pvz.:

$$f(u) = \frac{\sum_{x=0}^u p_u^{\frac{1}{n}}(x)}{\sum_{x=0}^L p_u^{\frac{1}{n}}(x)}, \quad \text{čia } n \geq 2. \quad (2.12)$$

Histogramų išlyginimas gali būti naudojamas ir kitiems tikslams. Mažinant vaizdo spalvų skaičių geriau naudoti histogramų išlyginimą, o ne dalinti kiekvieno vaizdo taško reikšmę iš mažinimo koeficiento.

Kartais naudinga histogramos išlyginimą naudoti ne visam vaizdai, o tik jo daliai. Pavyzdžiui, jei turim ryškią planetą juodame fone su nedideliu triukšmu, tai patartina išlyginimą naudoti tik planetai, kad nepadidinti fono triukšmo. Tai pačiai klasei galima priskirti ir kai kurias kitas operacijas, kurios nors ir nesusijusios su histogramomis, tačiau naudojamos vienu intensyvumo lygių keitimui į kitus. Pavyzdžiui:

- Bito paėmimas (angl. *Bit Extraction*)

$$u = k_1 2^{B-1} + \dots + k_{B-1} 2 + k_B, \quad (2.13)$$

$$i_n = \left\lceil \frac{u}{2^{B-n}} \right\rceil, \quad k_n = i_n - 2i_{n-1}, \quad (2.14)$$

$$v = \begin{cases} L, & \text{jei } k_n = 1, \\ 0, & \text{priešingu atveju.} \end{cases} \quad (2.15)$$

Ši operacija naudojama nustatyti, kiek bitų pakanka kiekvienam vaizdo taškui užkoduoti.

- Vaizdų atėmimas ir pasikeitimų nustatymas $v = u_1 - u_2$.
- Histogramų operacijų taikymas spalvotiems vaizdams

Spalvotą vaizdą galima traktuoti, kaip tris atskirus nespalvotus vaizdus, arba visoms komponentėms pritaikyti tą pačią, arba kiekvienai skirtingą operaciją. Pastarosios paprastai nusakomos vaizdo taškų reikšmių keitimo grafiku. Pateikiami kai kurie pavyzdžiai:

1) Visoms komponentėms pritaikyti tą pačią funkciją. Ši operacija paprastai naudojama pakeisti ryškumą ir kontrastą, tačiau ji gali nepageidautinu būdu pakeisti ir spalvas. Todėl geriau naudoti kitą būdą.

2) Apskaičiuoti dydį

$$Y = 0,299R + 0,587G + 0,114B \quad (2.16)$$

ir šiam dydžiui pritaikyti funkciją norima pakeitimo funkcija. Čia R,G,B skirtingą spalvą atitinkanti matrica. Ši operacija dirba lėčiau nei pirmoji, tačiau ji sėkmingai keičia ryškumą ir kontrastą, nekeisdama spalvinio tono ir sodrumo.

3) Spalvinio tono ir sodrumo pakeitimui galima kiekvienai spalvos komponentei pritaikyti atskirą funkciją.

4) Sodrumo pakeitimui naudoti tokį pakeitimą: konvertuoti RGB (angl. *Red Green Blue*) į HSV (angl. *Hue Saturation Value*) spalvų paletę. Tuomet pritaikyti norimą funkciją.

5) Neįprastus efektus galima gauti vieną spalvų erdvės dimensiją (pavyzdžiui Y), panaudojant kaip funkcijos argumentą, tačiau kiekvienai komponentei taikant skirtingą funkciją.

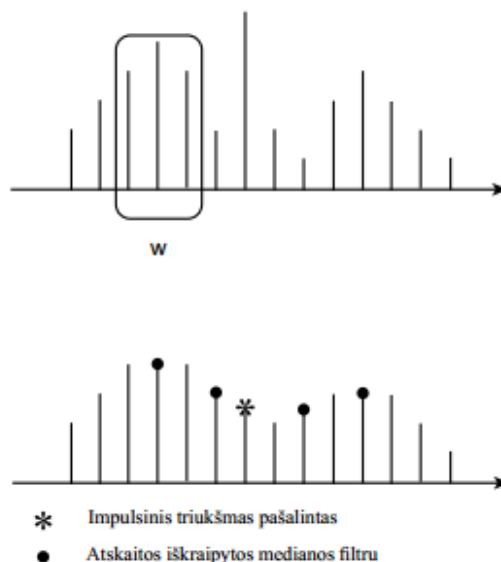
Jei naudotume 2 numeriu pažymėtą Y spalvų reikšmę, tai gautume nespaltotą vaizdą, tačiau funkcijas galime parinkti taip, kad, pavyzdžiui, didelėms Y reikšmėms gautume raudoną spalvą, o mažoms – mėlyną. Toks vaizdas ne tik gražesnis, bet ir informatyvesnis, ypač jei norima pavaizduoti šilumos pasiskirstymą ar kitą panašų fizikinį reiškinių. Kadangi DEG vaizdai yra vienspalviai, tai spalvines savybes galima panaudoti tiriamų duomenų savybių atvaizdavimui.

Vykdamas DEG gelio skanavimą įsivelia pavienių, atsitiktinių klaidingų vaizdo taškų. Taip yra gaunamas impulsiniu triukšmu užterštas vaizdas. Klasikinis impulsinio triukšmo šalinimo būdas – panaudoti medianos filtrą. Aibės atskaita $x(m)$ mediana yra toks aibės narys $x_{med}(m)$, kad pusė aibės narių yra didesni už $x_{med}(m)$ ir pusė narių yra mažesni už $x_{med}(m)$. Tokiu būdu aibės atskaita – mediana yra gaunama surūšius atskaitas didėjimo ar mažėjimo tvarka ir paėmus vidurinę reikšmę Medianos filtre tam tikro dydžio lango slenka signalu ir suskaičiuota vidutinė atskaita yra pakeičiama centrine slenkančio lango reikšme.

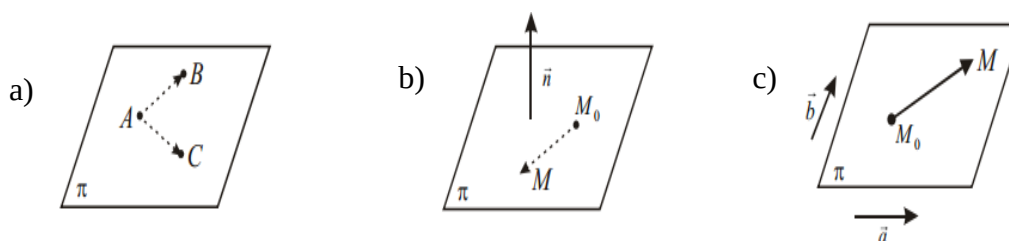
2.4 paveiksle matyti pasirinkto lango ilgis 3 atskaitos. Apatinėje paveikslo dalyje matyti filtru paveiktas impulsinis triukšmas. Signalas medianos filtro išėjime $x(m)$, kai įėjimo signalas yra $Y(m)$, o lango ilgis $2K + 1 = w$, yra:

$$x(m) = y_{Med}(m) = \text{median}[y(m-K), \dots, y(m), \dots, y(m+K)] \quad (2.16)$$

Netolygus gelio nuskaitymas gali įnešti plokštuminį, globalų viso paveikslo iškraipymą. Kuomet vienas gelio kraštas, lyginant su kitu, įgyja aukštesnes vertes, todėl nekorektiškai nustatomas baltymo kiekis.



2.4 pav. Impulsinio triukšmo šalinimas medianos filtru (Vaseghi 2000)



2.5 pav. Impulsinio triukšmo šalinimas medianos filtru (Stefanovič 2010)

Suvienodinti kelis baltymų pėdsakus, galima pritaikant plokštumos lygtį. Geometriškai plokštumą apibrėžiama trimis būdais:

- 1) trimis taškais A , B , C , nepriklausančiais vienai tiesei. Tokiu atveju plokštumą žymėsime ABC (2.5 pav., a);
- 2) tašku M_0 ir vektoriumi n , statmenu plokštumai, kuris vadinamas plokštumos normaliuoju vektoriumi. Tokią plokštumą žymėsime $[M_0, n]$ (2.5 pav., b);
- 3) tašku M_0 ir dviem nekolineariais vektoriais $\vec{a}$ ir $\vec{b}$, lygiagrečiais su plokštuma. Tokią plokštumą žymėsime simboliu $[M_0, \vec{a}, \vec{b}]$ (2.5 pav., c).

Plokštumos lygtis priklauso ne tik nuo koordinačių sistemos parinkimo. Jos forma priklauso nuo plokštumos apibrėžimo būdo (Baškienė 2005).

Išnagrinėkime plokštumą ABC , apibrėžtą trimis taškais A , B , C , nepriklausančiais vienai tiesiai (2.5 pav. a). Kadangi vektoriai $\overrightarrow{AB}$ ir $\overrightarrow{AC}$ yra nekolinearūs ir lygiagretūs su plokštuma, tai plokštuma $ABC = [A, \overrightarrow{AB}, \overrightarrow{AC}]$. Lygtyse vietoj M_0 įrašę A , o vietoj $\vec{a}$ $\vec{b}$ įrašę atitinkamai $\overrightarrow{AB}$ ir $\overrightarrow{AC}$, gausime plokštumos ABC lygtis. Vektorinės plokštumos ABC lygtis: $(\overrightarrow{AM}, \overrightarrow{AB}, \overrightarrow{AC}) = 0$, vektorinė parametrinė lygtis: $\overrightarrow{AM} = u\overrightarrow{AB} + v\overrightarrow{AC}$,

$$\text{parametrinės lygtys: } \begin{cases} x = x_1 + u(x_2 - x_1) + v(x_3 - x_1), \\ y = y_1 + u(y_2 - y_1) + v(y_3 - y_1), \\ z = z_1 + u(z_2 - z_1) + v(z_3 - z_1). \end{cases} \quad (2.17)$$

Čia x_1, y_1, z_1 – taško A afiniosios koordinatės, x_2, y_2, z_2 – taško B koordinatės, x_3, y_3, z_3 – taško C koordinatės, x, y, z – bet kurio plokštumos taško M koordinatės, $u \in R, v \in R$ – parametrai.

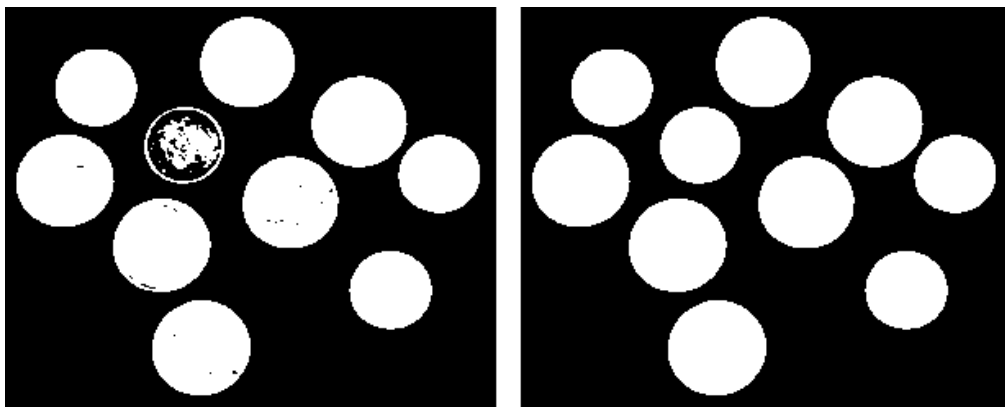
$$\text{Plokštumos } ABC \text{ lygtis, išreikšta determinantu: } \begin{vmatrix} x - x_1 & y - y_1 & z - z_1 \\ x_2 - x_1 & y_2 - y_1 & z_2 - z_1 \\ x_3 - x_1 & y_3 - y_1 & z_3 - z_1 \end{vmatrix} = 0. \quad (2.18)$$

Išskleidę determinantą gauname bendrąją plokštumos lygtį. Parinkę tris DEG vaizdo reikšminius vaizdo taškus, galima rasti atitinkamą plokštumos lygtį ir įvertinti jos pasvirimo kampą. Nesunku rasti kiekvieno taško naująją vertę, gaunant ištiesintą plokštumą.

2.2 skyriuje nagrinėta DEG užteršimo problema, vaizde aplink baltymą esančio gelio intensyvumo nevienodumui. Spendžiant šią problemą galima išskirti baltymo pėdsakus. Segmentavimu vadinsime vaizdo skaidymą į sritis, turinčias tam tikrą prasmę vaizdo turinio ar taikomojo uždavinio požiūriu. Skaidymas atliekamas prieš analizę (arba atpažinimą), t. y. vaizdas iš pradžių segmentuojamas, po to apdorojami jo rezultatai.

Segmentavimo algoritmus galima suskirstyti į 3 klases:

- 1) segmentavimas remiantis globaliomis žiniomis apie vaizdo taškų intensyvumus, tai yra, analizuojant vaizdo histogramą;
- 2) segmentavimas remiantis sritimis, kuris atliekamas skaidant vaizdą į sritis, turinčias panašias savybes. Čia nagrinėjamos savybės tam tikroje vaizdo taško aplinkoje ir sritis aplink vaizdo tašką auginama tol, kol gretimi vaizdo taškai turi panašias savybes;
- 3) segmentavimas remiantis sričių kraštais, tai yra, naudojantis anksčiau aprašytais kraštų radimo algoritmais. Randamas uždaras srities kraštas, kuris apibrėžia srities vidų ir išorę.

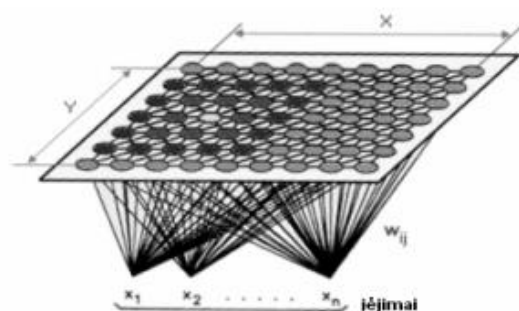


2.6 pav. Segmentuoto vaizdo pėdsakų užpildymas

2.6 pav. pateikiama gautų, atrinktų vaizdo elementų nevientisumas. Taip pat pateiktas rezultatas, kuriame matyti užpildyti segmentai. Turint išskirtus segmentus galima nustatyti jų išsidėstymą. Gaunant pastarojo žemėlapi su prielaida, kad pateikiamas tinkliuko tipo saviorganizuojantis neuronų tinklas, atkartos vaizde esančius segmentus, kuriuose manomai atsispindės ir vaizdo iškraipymai.

Sakykime, kad turime analizuojamų duomenų aibę $X = \{X_1, X_2, \dots, X_m\}$, kurią sudaro vektoriai $X_1, X_2, \dots, X_m$, charakterizuojantys tam tikrą objektų aibę, ji apibūdinama bendrais parametrais $x_1, x_2, \dots, x_n$, čia m – analizuojamų objektų (vektorių) skaičius, n -parametrų skaičius. Parametrų reikšmės $x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{in}$ ir yra vektoriaus $X_i, i \in \{1, \dots, m\}$ komponentės. Taigi $X_1, X_2, \dots, X_m$ yra n -mačiai vektoriai, kurie interpretuojami kaip taškai n -matėje erdvėje R^n , čia n – erdvės matmenų skaičius. Iš tiesų turime analizuojamų duomenų aibės matricą $X = \{X_1, X_2, \dots, X_m\} = \{x_{ij}, i = 1, \dots, m, j = 1, \dots, n\}$, jos eilutės yra vektoriai $X_i = (x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{in})$, $i = 1, \dots, m$, čia x_{ij} yra i -ojo vektoriaus j -oji komponentė.

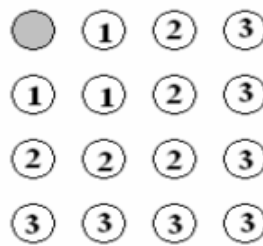
Saviorganizuojantis neuroninis tinklas yra neuronų, paprastai išdėstytų dvimačio tinklelio, dar vadinamo žemėlapiu arba lentele, mazguose, masyvas M . Stačiakampis topologijos atveju $M = \{M_{kl}, k = 1, \dots, r, l = 1, \dots, s\}$, čia r -tinklo eilučių skaičius, s -tinklo stulpelių skaičius, M_{kl} -vektorius, kurio matmenų skaičius n yra toks pat, kaip mokymo duomenų vektorių. Dažniausiai yra analizuojami dvimačiai SOM (angl. *Self-Organizing Map*) tinklai (žiūrėti 2.7 pav.), nors galimi ir didesnio matmenų skaičiaus tinklai.



2.7 pav. Dvimatis SOM tinklas (Stefanovič 2010)

Nagrinėjant saviorganizuojančius tinklus yra naudojama sąvoka epocha. Epocha – tai mokymo proceso dalis, kurios metu visi mokymo aibės vektoriai nuo X_1 iki X_m (m -vektorių skaičius) po vieną kartą pateikiami į tinklą nuosekliai arba atsitiktine tvarka.

Turėdami SOM žemėlapyje atvaizduotus neuronus nugalėtojus, galime apibrėžti sąvoką „kaimynystės eilė“. Apie neuroną nugalėtoją esantys neuronai yra vadinami pirmos eilės kaimynais. Atokiau esantys neuronai, yra antros eilės kaimynai ir t.t. (2.8 pav.)



2.8 pav. Kaimynystės eilė neurono nugalėtojo (pilkas) atžvilgiu (Stefanovič 2010)

Pats populiariausias SOM vizualizavimo būdas yra unifikuotos matricos vaizdavimas (U-matrica, angl. *unified distance matrix*). U-matricą sudaro atstumai tarp kaimyninių SOM neuronų. Paprastai daugumoje sistemų jie vaizduojami keliomis spalvomis. Jei vidutinis atstumas tarp kaimyninių neuronų yra mažas – naudojama šviesesnė spalva, jeigu didelis – tamsesnė.

Pradžioje neuronų (vektorių) M_{k1} komponentių pradinės reikšmės dažniausiai nustatomos atsitiktinai. Neuroniniam tinklui daug kartų pateikiama skirtingų objektų, nusakomų n -mačiais vektoriais $X_1, X_2, \dots, X_m$. Kiekviename mokymo žingsnyje (iteracijoje) vienas aibės vektorius $X_p \in \{X_1, X_2, \dots, X_m\}$ pateikiamas į tinklą. Vektorius X_p palyginamas su visais neuronais M_{k1} : dažniausiai skaičiuojamas Euklido atstumas $|X_p - M_{k1}|$ tarp šio vektoriaus X_p ir kiekvieno neurono M_{k1} . Randama, iki kurio neurono $M_c \in \{M_{k1}, k=1, \dots, r, l=1, \dots, s\}$ atstumas yra mažiausias. Rastas neuronas M_c vadinamas neuronu (vektoriumi) nugalėtoju. Visų tinklo neuronų komponentės keičiamos naudojantis interaccine formule

$$M_{k1}(t+1) = M_{k1}(t) + h_{k1}^c(t)(X_p - M_{k1}(t)). \quad (2.19)$$

Šioje formulėje t yra iteracijos numeris, h_{k1}^c – kaimynystės funkcija. Baigus tinklo mokymą, vadinamoji testavimo duomenų (vektorių) aibė pateikiama į tinklą, randamas kiekvieno vektoriaus nugalėtojas. Jį atitinkančiame žemėlapių langelyje užrašomas vektoriaus eilės numeris arba klasės, kuriai priklauso šis vektorius, pavadinimas, tai yra, žemėlapis sužymimas (Stefanovič 2010).

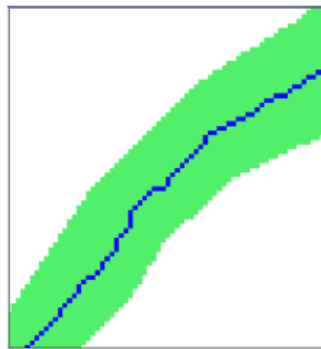
2.2 skyriuje aptartos fizikinės DEG duomenų gavimo savybės leidžia teigti, kad vaizduose yra pasikartojančios vertikalios ir horizontalios struktūros. Reikia vaizde nustatyti ir išskirti linijas. Dauguma nesudėtingų linijų išskyrimo skaitmeniniame vaizde metodų, buvo sukurta daugiau nei prieš 30 metų. Šie metodai yra daugumos vektorizavimo algoritmų pagrindas. Linijų išskyrimo metodai yra skirstomi į 6 klases:

- Paremti transformavimu (angl. *Hough transform* (HT)).

Metodai transformuoja, skaitmeniniame vaizde esančias dideles erdvės struktūras, į mažesnes struktūras parametro erdvėje. Šis sprendimas padeda išvengti problemų, susijusių su globalia detekcija (kai objektų reikia ieškoti visame skaitmeninio vaizdo plote), ją suspaudžiant iki mažų objektų paieškos parametro erdvėje. Tokiu būdu šiuo metodu paremti algoritmai kiekvieną vaizdo tašką turi aplankyti tik vieną kartą.

- Paremti ploninimu (angl. *Thinning*).

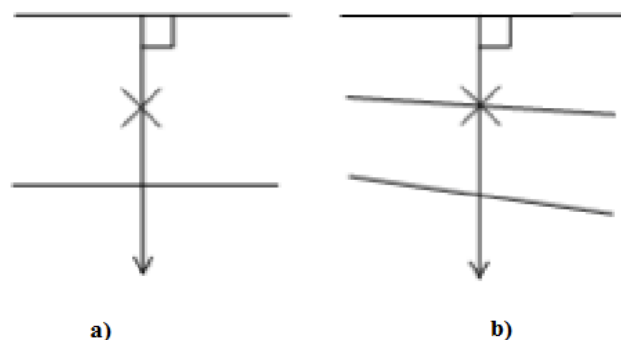
Linijos ploninimo (Skeletavimas) metodas paremtas iteraciniu visų rastų vaizdo taškų perėjimu. Kiekvieno perėjimo metu yra šalinami ribiniai linijų vaizdo taškai, taip galų gale, gaunant skeletines linijas. Ploninimu paremtas vektorizavimas yra pavaizduotas 2.9 paveiksle.



2.9 pav. Vektorių išskyrimas naudojant linijų ploninimo metodą (tamsesnė linija yra gauta atlikus ploninimą)

- Paremti kontūro radimu (angl. *Contour*).

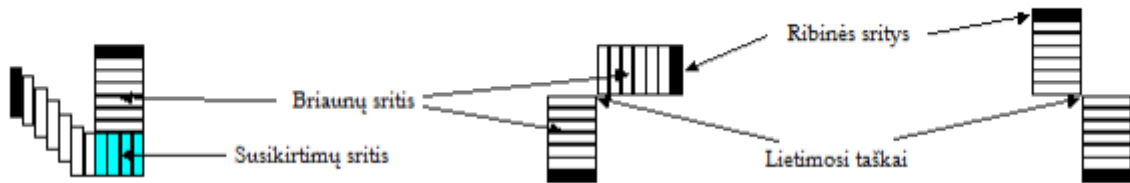
Pagrindinis šių metodų uždavinys yra rasti linijinių objektų kraštus (kontūrus) ir tada apskaičiuoti ašinių linijų taškus tarp abiejų kontūro lygiagrečių. Kraštų radimu paremtas vektorizavimas pavaizduotas 2.10 paveiksle.



2.10 pav. Vektorių išskyrimas naudojant kontūrų radimą: a – vidurio taškas tarp lygiagrečių b – apytikslis vidurio taškas

- Paremti grafo perėjimu (angl. *run-graph*).

Naudojama, atvaizduoti skaitmeninį vaizdą, kaip pusiau vektorinę struktūrą. Tai palengvina linijų radimą bei kitus vektorizavimo veiksmus. Grafo perėjimu paremtas vektorizavimas pateiktas 2.11 paveiksle.

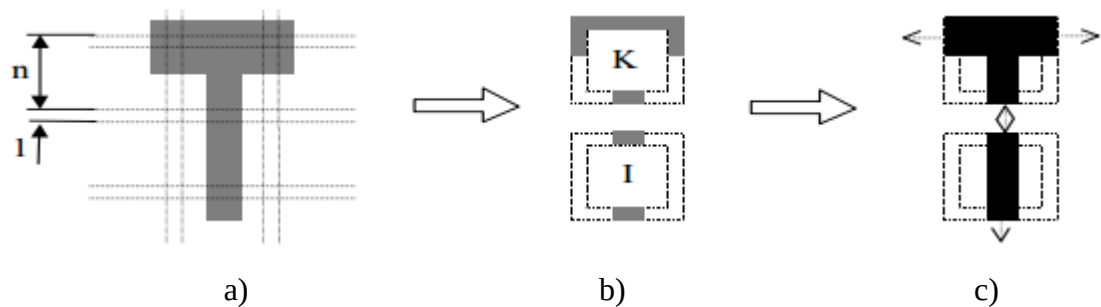


2.11 pav. Vektorių išskyrimas naudojant grafo perėjimą (Jasevičius 2009)

2.11 pav. pavaizduota keletas grafo perėjimo būdų, kaip pastebime, kryptis gali būti horizontali bei vertikali. Šiuo atveju analizuojami tik juodi vaizdo taškai.

- Paremti tinklelio modeliu (angl. *Mesh pattern*).

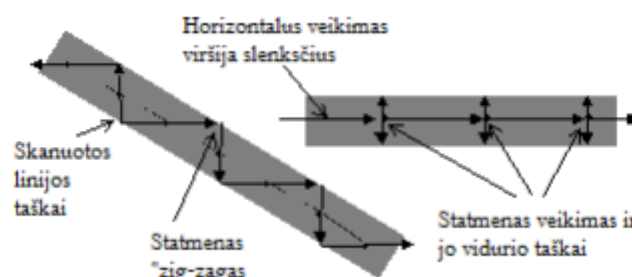
Skaitmeninis vaizdas tinklelio pagalba padalinamas į kvadratus, tada ieškoma charakteringų struktūrų, tikrinant tik juodų vaizdo taškų išsidėstymą prie kiekvieno tinklelio elemento. Išskyrus charakteringas struktūras yra sudaromas kontrolinis vaizdo žemėlapis, kurį analizuojant yra išskiriami vektoriai. Tinklelio modeliu paremtas vektorizavimas nurodomas 2.12 paveiksle.



2.12 pav. Vektorių išskyrimas naudojant tinklelio modelį: a – uždėtas tinklelis c – tinklelio elementams suteikti vardai ir sudarytas vaizdo kontrolinis žemėlapis iš dviejų centrinių vaizdo tinklelio elementų c – išskirti vektoriai analizuojant kontrolinį žemėlapi (Jasevičius 2009)

- Paremti vaizdo taškų sklaidymu (angl. *Sparse pixel*).

Kitaip žinomas kaip ortogonalus (stačiakampis) zig-zagas (angl. *Orthogonal Zig-Zag* (OZZ)). Paremtas vieno vaizdo taško kelio sekimu. Kelias tampa stačiakampiu kai tik atsiranda ant juodų vaizdo taškų ploto ribos. Kiekvieno kelio sekimo vidurinysis taškas bus išskiriamos linijos taškas. Vaizdo taškų sklaidymu paremtas vektorizavimas nurodomas 2.13 paveiksle.



2.13 pav. Vektorių išskyrimas naudojant vaizdo taškų sklaidymu paremtą metodą (Jasevičius 2009)

Visi metodai, išskyrus paremtus transformavimu (HT), yra atliekami pagal tokią schemą:

- 1) Vidurinėsios ašies atrinkimas, šios procedūros metu yra nustatomi taškai, sudarantys centrinę vektorizuojamos linijos ašį.
- 2) Linijos sekimas. Pirmojo etapo metu atrinkti taškai yra susiejami į bendrą grandinę, kuri reprezentuoja vektorių.
- 3) Linijos segmento aproksimacija. Iš sudarytos grandinės pašalinami nekritiniai linijos taškai ir sukuriamas vektorius (Jasevičius 2009).

Apibendrinimas

Dvimatės elektroforezės gelių vaizdai yra svarbus moksliniams tyrimams, analizuojant ląstelę sudarančius baltymus. Tačiau didelė problema yra DEG vaizdų geometriniai iškreipimai. Jie turi įtaką tolimesnei, teisingai veiksmų sekai, segmentuojant baltymų pėdsakus, lyginant juos tarpusavyje, nustatant jų kiekį bei pokytį, skirtingu laiku darytuose DEG vaizduose. DEG atlikimo metodas nusako galimas gelio fizikines savybes, t.y., vertikalių ir horizontalių tiesinių elementų pasireiškimą. Tokių elementų netiesiškumas leidžia daryti prielaidą apie gelio iškreipimus. Galimi skirtingi baltymų pėdsakų iškreipimo šalinimo metodai, tačiau juos visus galima apibendrinti dviem pagrindiniais etapais. Pirmas etapas – iškreipimo nustatymas ir jo radimas vaizde. Antras etapas – nustatyto iškreipimo šalinimas. Pastarąjį galima atlikti, vaizdą paveikiant įvairiomis transformacijomis. Vaizdo transformacijos naudojamos ir įvairių vaizdo charakteristikų išskyrimui ar vaizdo taškų perskaičiavimui atliekant: triukšmo šalinimus, kontrasto ar šviesumo išlyginimus, segmentavimus, linijų radimus, plokštumos išlyginimus, duomenų žemėlapių sudarymus, linijų radimus.

3.ALTERNATYVŲSUDĖTINIAI BALTŲMŲ PĖDSAKŲ GEOMETRINIŲ IŠKRAIPYMŲ ŠALINIMO ALGORITMAI

Antrame skyriuje nagrinėta dvimatės elektroforezės svarba baltymų tyrimuose. Tyrinėjant DEG išgavimo technologiją parodyti trūkumai – atsirandantys geometriniai iškraipymai. Aptarti DEG vaizdų baltymų pėdsakų iškraipymo metodai. Nagrinėtos vaizdų apdorojimo priemonės, skirtos vaizdams transformuoti ar jiems apdoroti. Šiame skyriuje, pasinaudojus tyrinėtais metodais, aptariamos alternatyvų sudarymo strategijos. Pateikiami pagrindiniai žingsniai baltymų pėdsakų geometrinių iškraipymų šalinimo siūlomuose algoritmuose. Detaliai išaiškinamos sudėtinių algoritmų sudedamosios komponentės bei išnagrinėjami algoritmų įgyvendinimo ypatumai.

3.1. Alternatyvų sudarymo strategija

Pagrindiniai etapai baltymų pėdsakų geometrinių iškraipymų šalinimo algoritmuose: a) duomenų įvestis, b) baltymų pėdsakų geometrinio iškraipymo išskirimas ir analizė c) iškraipymo šalinimas, d) duomenų kaupimas, vizualizavimas. Šiuos etapus galima išskaityti į smulkesnes dalis. Algoritmo sudarymo strategijos skirtumai, tai kažkurių, detalesnių dalių, atlikimo nuoseklumas.

Pirmasis etapas DEG gelių vaizdų apdorojime yra įvestis. Išskirti elektroforezės vaizdai gali būti vizualizuojami skirtingomis priemonėmis, į tai reikia atsižvelgti nuskanuojant vaizdą. Įvesties įrenginys gali būti tiek duomenų skeneris (buitinis), tiek tam skirtas specialus, akiai nematomų dažų, skeneris. Atsižvelgiant į galimus skenavimo triukšmus, netolydų vaizdo taškų pasiskirstymą, pirmą etapą konkretizuojame grupe bazinių žingsnių:

Filtravimas – pirminis vaizdo filtravimas iš esmės yra būtinas, nes skenuojant DEG vaizdus yra įnešamas triukšmas. Šis triukšmas susidaro dėl dulkių, skenuojamo gelio paviršiuje. Skanuotus vaizdus saugant į tam tikrą formato failą taip pat gali būti prarandamas tikslumas. Pirmajam žingsniui galima priskirti ir pradinį vaizdo dydžio sumažinimą nukerpant kraštus, jei juose nėra DEG gelio informacijos.

Histograminis išlyginimas – galimas vaizdų įvesties apdorojimo žingsnis, kurio metu, turimi vaizdo taškų duomenys yra išlyginami visoje intensyvumo reikšmių aibėje. Tai leidžia atlikti skaičiavimus pilname vaizdo taško intensyvumo diapazone. Vaizdo įvesties metu pasirinktas skenavimo įrenginys turi savitą dinaminį diapazoną, kuomet yra gaunami tik tam tikro intensyvumo vaizdo taškai, taigi juos patogų suvienodinti.

Filtravimas – antrinis vaizdo filtravimas žingsnis. Šis skirtingai nei pirmas, turi įtakos skaičiavimų kiekiui. Pasirinktas filtravimas įveda į antrąjį DEG vaizdų analizės etapą. Parinkus reikiamą filtrą, įvesties vaizdą galima apdoroti taip, kad kitas etape palengvėtų skaičiavimai. Filtruojant yra išryškinami vertikalūs vaizdo kontūrai, todėl skaičiavimus pakanka atlikti viena kryptimi, tai priklauso nuo tolesnės strategijos.

Antrasis etapas yra labai svarbus gelių vaizdų analizei. Tai labiausiai įtakoja DEG vaizdų iškraipymo šalinimo rezultatus. Šių žingsnių nuoseklumas ar parametrų pasirinkimas stipriai įtakoja galutinį rezultatą, todėl kitoks skirtingų parametrų parinkimas arba kitoks veiksmų nuoseklumas, traktuojamas, kaip skirtingas skaičiavimo algoritmas. Antrame etape išskiriami šie žingsniai:

Duomenų kadravimas – reikalingas, siekiant dinamiškai pritaikyti kitų žingsnių parametrus. Duomenų kadravimas leidžia atitinkamai lokaliaje srityje, nustatyti vaizdo parametrus. Iš nustatyto kadro dydžio, turimų lokalių vaizdo parametrų galima rasti vyraujančią vaizdo deformacijos kryptį. Jei kadras yra persidengiantis, galima nustatyti jo persidengimo gylį ir taip spręsti krašto efekto problemą. Ši problema iškyla, apdorojant vaizdą filtrais, kuomet skaičiavimams yra reikalingi papildomi, už vaizdo ribų esantys, duomenys. Persidengiančio kadro panaudojimas leidžia, centre esančius duomenis vertinti pasvertai, jiems suteikiant didesnę reikšmingumą skaičiavimuose.

Linijų radimas – turimuose lokaliuose kadruose, galima nustatyti keletą reikšminių vaizdo deformacijos krypčių. Taikant įvairius skirtingus kontūrų detektavimo būdus. Tuomet nustatomi skirtingi, nevienodo dydžio, vaizdo nuokrypiai. Kadangi DEG vaizde, nagrinėtos antrame skyriuje, yra galimos vertikalios arba horizontalios tendencijos, tai kadre ir bus ieškoma atitinkamą kampą su horizontale turinti atkarpa.

Linijų pratęsimas yra kitas, apdorojimo žingsnis. Linijų radimo metodai negarantuoja rastos linijos ilgio, nes nėra apibrėžtas ir žinomas į kadrą papuolančio vaizdo derinys. Jei linija buvo nustatyta kadre, patogu ją pratęsti iki kadro kraštų. Prailgintas linijas galima grupuoti, atrinkinėti, jungti su greta esančiais kadrų, taip nustatant globalias arba paliekant lokalias vaizdo deformavimą žyminčias atkarpas.

Artimiausių kaimyninių atkarpų atranka leidžia išskirti reikšmingas atkarpas. Šis žingsnis sprendžia neteisingai arba nereikšmingai nustatytų atkarpų problemą. Kitaip sakant iš surastų atkarpų aibės, leidžia išrinkti susijusias linijas, esant tam tikram panašumui. Paskutinis parametras turi didelę įtaką tolimesniems skaičiavimams ir jų apimtims. Būtina įvertinti vaizdo fizinius parametrus, nes parinkus netinkamo dydžio kadrą ir pernelyg atleidžiai sugrupavus arba iš viso atsisakius grupavimo, gausime didelį kiekį perteklinės informacijos, kuri apsunkins vaizdo iškraipymų koregavimą.

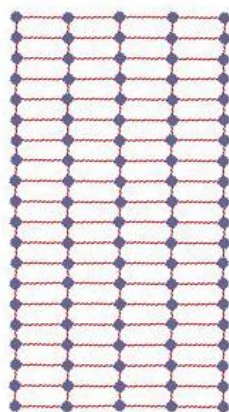
Atkarpų grupavimas labai panašus žingsnis į artimiausių atkarpų radimą, tačiau šiuo atveju yra išskiriama grupė artimų atkarpų. Pirmiausia yra nustatomos aibės artimų kaimyninių atkarpų, antra, iš šių aibių galima išskirti grupes.

Grupių atranka leidžia detalizuoti bei parametrizuoti nustatytas grupes, įvedant norimą grupių dydžio parametą. Kadangi DEG vaizde yra galimi tiek lokalūs, tiek globalūs iškraipymai, tai atlikus šį žingsnį, galima nustatyti globalaus iškraipymo dydžio minimalią vertę.

Korekcinių taškų nustatymas – iš išskirtų ir atrinktų atkarpų, reikia išskirti reikšminius taškus. Tai galima atlikti tiesiškai ar aproksimuojant n -tokios eilės daugianariu. Pasirinkta strategija apsprendžia algoritme naudojamus parametrus. Tiesioginis geometrinio iškraipymo įvardinimas vaizdo taškų koordinatėmis reikalauja, rasti ir spėjamas teisingas iškreipto vaizdo taškų koordinatas. Jomis remiantis bus atstatomas geometrinis DEG vaizdo iškraipymas.

Taškų atvaizdavimas – svarbus žingsnis tyrėjui, kadangi yra du skirtingi etapai. Pirmasis – iškraipymo nustatymas, antrasis – nustatyto iškraipymo korekcija. Šios informacijos atvaizdavimas leidžia tyrėjui pastebėti neteisingo iškraipymo galimybę, ir įvertinti, kuri DEG vaizdo lokali vieta buvo labiausiai iškraipyta.

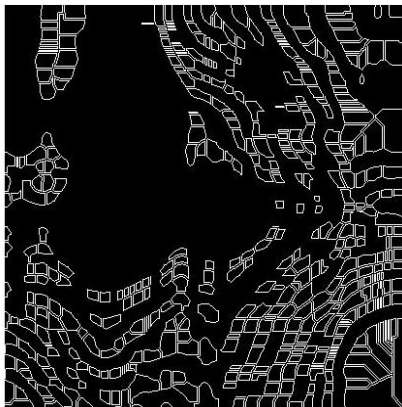
Duomenų atkartojimas save organizuojančiu tinklu yra alternatyvus, vaizde esančios tendencijos, nustatymo metodas. Save organizuojantis žemėlapis SOM (angl. *Self-Organizing Map*) – gali atkartoti duomenų tendencijas. Kitaip tariant, parinktas ir apmokytas tinklas išsidėsto tokia pačia tvarka, kaip ir duomenys. Siekiant nustatyti vaizdo tendencijas ir žinant, kad vaizde gali būti vyraujančios horizontalios ir vertikalios linijos, buvo nustatyta stačiakampio formos neuronų tinklas (žiūrėti 3.1 pav.).



3.1 pav. Save organizuojančio žemėlapio struktūra

Atitinkamai kiekvieno tinklelio taškas yra neuronas turintis įėjimo vektorių. Šiuo atveju įėjimo vektorius yra sudarytas iš dviejų vaizdo taško koordinatžių. Kiekvienas neuronas jungiasi su, greta esančiais, neuronais. Jungtys turi savo pasvertąjį koeficientą. Tokiu būdu neuronų

tinklelis išsidėsto pagal svorių koeficientus dvimatėje koordinačių plokštumoje. Ši SOM struktūra yra pirminė. Ji dar neapmokyta jokiais duomenimis, taigi yra būtinas apmokymo duomenų rinkinys. Tokį rinkinį sudarys DEG vaizdo baltymų kontūrų pasiskirstymo duomenys (3.2 pav.).



3.2 pav. Save organizuojančio tinklui apmokyti skirti duomenys

3.2 pav. juodame fone yra apibrėžti DEG vaizdo baltymų pėdsakai. Apmokius SOM tinklą turimais duomenimis, jis turi atkartoti duomenų pasiskirstymą. Iš neuronų pasiskirstymo siekiama gauti, vaizde esančių baltymų pasiskirstymus horizontaliomis ir vertikalėmis kryptimis.

Apmokytas neuronų tinklas atkartojo duomenų pasiskirstymo tendencijas. Tinklo struktūra po apmokymų pateikiama 3.3 paveiksle. Paveiksle pateikiama neuronai išsidėstę dvimatėje koordinačių plokštumoje ir baltymų pėdsakų kontūrai.



3.3 pav. Apmokytas save organizuojantis žemėlapis

SOM tinklas atkartoja DEG vaizdo baltymų pėdsakų išsidėstymo tendencijas. Tačiau yra būtinas papildomas duomenų apdorojimas siekiant išgauti baltymų horizontalius ir vertikalius pasiskirstymus. Todėl šis žingsnis toliau naudojamas nebus nes, reikalingos papildomos sąnaudos DEG vaizdų geometrinių iškraipymų tendencijos nustatymui.

Trečiasis etapas yra iškraipymo šalinimas.

Išlyginimo transformacija, tai transformacija, kurios metu išskirti vaizdo taškai yra perkelti į kitą vietą. Pagal nustatytą geometrinių iškraipymą, yra gaunami koreguojami taškai.

Naudojant tiesių atrinkimo strategiją, galima išskirti du alternatyvius iškraipymo šalinimo būdus remiantis:

- atkarpa – dviem taškais žyminčiais atkarpos pradžią ir pabaigą;
- pavieniais vaizdo taškais gautais iš iškraipymo tendencijos aproksimavimo daugianariu.

Plokštumos išlyginimas, tai transformacija, ištiesinanti viso vaizdo globalų iškraipymą, įtakotą netolygia vaizdo plokštuma. Tuomet vienas gelio kraštas yra arčiau skenavimo įrenginio paviršiaus nei kitas. Pagal nustatytą iškraipymą galima išlyginti vaizdo taškų intensyvumo globalų plokštumos nuokrypį.

Ketvirtasis etapas – duomenų kaupimas ir atvaizdavimas. Kaupiami duomenys tolimesnei analizei yra išsaugomi paveikslo pavidalu. Atvaizduotas pirminis ir pakoreguotas vaizdas, leidžia vizualiai įvertinti atliktus pakeitimus. Labai svarbu tyrėjams turėti informaciją apie iškraipymus, kurie galėjo įtakoti rezultatus bei, kurie gali turėti įtakos baltymo kiekio nustatymui. Todėl papildomai gali būti išsaugomi ir DEG vaizdo iškraipymo atstatymui, naudotos vaizdo taškų koordinatės.

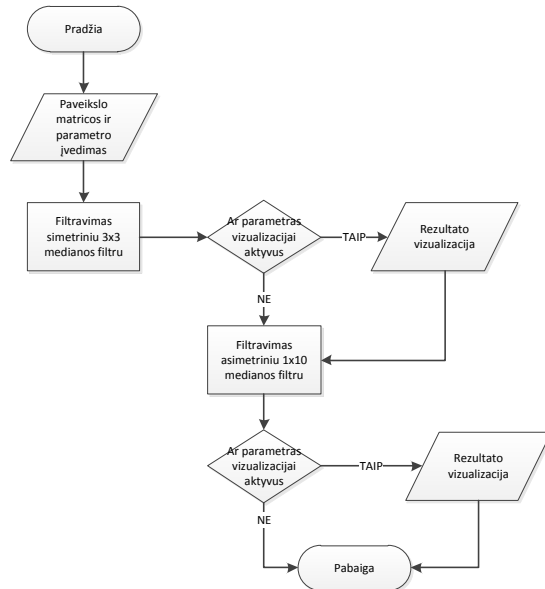
Iš atitinkamų žingsnių sudaromas algoritmas, kurio uždavinys – rasti ir ištaisyti vaizdo geometrinius iškraipymus. Kadangi daugelis iš išvardintų žingsnių yra savarankiški, galima keisti jų tvarką. Kiti žingsniai, tokie kaip linijų atranka ar grupavimas, žinoma, privalo sekti tik po linijų išrinkimo iš vaizdo, todėl jų tvarkos keisti negalima. Pakeitus vieną ar kitą parametą iš iškraipymų, nustatymo ar šalinimo algoritmo, gausime visiškai kitokius rezultatus. Remiantis tokia strategija, atitinkamai reikia atsižvelgti į kadro dydį, linijų ilgį, filtrų dydžius, sujungiamų atkarpų grupės dydžius ir iškraipymo šalinimo algoritmo detalumą. Pasirinkus kitokią strategiją galima nustatyti vidutinio dydžio detalumo parametrus. Skirtingą duomenų kiekį naudoti iškraipymo radimui, teigiant, kad tarp nustatytų iškraipymų, vertės bus atitinkamai tolydžios.

3.2. Sudėtiniai algoritmai

Sudėtiniai algoritmai, tai algoritmai, kurių sudedamosios dalys yra sudaryti iš atskirų komponentų. Todėl kiekviena iš algoritmo dalių gali būti panaudojama pakartotinai keletą kartų. Daugeliu atvejų galima atsisakyti vieno ar kito algoritmo komponento bei pridėti papildomą. Taip iš vienujų algoritmo dalių yra sudaromi skirtingi, skirtingą rezultatą duodantys, algoritmai. Sudarant algoritmo dalis, panaudoti 3.1 skyriuje pateikti žingsniai. Šiuos žingsnius jungiant, išgauti ir sudaryti keli, skirtingą rezultatą pateikiantys, algoritmai.

Pirmasis sudėtinis algoritmas nuosekliai sudarytas iš žemiau pateiktų dalių. Toliau algoritmas bus vadinamas DEGT_GISA – Dvimatės Elektroforezės Gelių Vaizdų Iškraipymo Šalimas Taškais. Visų pirma būtina ir nepakeičiama dalis – įvestis. Algoritmo darbinio objektu

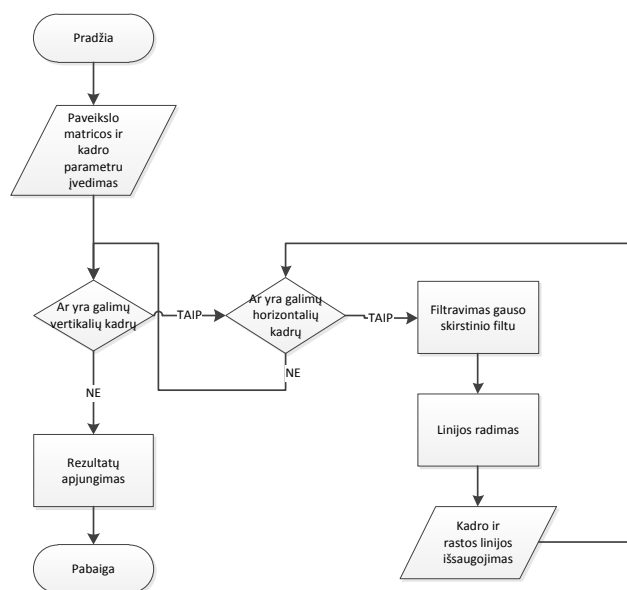
laikysime matricą. Matricos vertikalų ir horizontalų indeksą atitinka paveikslas taškas, atitinkamoje vietoje, o konkretus skaičius matricoje – vaizdo taško intensyvumą. Pirminį ir antrinį filtravimą apjungiamo ir įterpiame vizualizacijos kodą, kuris skirtas atvaizduoti pakeistus duomenis. Nurodžius vizualizacijos parametą galima įjungti arba išjungti tarpinių duomenų atvaizdavimą.



3.4 pav. DEG vaizdo filtravimo algoritmas

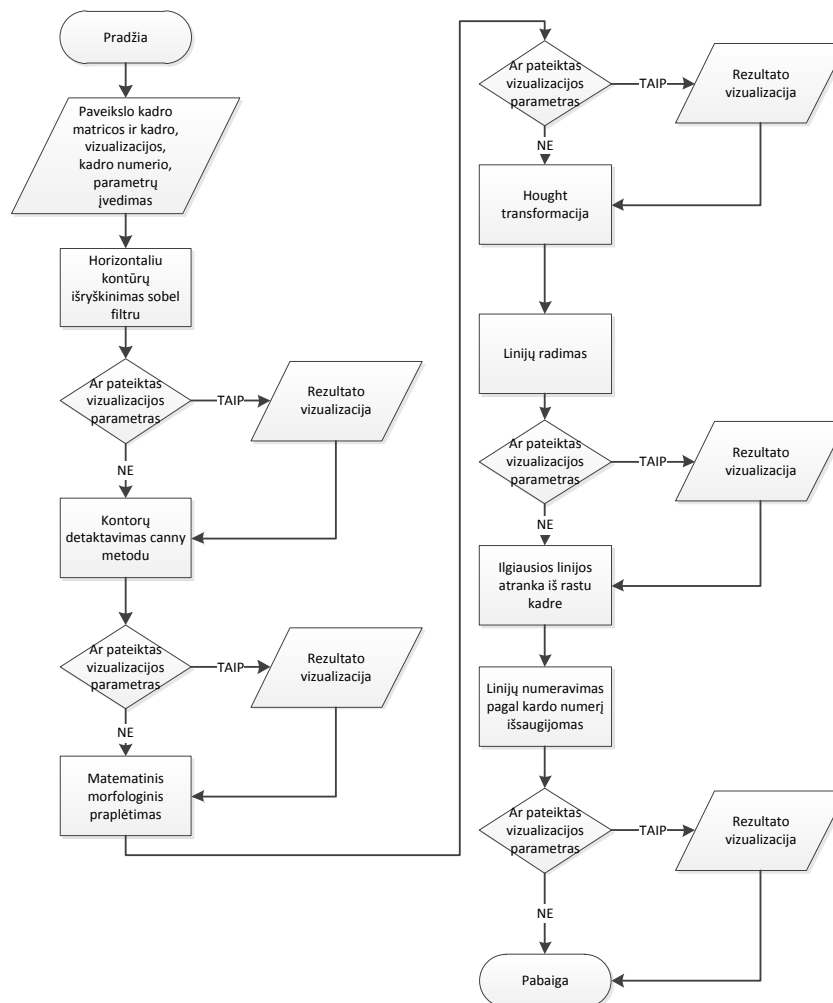
Pateiktame 3.4 pav., aprašyta algoritmo sudedamoji dalis, atliekanti pirminį ir antrinį filtravimus. Algoritmo sudedamosios dalies rezultatas yra vaizdo taškų matrica.

Kitas sudedamasis žingsnis yra linijų radimas. Tai sudėtingas veiksmas, kuris taip pat gali būti išskaitytas į eilę smulkesnių, pavienių veiksmų. Visų pirma yra naudojamas persidengiantis vaizdo kadravimas.



3.5 pav. DEG vaizdo kadravimo algoritmas

Kadravimo algoritme veiksmai atliekami iteravimo per vaizdo matricą kadru. Visų pirmą atskiriamas vertikalus kadras per visą vaizdo aukštį pagal nustatytą kadro pločio parametą, vėliau gautas rezultatas, dalinamas į horizontalius užduoto dydžio kadrus. Kiekviename atskirtame kadre yra vykdomas linijos radimo algoritmas. Galiausiai, kai neapdorotų duomenų nepakanka pilnam kadruui nei horizontalia, nei vertikalia kryptimis yra vykdomas rezultatų apjungimas. Tai yra rastos numeruotos linijos nustatyto dydžio matricomis perduodamos, kaip rezultatas. Linijų radimo algoritmo dalis pateikiama 2.6 paveiksle. Analogiškas parametras filtravimui yra skirtas kadro rastų alternatyvių linijų atvaizdavimui bei vienos atrinktos linijos išskyrimui.

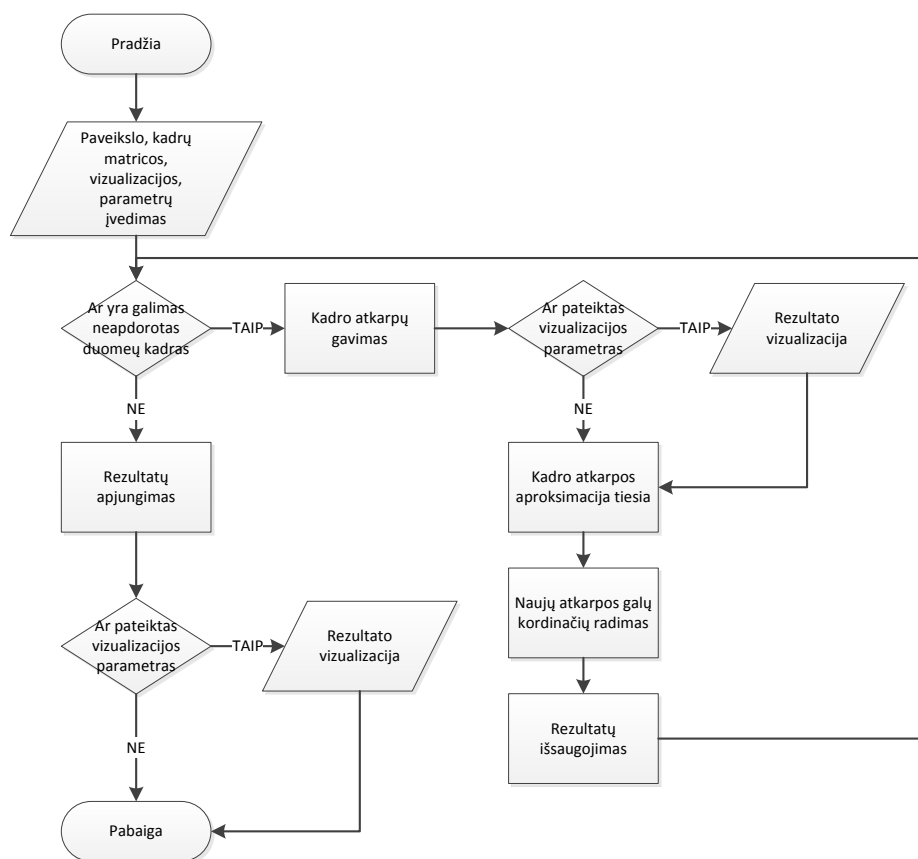


3.6 pav. Linijos radimo DEG vaizdo kadre algoritmas

Algoritmo esmė – kadro ribose rasti linijas, tenkinančias nustatytus parametrus. Iš atrinktų linijų imama ilgiausia, todėl, kad ji charakteringiausiai atitinka tendenciją pagal kadro dydį. Nuosekliai atlikus šiuos veiksmus, gauname paveikslą matricą, suskaldytą kadrais ir kiekvienam kadruui rasto po ilgiausią horizontalią liniją. Pagal pasirinktą strategiją galima rasti linijas kadre grupuoti ir atrinkti linijų grupę, tenkinančią artumo sąlygą, arba galima rasti bendrą atstojamąją liniją visoms kadre rastoms linijoms. Pateiktame 3.5 pav. rezultatų

sujungimas yra komplikotas, nes atkarpos galėjo būti nerastos, rastos gretimuose persidengiančio kadro vietose, sutapti arba būti viena kitai prieštaraujančios. Rezultatų apjungimas, siekiant palengvinti linijų grupavimą yra dalinis, tai yra, paliekami vertikalūs kadrai. Kadangi linijų radimas vyksta viena horizontalia kryptimi, logiška jog vertikaliame lange nebus gretimų linijų. Gretima atkarpa galės būti tik su kito vertikalaus kadro atkarpomis, todėl šie duomenys yra vertingi tolesniems skaičiavimams.

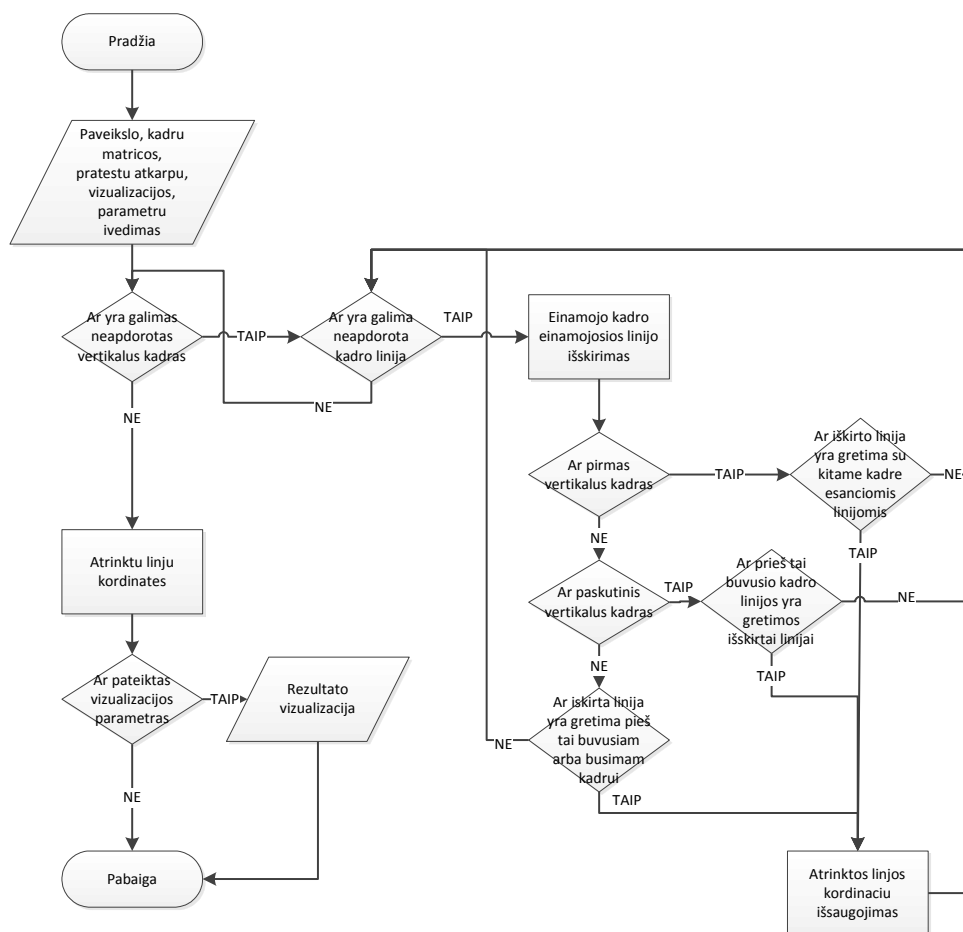
Nustatytos atkarpos yra neapibrėžto ilgio, tai vienos pabaiga nebūtinai siejasi su kitos pradžia, net jeigu tos atkarpos ir pažymi vieno iškreipymo tendencija. Siekiant rasti globalų iškreipymą iš lokalių kadro atkarpų, jas pratęsiame iki kadro kraštų. Tokius skaičiavimus atlieka kita sudėtinio algoritmo dalis.



3.7 pav. Atkarpų pratęsimas iki DEG vaizdo kadro kraštų

Duomenų įvedimo metu yra įtraukiami visi reikiami parametrai. Tiek vizualizacijos parametras, skirtas rezultatų išvedimui į ekraną, tiek nustatytos atkarpos, pirminė paveikslo matrica. Yra vykdomas iteracinis skaičiavimas, iteruojant per išskirtus duomenų kadrus. Kiekviena galimai rasta linija yra aproksimuojama tiese ir pratęsiama iki kadro kraštų. Randamos atkarpos sankirtos su kadro kraštinėmis. Jei pagal nustatytus parametrus atkarpa nėra randama, skaičiavimai pratęsiama kitame kadre. Kadangi yra vykdomas iteracinis skaičiavimas, nustatomos ir nesusijusios viena su kita, gretimų kadro linijos. Yra būtina linijų atranka, 3.8 pav. pateikiama jos sudėtinio algoritmo dalis.

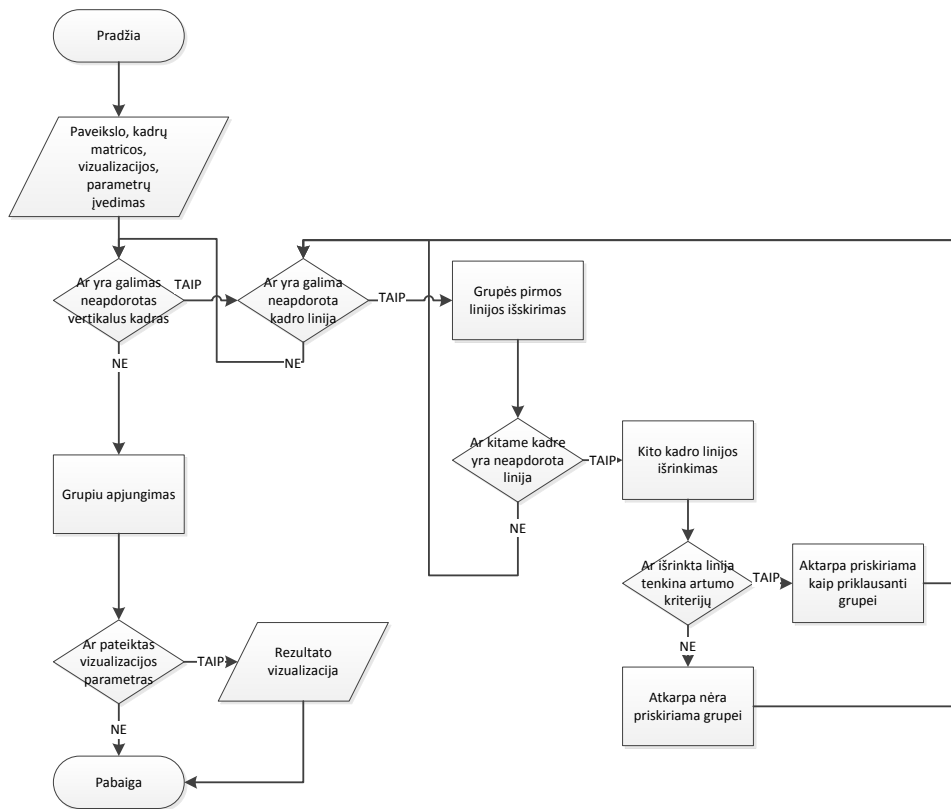
Pirminėje linijų atrankoje yra įvedami reikiami algoritmo dalies parametrai: paveikslas, duomenų matrica, pratęstų atkarpų duomenys, vizualizacijos ir gretimumo parametrai. Algoritmo dalyje yra vykdomi dviejų lygių iteraciniai skaičiavimai, atrenkant kiekvieno vertikalaus kadro, pratęstą liniją.



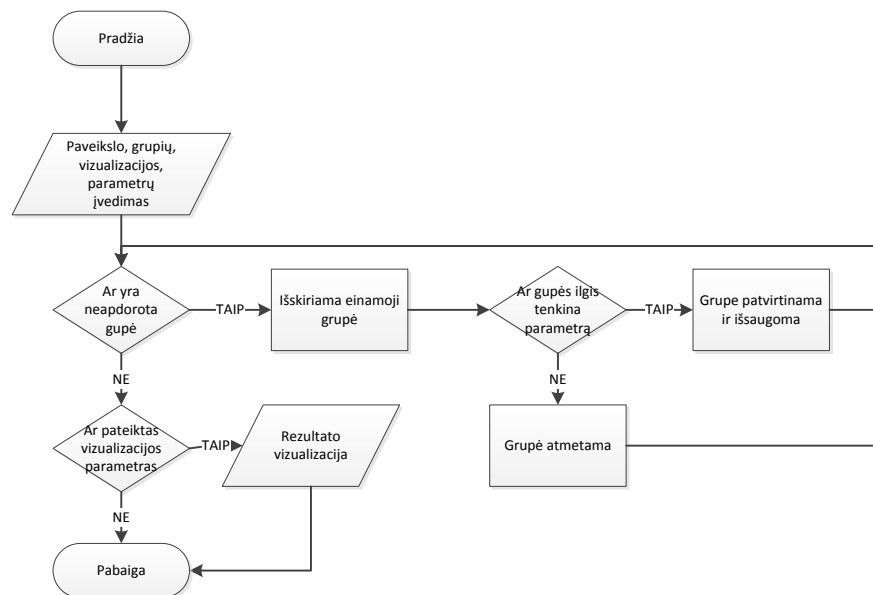
3.8 pav. Pirminė linijų atranka

Atrinkta linija vertinama su gretimomis linijomis pagal gretimumo parametą. Rezultate yra atskiriamos nereikšmingos vienos kitoms atkarpos. Atrinktos reikšmingos linijos susiskirsto į grupes. Atkarpos laikomos grupe tuomet kai tenkina gretimumo kriterijų. Šias grupes, išskyrus į atskirus duomenų segmentus, galima įvesti atkarpų grupių parametrus, todėl sekantis sudėtinio algoritmo etapas yra grupių išskyrimas.

Analogiškai 3.9 pav. vykdomi iteraciniai skaičiavimai, išrenkant vieną iš atrinktų linijų. Išskyrus grupės liniją, tikrinama ar kita linija tenkina gretimumo koeficientą. Jei tenkina, tuomet abi atrinktos linijos yra priskiriamos vienai ir išsaugojamos prie atitinkamos grupės. Jei įgalinta vizualizaciją, linijų grupės nuspalvinamos skirtingomis spalvomis. Algoritmo dalies pabaigoje, kaip rezultatą, turime pratęstas, suskirstytas reikšmingas atkarpas. Turint tokį rezultatą nesudėtinga įvertinti grupės ilgį. Atitinkamai iteruodami per išskirtas grupes, galime įvykdyti grupių atranką. Tai pateikiama 3.10 paveiksle.

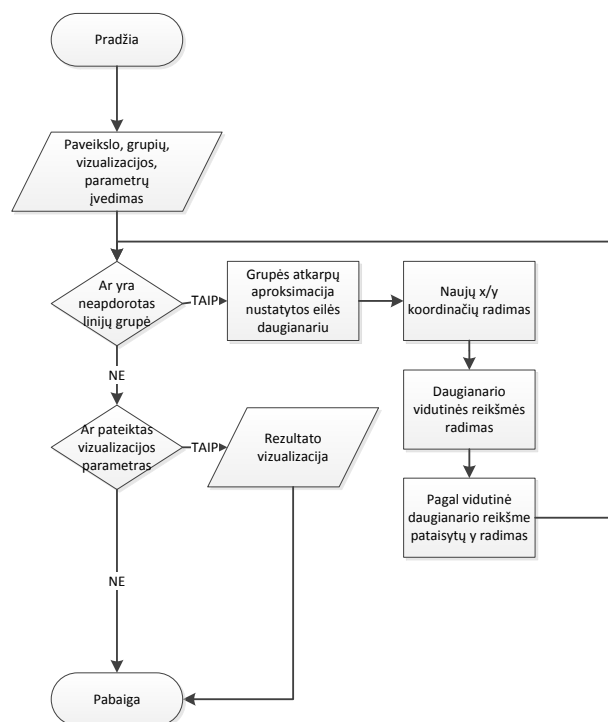


3.9 pav. Linijų grupavimas



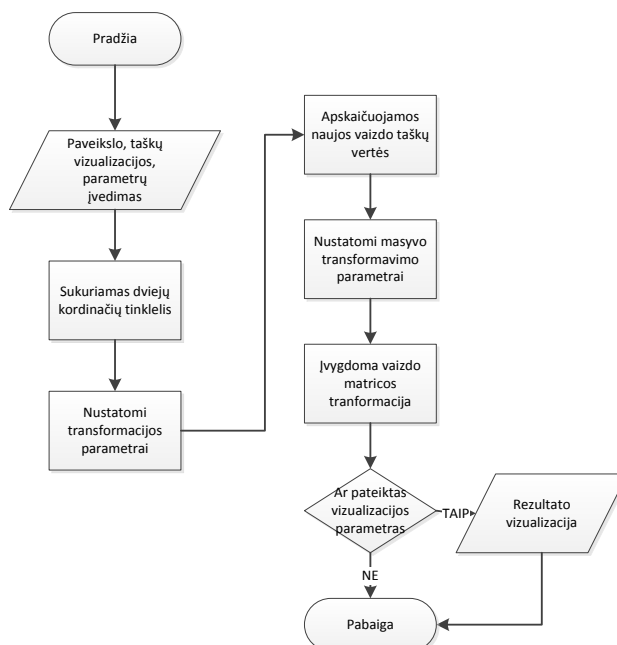
3.10 pav. Atparų grupių atranka

Įvykdžius algoritmo sudedamąją dalį, kaip rezultatą, turime atrinktas atkarpų grupes. Kiekvieną sudaro ne mažiau atkarpų nei nurodyta parametre. Kiekviena atkarpa yra pratęsta kadro ribose. Kitame etape nustatomi korekciniai vaizdo taškai. Taip pat kiekvienam nustatytam taškui yra parenkamos naujo koordinatės, kuriose tas taškas turėtų atsikurti po galutinės vaizdo transformacijos.



3.11 pav. Konkrečių atkarpų koordinatžių radimas

Paeiliui apdorojant kiekvieną liniją yra gaunama jos aproksimacija, pasirinktos eilės daugianariu. Iš turimų koeficientų yra išskaičiuojami nauji taškai, pasiskirstę tam tikru intensyvumu visame atkarpų grupės plote. Tokiu būdu nustatome kiekvienos atkarpų grupės atstojamąją. Atstojamosios vidutinis taškas vertikalioje ašyje yra paimamas kaip atskaita. Tuomet visi taškai, esantys aukščiau atstojamosios, yra nuleidžiami žemyn. Atitinkamai visi, esantys žemiau, pakeliami. Kaip rezultatas yra gaunami koordinatžių taškų masyvai, nurodantys vaizdo taškus ir pakoreguotą vaizdo taškų padėtį vaizde.



3.12 pav. Atliekama DEG vaizdo transformacija

Atliekama vaizdo transformacija, gaunant vaizdo taškų poslinkius. Poslinkiai apskaičiuojami, naudojantis judančių, mažiausių kvadratų, metodu. Nustatomi transformacijos parametrai, apskaičiuojami korekciniai taškai. Nustatomi masyvo transformacijos parametrai tarpinėms reikšmėms gauti. Įvykdžius vaizdo matricos transformaciją yra gaunamas naujas pakoreguotas vaizdas.

Antrasis sudėtinis algoritmas susideda iš tų pačių sudedamųjų dalių, remiantis kita strategija. Tai yra, nustatant kitus linijų gavimo parametrus. Toliau algoritmas bus vadinamas DEGV_GISA – Dvimates Elektroforezes Gelių Vaizdų Iškraipymo Šalimas Atkarpomis. Atsižvelgiant į tai yra vykdomas kitoks vaizdo filtravimas. Veiksmų nuoseklumas nekeičiamas todėl, kad pakankamai didelę įtaką vaizdo iškraipymui turi parenkami parametrai. Galima išskirti vaizdo transformacijos dalį antrame algoritme – ji yra identiška, tačiau vaizdas koreguojamas ne pavieniais taškais, o taškų poromis. Vaizdo transformavimo informacija yra tiesinė, nurodant pirminę tiesę ir pakeistą tiesės vietą. Pirmuoju atveju histograminis išlyginimas nebuvo naudojamas. Šiuo atveju filtravimo sudedamoji dalis pasipildo histograminiu išlyginimu.

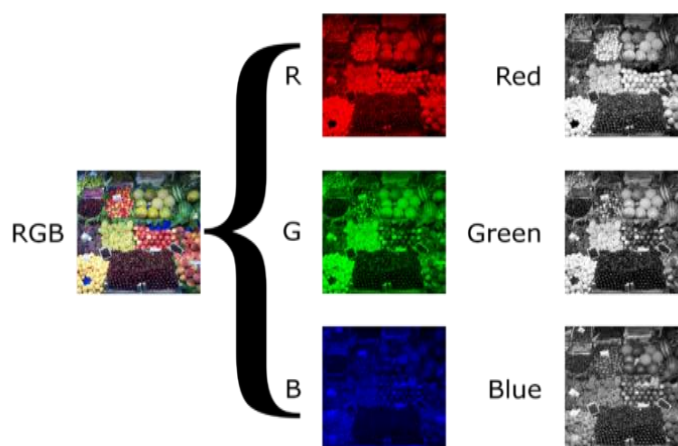
Skirtingi sudėtiniai algoritmai turi bendrus išeities duomenis – tai yra pirminis ir antrinis pakoreguotas vaizdai. Vartotojui atvaizduojant pakitimus, lyginami vaizdo taško intensyvumai pateikiami spalvomis. Taip pateikti vaizdus vartotojui yra patogiu, nes matomos intensyvumo pakitimų lokalios vietos. Algoritmo sudedamosios dalys yra savarankiškos, todėl neretai iš jų turi vizualizacijos parametrai ir galimybę. Tai leidžia pažiūrėti tarpinius rezultatus.

3.3. Algoritmų įgyvendinimo ypatumai

Analizuojant turimus duomenis išsiaiškinta, kad gelio vaizdo taškai nesiekia maksimalių intensyvumo reikšmių. Tokia situacija yra todėl, kad duomenys saugomi TIFF (angl. *Tagged Image File Format*) formate. TIFF – žymėtasis atvaizdų failų formatas yra paplitęs, tačiau dėl kitos priežasties nei JPG (angl. *Joint Photographic Group*). Failus TIFF formatu galima įrašyti dviem būdais: suglaudinus arba visiškai nesuglaudinus. Bet kuriuo atveju TIFF failai yra visiškai „nenuostolingi“ – juose informacija apie visų pradinio vaizdo taškų spalvas pilnai išsaugoma. Dažniausi koduojamos spalvos yra 32 skilčių dydžio CMYK (ŽPGJ) ir 24 skilčių RGB (RŽM). CMYK (ŽPGJ) – patobulintas CMY (ŽPG) spalvų modelis. Naudojamas šviesumą/tamsumą koreguojantis parametras (raktas, angl. *key*). Šis kodavimas dažniausiai naudojamas spaudos darbams.

Spaudoje sumaišius žydrą, purpurinę ir geltoną spalvas, dėl dažuose esančių pigmentų, gaunama tamsi (purvina) ruda, o ne gryna juoda spalva. Todėl tamsiausiems vaizdo elementams pakoreguoti naudojami papildomi juodi dažai.

RGB – spalvų maišymo sistema, kurioje naudojamos trys, žmogaus akių receptorius atitinkančios spalvos: raudona (angl. *red*), žalia (angl. *green*) ir mėlyna (angl. *blue*). RGB sistemoje spalva nagrinėjama, kaip spinduliavimas: visų trijų spalvų nulinės reikšmės atitinka juodą spalvą, o visų trijų maksimalios reikšmės – baltą. Maišant RGB spalvų poras, gaunamos CMY sistemos spalvos. RGB sistemoje spalvos užrašomos procentine dalimi nuo baltos (pvz., 100 %, 100 %, 0 reikštų purpurinę). RGB sistema dažniausiai naudojama elektronikoje, kompiuteriuose. Ja koduojamas vaizdas kineskopų ekranuose, ji patogi naudoti programuojant. Kadangi standartinio paveikslėlio taško skaitis koduojamas 255 reikšmėmis, tai nuskaičius paveikslą jis yra verčiamas į 8 skilčių reikšmes kiekvienai spalvai. DEG vaizduose spalvos naujos informacijos nesuteikia, todėl pakanka bespalvio vaizdo. Vaizdas yra verčiamas iš RGB į pilkos atspalvio vaizdą (pavyzdys pateikiamas 3.13 pav.).



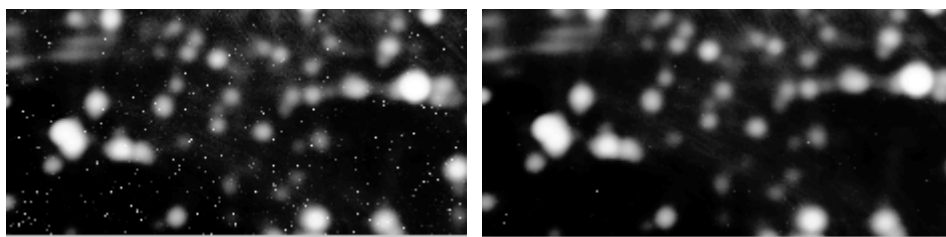
3.13 pav. RGB spalvų ir pilkų spalvų paveikslų pavyzdys (Nevit 2012)

Vaizdo pilkumo lygiai neužpildo visos galimos intensyvumo skalės, todėl buvo panaudotas vaizdo histogramomis išlyginimas. Nedidelio, kelių vaizdo taškų dydžio atsitiktinis triukšmas, gaunamas skenuojant vaizdą. Jis buvo panaikintas, pasinaudojus triukšmo šalinimo metodu, vaizdą filtruojant medianos filtru (Gonzalez, Woods ir kt. 2003). Medianos filtras pasižymi savybe selektyviai nufiltruoti impulsinio tipo triukšmą. Šiame etape medianos filtras naudojamas vertikalinių, kontrastingų brūkšnių slopinimui, todėl parinktas filtro langas $S(x,y)$ yra 3×3 vaizdo taškų (stulpelių $\times$ eilučių) dydžio:

$$g(x,y) = \text{median}\{f_{x,y}(s,t)\}, \quad (3.1)$$

$(s,t) \in S_{x,y}$

čia: $g(x,y)$ – gelio vaizdas po filtravimo, $S(x,y) = 3 \times 3$ medianos filtro langas, kurio centro taško koordinatė (x,y) ; $(x,y) = (1, 2, \dots, M; 1, 2, \dots, N)$; M, N – vaizdo dydis (stulpelių ir eilučių skaičius). Triukšmo pašalinimo pavyzdys pateikiamas 3.14 paveiksle.



a) su triukšmu

b) be triukšmo

3.14 pav. Triukšmo šalinimas, pasinaudojus medianos filtru**3.1 programos kodas.** Vaizdo skaidymas kadrais

```

01 function [CUT] = getMatCutV(PIC, winWid)
02 CUT=zeros(size(PIC,1),winWid);
03 for n=0:fix(size(PIC,2)/winWid)-1;
04     CUT(:,n+1)=PIC(:,n.*winWid+1:n.*winWid+winWid);
05 end
06 end

08 function [CUT] = getMatCutH(PIC, winHeig, perd)
09 CUT=[];
10 v=size(PIC,1);
11 languSkaicius=fix((v-perd)/(winHeig-perd));
12 for n=0:languSkaicius-1;
13     CUT(:,n+1)=PIC(n.*(winHeig-perd)+1:n.*(winHeig-perd)+winHeig,:);
14 end
15 end

```

Vaizdas skaldomas kadrais, pateikta funkcija (žiūrėti 3.1 programos kode). 01–06 eilutėse vaizdas skaldomas vertikaliais kadrais. Kaip matyti iš kodo, jei duomenų nepakanka, kadras nėra atskiriamas, todėl reikia atsižvelgti į galimų kadrų skaičių nustatant kadro dydį. Kodo eilutėse 08–15 įgyvendintas vertikalaus kadro skaldymas į horizontalius kadrus, pasinaudojus asimetriniu medianos filtru (3.1), kurio medianos filtro langas $S(x,y) = 10 \times 1$ dydžio, nufiltruojami atsitiktiniai triukšmai. Sukuriamas dviejų krypčių Sobel filtras skirtas kontūrų detekcijai:

$$\mathbf{G}_x = \begin{bmatrix} +1 & 0 & -1 \\ +2 & 0 & -2 \\ +1 & 0 & -1 \end{bmatrix} * \mathbf{A} \quad \text{ir} \quad \mathbf{G}_y = \begin{bmatrix} +1 & +2 & +1 \\ 0 & 0 & 0 \\ -1 & -2 & -1 \end{bmatrix} * \mathbf{A}. \quad (3.2)$$

Filtravimui yra naudojamas 3×3 dydžio filtro branduolys. $*$ žymi dviejų dimensijų sąsukos operaciją. $\mathbf{A}$ – filtruojamas paveikslas. $\mathbf{G}_x$, $\mathbf{G}_y$ yra horizontalios ir vertikalios paveikslo taškų išvestinių aproksimacijos. Pasinaudojant turimomis vertėmis galima rasti bendrą gradientą. Tai yra x koordinatės kryptimi gradientas didėja į dešinę pusę, y koordinatės kryptimi į apačią. Bendras gradientas gaunamas sekančia formule:

$$\mathbf{G} = \sqrt{\mathbf{G}_x^2 + \mathbf{G}_y^2}. \quad (3.3)$$

Iš turimų duomenų taip pat nesunku nustatyti ir gradiento kryptį. Kaupimas su vertikale gaunamas:

$$\Theta = \text{atan} 2(\mathbf{G}_y, \mathbf{G}_x). \quad (3.4)$$

Čia funkcija $\text{atan}2(y, x)$ yra arktangentas dviejomis dimensijomis. Jo išraiška pateikiama sekančia formule.

$$\text{atan} 2(y, x) = \begin{cases} \arctan\left(\frac{y}{x}\right), & \text{kai } x > 0; \\ \arctan\left(\frac{y}{x}\right) + \pi, & \text{kai } y \geq 0, x < 0; \\ \arctan\left(\frac{y}{x}\right) - \pi, & \text{kai } y < 0, x < 0; \\ +\frac{\pi}{2}, & \text{kai } y > 0, x = 0; \\ -\frac{\pi}{2}, & \text{kai } y < 0, x = 0; \\ \text{neapibrėžta}, & \text{kai } y = 0, x = 0. \end{cases} \quad (3.5)$$

Kontūrų išskyrimas modifikuotu Canny detektoriumi. Šio etapo tikslas yra išskirti linijinių struktūrų charakteringus kontūrus. Canny kraštų detektorius pasirinktas todėl, kad jis yra optimalus, išskiriant pakopinius kraštus, paveiktus balto triukšmo. Detektoriaus optimalumas apibūrinamas šiais kriterijais:

- geras aptikimas – algoritmas turi pažymėti vaizde kuo daugiau tikrų kraštų;
- geras lokalizavimas – pažymėti kraštai turi būti kuo arčiau tikrųjų kraštų vietų;
- aiškus atsakas – tikrasis kraštas turi būti pažymėtas tik kartą ir triukšmas vaizde neturėtų įtakoti klaidingo kraštų pažymėjimo.

Canny kontūrų detektorius pažymi kraštus ieškodamas lokalių maksimumų vaizdo $f(x, y)$ gradientu. Vaizdo gradientas skaičiuojamas, naudojant filtro branduolį, suformuotą pagal Gauso funkcijos pirmo laipsnio išvestinę. Metodas naudoja du slenksčius – stiprių ir silpnų kraštų nustatymui (histerezės tipo slenksčio funkcija).

Atliekant nemaksimalių verčių panaikinimą, pažymimos vietos, kuriose galėtų būti kontūrai. Vieta žymima tuomet, jei joje gradientas $D(x, y)$ kryptimi $\alpha(x, y)$ yra lokaliai maksimalus. Kitu žingsniu, galimose kontūrams vietose pažymimi kontūrai pagal du slenksčius S_1 ir S_2 , čia $S_1 > S_2$. Jei $D(x, y) \geq S_1$, tada toje vietoje yra stiprus kraštas ir kontūras pažymimas iš karto. Jei $S_2 \leq D(x, y) < S_1$ kontūras pažymimas tik tuomet, jei jis yra besijungiantis su jau pažymėtu kontūru.

Modifikuotoje detektoriaus versijoje kontūras pažymimas ne pagal gradiento dydį, bet pagal jo kryptį – dviejų lygių slenksčio funkcija pritaikoma kontūro kryptčiai. Kadangi vaizde yra vertikalūs ir horizontalūs kontūrai, o reikalingi tik horizontalūs, tai išskiriami tik horizontalia kryptimi dominuojantys kontūrai. Dviguba slenksčio funkcija, išskiriant

horizontalius kontūrus, sumažina trūkių dėl gradiento krypties svyravimo, kuriuos sukelia triukšmas vaizde, skaičių. Pagal pirmąjį slenkstį Θ_1 , kontūras pažymimas tada, jei jis artimas horizontalei arba gradiento kryptis (krašto normalė) yra ne daugiau nukrypusi nuo statmens nei leidžia slenkstis. Kai gradiento krypčių diapazonas yra intervale $\alpha = [0, 180)$, tai pirmojo slenksčio taisyklė tenkinama, jei:

$$|\alpha - 90^\circ| \leq \Theta_1. \quad (3.6)$$

Kiti kraštai pažymimi kontūrais, jei jie tenkina antrojo slenksčio sąlygą ir yra besiliečiantys prie jau pažymėtų kontūrų:

$$\Theta_1 < |\alpha - 90^\circ| \leq \Theta_2. \quad (3.7)$$

Pirmasis ir antrasis slenksčiai parinkti tokie: $\Theta_1 = 15$ ir $\Theta_2 = 30$.

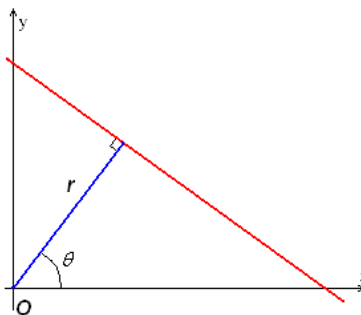
Detektuojuose kontūruose reikia surasti horizontaliai pasiskirsčiusias linijas. Uždavinio sprendimui yra taikomas kontūrų detekcijos metodas bei vaizdo kontūruose esančių linijų paieška, pasinaudojus *Hough* transformacija. Skaidant vaizdą į smulkesnes struktūras yra išvengiama globalios detekcijos problemos, kuomet randamas globalus ne baltymo pėdsako kontūras. Tai gali būti spalvinio iškraipymo pasekmės.

Kiekvienas atkarpos taškas „balsuoja“ už kiekvieną liniją, kuri gali ją kirsti. Daugiausiai „balsų“ surinkusios linijos yra tikrinamos ar jos gerai atitinka atkarpą. Galimos linijos yra parinkinėjamos parametru erdvėje. $y = kx + b$, čia k , b koeficientai pilnai aprašantys liniją. Problema yra gaunama tuomet kai koeficientai k , b parametru erdvė tiesės lygiagrečios koordinačių ašims. Todėl tiesės parametrai parenkami polinių koordinačių erdvėje. Per tašką (x, y) eina tiesės aprašomos lygtimi:

$$y = \left(-\frac{\cos \theta}{\sin \theta} \right) x + \left(\frac{r}{\sin \theta} \right). \quad (3.8)$$

Nesunku perskaičiuoti į polinę koordinačių sistemą:

$$r = x \cos \theta + y \sin \theta. \quad (3.9)$$



3.15 pav. Polinė koordinačių sistema (Shcha 2009)

Čia r – mažiausias atstumas nuo linijos iki koordinatės atskaitos centro, θ – kampas su horizontale.

Polinių koordinatų sistemoje šie parametrai yra (r, θ) . $r(\theta) = \cos_x(\theta) + \sin_y(\theta)$, tai atitinka sinusoidinę kreivę, unikalią šiam taškui. Jei kreivės, priklausančios dviem skirtingiems taškams, susikerta (r, θ) erdvėje, tai jie priklauso vienai tiesei vaizdo erdvėje, kuri eina per juos. Kitaip tariant jei taškai priklauso vienai tiesei, tai jų sinusoidės susikirs parametrų erdvėje ir susikirtimo parametrai aprašys tą tiesę. Algoritmo idėja akumulatoriaus (kaupiamąjį) masyvą, kuris turi tiek dimensijų, kiek nežinomųjų parametrų turi parametrų erdvę. Jei taškas yra ant krašto, skaičiuojama tiesės lygtis ir matricoje laukelis, kuris reprezentuoja tiesės parametrus, yra padidinamas vienetu. Logiška, kad lokalūs maksimumai akumulatoriaus masyve, reprezentuoja tiesės normalioje vaizdo erdvėje. Paprasčiausias būdas – slenksčio operacija. Paskutinis žingsnis, surastas tiesės atidėti vaizde, kadangi neturime atkarpos ilgio informacijos. *Hough* transformacija naudojama rasti bet kokį kontūrą, kuris gali būti aprašytas parametrų erdvėje. *Hough* transformacijos rezultatas – dviejų dimensijų masyvas, kuriame yra linijos aprašantis kampas ir atstumas nuo koordinatės pradžios. Anksčiau aptarto gradiento reikšmės yra panaudojamos linijų ilgiams nustatyti. Iš visų rastų kontūro linijų, pasirenkame ilgiausią. Ją naudosime vaizdo rekonstravimui, šalinant geometrinius iškraipymus.

Remiantis gelių vaizdų gavimo technologija, vaizde pėdsakų pasiskirstymas turėtų atitikti tinklę sudarytą iš horizontalių ir vertikalų linijų. Tokių linijų išsikreipimą patogiau vaizduoti tinkleliu, šio tinklelio iškraipymų šalinimą, analizuojama vaizdo registravimo sritis.

Vaizdų registracija gali būti suklasifikuota į posūkio – postūmio, afiniją, projekcinę ir netiesinę registraciją, paremtą geometrine transformacija. Trimatės posūkio-postūmio transformacijos išlaiko atstumus ir kampus tarp taškų, todėl gali būti pateiktos trimis vektoriais ir trimis kampais (6 laisvės laipsniai). Afinioji (tiesinė) transformacija atitinka posūkio-postūmio transformaciją, pridėjus tris Dekarto koordinatų sistemos mastelio keitimo dydžius ir šlytį (12 laisvės laipsnių). Ji nustato atitiktis lygiagrečių linijų, bet neišlaiko kampų tarp šių linijų. Projekcinė transformacija išlaiko linijų tiesiškumą, bet nepaiso lygiagretumo. Netiesinė transformacija neišlaiko atkarpų tiesiškumo ir sutapatina liniją su kreive. Netiesinės transformacijos užtikrina, kad jungios sritys išlieka ir išlaikomas ryšys su kaimyninėmis struktūromis. Tokios transformacijos nėra išreiškiamos parametrų (koeficientų) matricomis. Taigi jos laisvės laipsnių skaičius yra didesnis nei posūkio-postūmio ar afiniosios transformacijos.

Vaizdo registracija – tai toks procesas, kai naudojantis turimu nuorodiniu vaizdu, yra deformuojamas nukreipiamasis (tikslinis) vaizdas. Kitaip sakant, turimą „blogą“ vaizdą reikia deformuoti taip, kad jis kuo galima labiau sutaptų su nuorodiniu vaizdu (Maknickas 2005).

Kai naudojamas mažiausių kvadratų metodas tikslesniam daugianarių koeficientų nustatymui, paklaidos, gautos lokalinėje vaizdo dalyje, yra paskirstomos po visą vaizdą. Norint sumažinti šių paklaidų įtaką tolimesniems nei lokalinio vaizdo taškams, yra naudojamas svorinis mažiausių kvadratų metodas. Atsižvelgiant į kontrolinių taškų vietas nuorodinio vaizdo taškams svoriai yra priskiriami tokiu būdu:

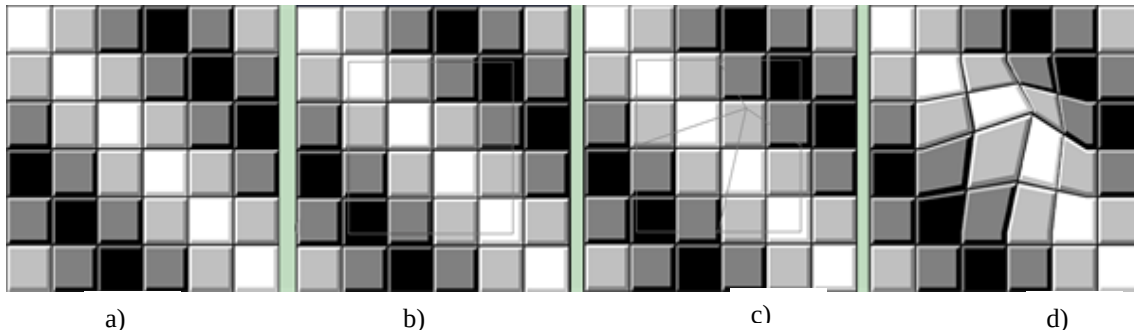
$$W_i(x, y) = \frac{1}{\sqrt{\delta + (x - x_i)^2 + (y - y_i)^2}}. \quad (3.10)$$

Parametro δ reikšmės, palyginus su atstumais tarp taškų, santykinai nėra didelės ir siekia apie 1.0. Kuo mažesnė δ reikšmė, tuo mažesnę įtaką turi polinomų reikšmės smarkiai nutolusiems taškams. Esant tikslioms kontrolinių taškų reikšmėms, δ reikšmė turi būti parenkamai arti 0. Skaičiuojant svorinių kvadratų metodu, daugianarių koeficientai yra randami minimizuojant šias dvi paklaidų reikšmes:

$$E_x^2(x, y) = \sum_{i=1}^n [f_x(x_i, y_i) - X_i]^2 W_i(x, y); \quad (3.11)$$

$$E_y^2(x, y) = \sum_{i=1}^n [f_y(x_i, y_i) - Y_i]^2 W_i(x, y), \quad (3.12)$$

čia $f_x(x, y)$ ir $f_y(x, y)$ yra daugianariai. Minimavimas atliekamas išsprendus šias lygtis.



3.16 pav. Vaizdo taškų perkėlimas mažiausiu kvadratu metodu

Vaizdo koregavimas yra vykdomas, nurodžius kuriuos taškus ir į kurią vietą perkelti. Rezultatas pavaizduojamas 3.16 pav.: a) dalyje pavaizduotas neapdorotas paveikslas. Antroje b) dalyje yra pažymima iškraipymo vieta, nustatant vaizdo reikšminius taškus; c) dalis pažymi iškraipymą, nurodo vietą į kurią bus perkeliama taškai, arba, kitaip tariant, nurodomas perkėlimas; paskutinė d) dalis – vaizdas gautas, atlikus transformaciją mažiausių kvadratų metodu (Schaefer, McPhail ir kt. 2006).

Apibendrinimas

Trečiame skyriuje tyrinėtos galimos vaizdo iškraipymo alternatyvos. Detaliai išdėstyti DEG vaizdų apdorojimo žingsniai. Iš aptartų žingsnių, sudarytos sudėtinių algoritimų dalys.

Aptarti algoritmo sudedamųjų dalių įgyvendinimo ypatumai. Sudaryti du algoritmai: DEGV_GISA ir DEGV_GIST. Pavadinimai algoritmas parinkti pagal atliekamos transformacijos tipą: geometrinio iškraipymo šalinimas atkarpomis, taškais. Kiekvienas algoritmas įvestyje turi pirminį neapdorotą DEG vaizdą, o išvestyje gražina apdorotą. Skirtinga parametrų konfigūracija leidžia išgauti skirtingų dydžių iškraipymų šalinimus. Pasinaudojus sudarytais algoritmais buvo analizuojami vaizdo transformacijos rezultatai. Algoritmai tarpusavyje lyginami 4 skyriuje. Tiriama parametrų įtaka kokybei, algoritmų gebėjimas apdoroti skirtingų pavyzdžių vaizdus.

4. ĮGYVENDINTŲ ALGORITMŲ KOKYBĖS TYRIMO REZULTATAI

Pasiūlyti du DEG vaizdų geometrinių iškraipymų šalinimo algoritmai. Jų veikimo principas yra panašus, nes jie yra sudėtiniai, sudaryti iš tam tikrų komponentų. Teoriniu požiūriu algoritmai turi rasti ir ištaisyti DEG vaizde esančius geometrinius iškraipymus. Yra daug galimų algoritmo palyginimų aspektų, todėl pasirinkus keletą, patyrinėsime, kaip į dirbtinius ir realius vaizdus reaguoja tiek vienas, tiek kitas algoritmas. Svarbu išsiaiškinti parametrų įtaką rezultatams, atlikti imitacinius bei natūrinius tyrimus.

4.1. Tyrimų planas

Visų pirma ištirtos siūlomų algoritmų parametrų įtakos rezultatų kokybei. Keičiant algoritmo nustatymus, stebimi reikšmingi kriterijai, apdorotame algoritmo vaizde. Siūlomų algoritmų parametrų vertės turi skirtingą įtaką rezultatams. Apibrėžti reikšminiai vaizdo kriterijai, leidžiantys nustatyti DEG vaizdo geometrinių iškraipymų šalinimo pasikeitimus. Pasirinkti tokie kriterijai:

- vaizdo taškų intensyvumų skirtumas;
- vaizdo vieno taško pločio linijos bangavimas x kryptimi;
- vaizdo vieno taško pločio linijos bangavimas y kryptimi;
- reikšminių segmentų, žyminčių baltymo pėdsaką taškų kiekis.

Vaizdo taškų intensyvumo skirtumas pasirinktas, kadangi geometrinė transformacija gali įtakoti DEG vaizde esančių baltymo pėdsakų dėmes, jos gali pasistumti į šoną, susilieti arba išnykti. Todėl svarbu įvertinti viso vaizdo taškų intensyvumų pakitimus, keičiant algoritmų parametrus. Vaizdo vieno taško pločio linijos bangavimas x/y kryptimi parametras apibrėžia, vaizdo intensyvumų bangavimų pakitimus. Antrame skyriuje aptartos DEG vaizdo fizikinės savybės rodo, kad vaizdai pasižymi horizontaliomis ir vertikaliosiomis linijomis. Linijų kiekį, esantį vertikalia kryptimi, atspindi x krypties bangavimo parametras.

Reikšminiai vaizdo segmentai – tai DEG vaizde esantys, baltymo pėdsaką žymintys, elementai. Jie apibūdina vaizde esančių dalių kiekį. Tolimesniems tyrimams būtent ir reikalingos baltymo pėdsako dėmės: jų vieta ir kiekis. Norint stebėti algoritmo įtaką dėmių nustatymo kiekiui arba jų dydžiui, buvo pasirinktas šis parametras. Kadangi parametrai nevienodi, skiriasi ir jų matavimo vienetai, todėl negalima atlikti sulyginimo. Siekiant įvertinti bendrą suminę parametro įtaką algoritmo rezultatui – parametrai buvo normuoti. Analizuojamų parametrų aibė $x = \{x_1, x_2, \dots, x_m\}$ yra sudaryta iš n -mačių vektorių $x_i = (x_{i1}, x_{i2}, \dots, x_{in}), i = 1, \dots, m$,

matricos parametrų x i -toji eilutė yra vektorius x_i . Aptarti skirtingi parametrai, jie kinta skirtinguose režiuose, todėl būtina prieš gaunant ir analizuojant duomenis, suvienodinti reikšmių mastelius. Tai atlikta pakeičiant reikšmes taip, kad minimalios imčių reikšmės būtų lygios 0, o maksimalios – lygios vienetui. Čia apskaičiuojamos kiekvieno x_j minimali $x_{j\min}$ ir maksimali $x_{j\max}$ reikšmės. Kiekviena parametro reikšmė x_{ij} transformuojama pagal formulę:

$$x_{ij} = \frac{(x_{ij} - x_{j\min})}{(x_{j\max} - x_{j\min})}. \quad (4.1)$$

Sudėjus parametrus yra gaunamas vienas suminis, kuris atitinka algoritmo veikimo kokybės kriterijų. Mažesnis bangavimas tiek horizontalia, tiek vertikalia kryptimis nusako tiesesnę struktūrų pasiskirstymą. Didėjantis segmentų skaičius arba jų užimamas plotas, nurodo, kad nebus prarasta arba galimai prarasta reikšminė baltymo pėdsako informacija. Kadangi yra didelė paklaida ir neapibrėžtumas tarp tikslaus ir turimo DEG vaizdo, tai svarbu parametro kitimo tendencija ir reikšminio parametro režiai kuriuose kokybė nebūtinai gerėja, bet bent jau nemažėja. Tai yra ta pasiskirstymo dalis, kur suminis koeficientas neturi mažėjančios tendencijos.

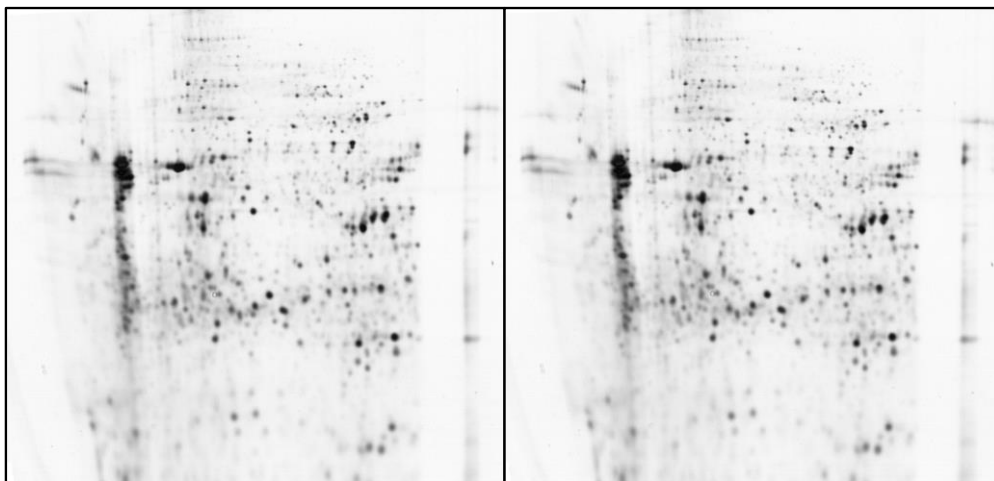
Pirmiausia tirtas algoritmo išrinktų atkarpų atrankos parametras p , nusakantis kuomet atkarpa yra artima viena kitai. Ataskaitoje pavaizduoti atsitiktinių penkių vaizdų su skirtingais parametrais gavimas, lyginant su pradiniu nekoreguotu vaizdu. Panašumo parametras keistas nuo 2 vaizdo taškų dydžio iki 11 vaizdo taškų dydžio. Tyrimas buvo atliekamas abiem algoritmais. Dalis gautų rezultatų pavaizduoti 4.1 paveiksle.

4.1 pav. matyti, kad esant skirtingiems parametrams, gaunami vis kitokie iškraipymai. Atsiranda vaizdo trūkiai, jei vaizdo transformacijos pakitimai yra stiprūs ir nepakanka duomenų jiems išgauti. Trūkio vietos užpildomos balta spalva, kad neįtakotų vaizdo taškų pilkimo lygio skaičiavimų. Tyrimo rezultatai pateikiami lentelėse (4.1 lentelėje pateikiama DEGV_GISA algoritmo tyrimo rezultatai, 4.2 lentelėje – DEGV_GIST tyrimo rezultatai).

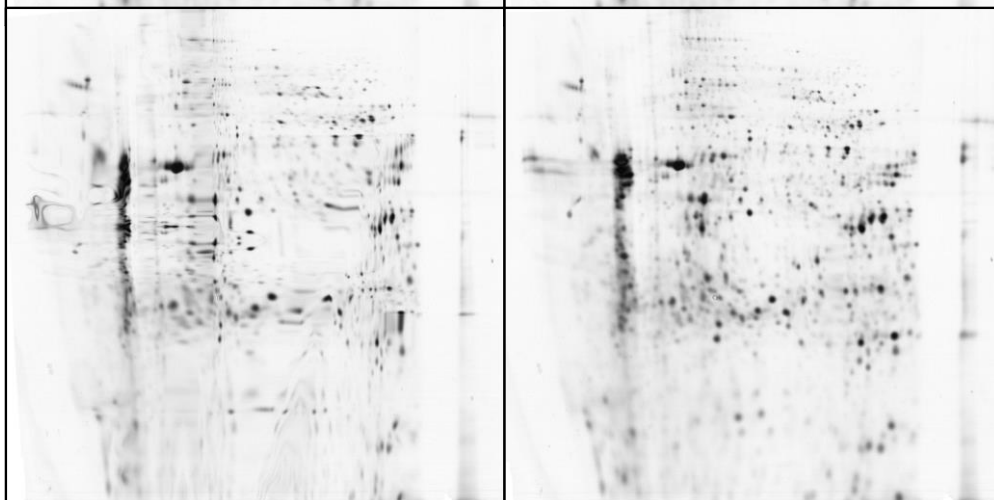
4.1 lentelė DEGV_GISA algoritmo tyrimo rezultatai

Vaizdo nr.	Atkarpos artimumo parametras									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	3,8	3,1	2,7	2,4	2,3	2,1	1,9	1,7	1,3	0,7
2	3,2	3,5	3,5	3,2	2,8	2,2	1,6	1,1	0,9	0,9
3	2,0	2,5	2,8	3,0	3,0	3,0	2,8	2,7	2,5	2,3
4	3,5	3,5	3,3	3,0	2,5	1,9	1,5	1,1	1,0	0,0

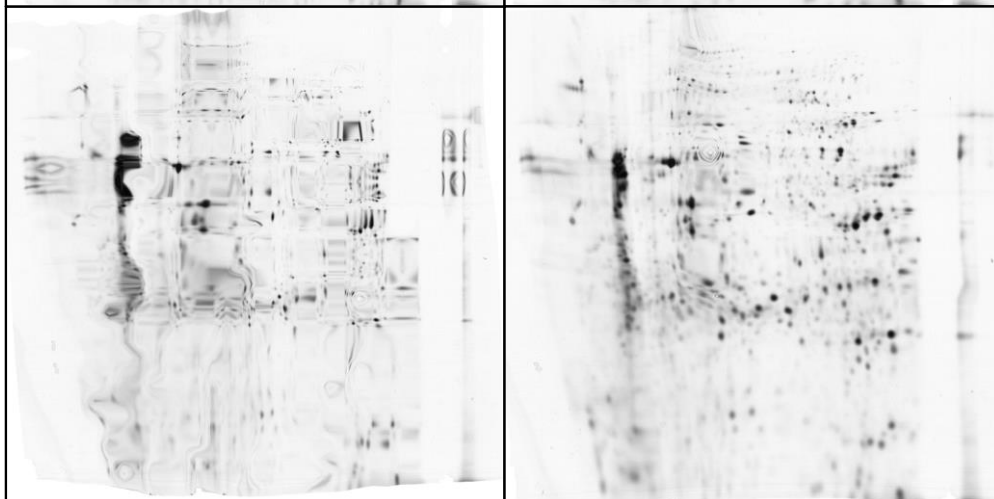
p = 2



p = 5



p = 10



a) DEGV_GISA algoritmas

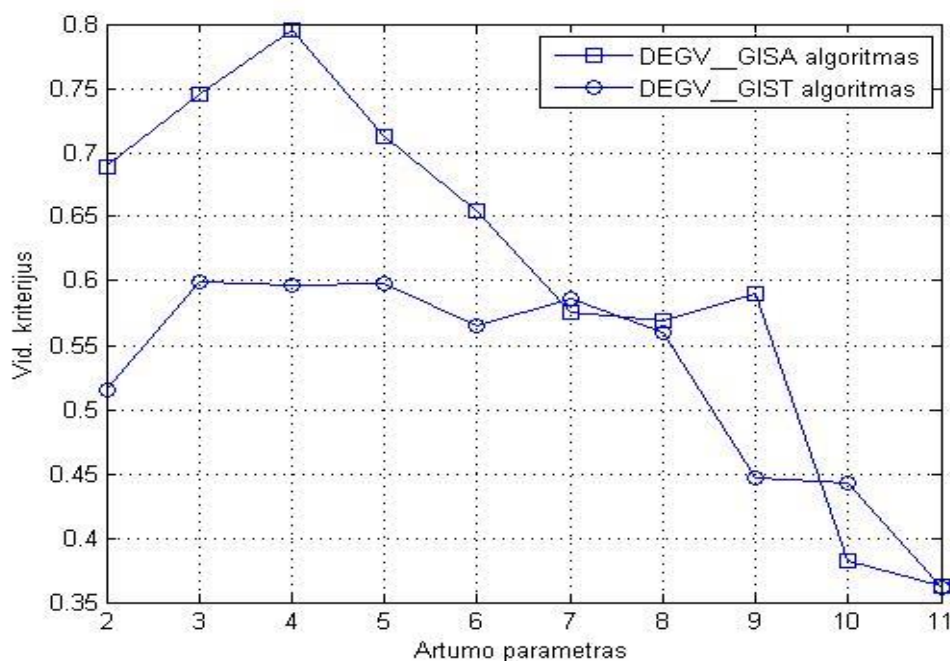
a) DEGV_GIST algoritmas

4.1 pav. Algoritmais apdoroti DEG vaizdai

4.2 lentelė DEGV_GIST algoritmo tyrimo rezultatai

Vaizdo nr.	Atkarpos artimumo parametras									
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	3,9	3,3	2,9	2,6	2,4	2,3	2,0	1,7	1,1	0,3
2	3,1	2,8	2,5	2,2	2,0	1,8	1,6	1,5	1,5	1,5
3	1,4	2,6	3,2	3,4	3,2	2,8	2,5	2,3	2,4	3,0
4	3,2	3,2	3,0	2,6	2,2	1,8	1,4	1,2	1,0	1,1

Iš 4.1 lentelėje pateiktų rezultatų matyti, kad kuo didesnis parametras yra nurodomas, tuo atitinkamai algoritmo gerumo kriterijus mažėja. Kadangi reikšmės yra normuotos galima nustatyti suminį, visų parinktų parametų, kriterijų. Iš jo matyti kitimo tendencija ir pagal tai galima parinkti artimų linijų parametą. Iš 4.2 lentelės matyti, kad duomenys turi tokią pačią tendenciją, kaip 4.1 lentelėje. Didinant parametą, mažėja algoritmų rezultatų kokybė. Didesnis parenkamų linijų kriterijus, nusako, koku atstumu turi būti viena nuo kitos patikimos linijos. Pastarosios, šiuo atveju, nustatomas taip, kad gretima linija pažymi tą pačią iškraipymo tendenciją tuomet, kai ji yra netoliau nei nurodytas atstumas. Įvedame suminį kitimo koeficientą, kuris susumuoja visas komponentes lygiomis, nepasvertomis dalimis. Pateikiama algoritmo vertinimo kriterijaus priklausomybė nuo tiriamo parametro (žiūrėti 4.2 pav.). Nurodomi suminiai keleto vaizdų duomenys, todėl aiškiai matoma bendras suminio parametro kitimo dėsnis. Visi jie yra mažėjančios tendencijos. Tačiau kai kurie iš jų, turi pakilimo maksimumus.



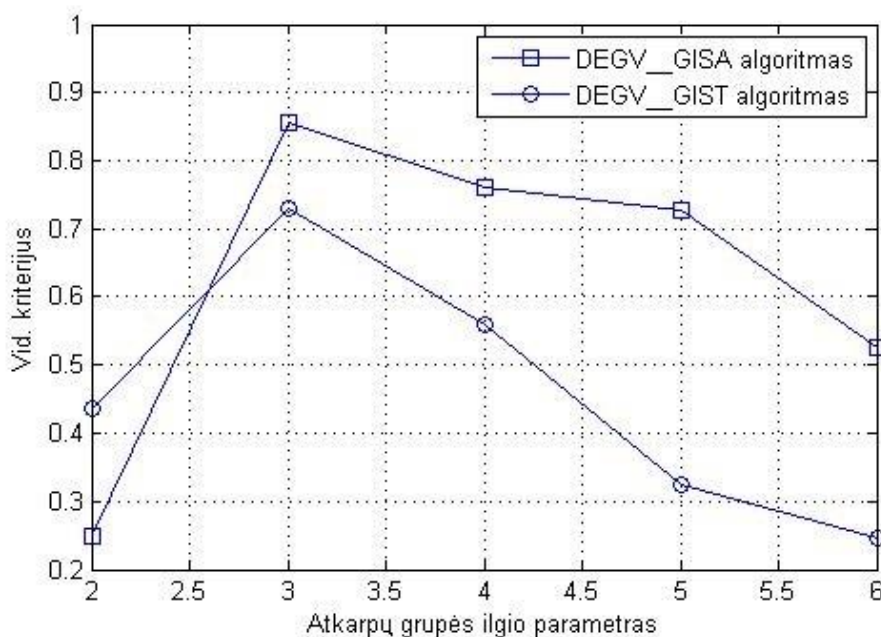
4.2 pav. Suminių tyrimo rezultatų priklausomybės nuo atkarpų artumo parametro

Būtent šio tyrimo rezultatas ir yra nustatyti režius, kuriuose šį parametą galima paderinti. Parametro kitimo režiai nustatyti tokie:

- minimali vertė – 2 vaizdo taškai. Ši vertė negali būti mažesnė, nes skirtingiems vaizdams tuomet nebus nustatomos ar atrenkamos jokios linijos. Neturint 2 vaizdo taškų nėra prasmės ir atlikti tolesnius skaičiavimus. Kuo parametras mažesnis, tuo linijų bus atrenkamam mažiau. Kompleksiškai reikia derinti šį parametą su kitais algoritmo parametrais;

- maksimali parametro vertė – 7 vaizdo taškai. Maksimali vertė artimai susijusi su nustatyto lango parametrais. Esant didesniai langui šis skaičius gali būti didesnis, tačiau tai reikalauja papildomo derinimo darbo su algoritmo metu. Algoritme nustatyta vertė yra 4. Ją naudotojas gali pakeisti ir paderinti pagal savo poreikius.

Antrasis tyrimas yra skirtas nustatyti kadro dydžių įtaką rezultatams. Manant, kad per trumpas atkarpų blokų ilgis gali nulemti didesnes transformacijas, todėl gali būti įnešami didesni iškraipymai. Buvo atliktas tyrimas, kuriame atsitiktinių dydžių vaizdai, apdoroti algoritmu iteruojant minimalių blokų ilgių parametrus. Šis parametro ilgio nustatymas siejasi su anksčiau tirtu, gretimų linijų parametru. Jei bus randama daug linijų, jos gali būti apjungiamos į ilgas grupes. Tuomet šio parametro tolerancija yra didelė. Nustatant mažesnę gretimų linijų parametą, atkarpų bus randama mažiau. Todėl susidarys ir galimai mažesnės atkarpų grupės. Visi parametrai kompleksiskai susieti ir su kadro dydžiu. Jei kadras mažesnis, tai linijų grupių ilgis gali būti didesnis, nes santykinai, atskirtos atkarpos, pasidalins į smulkesnes dalis.

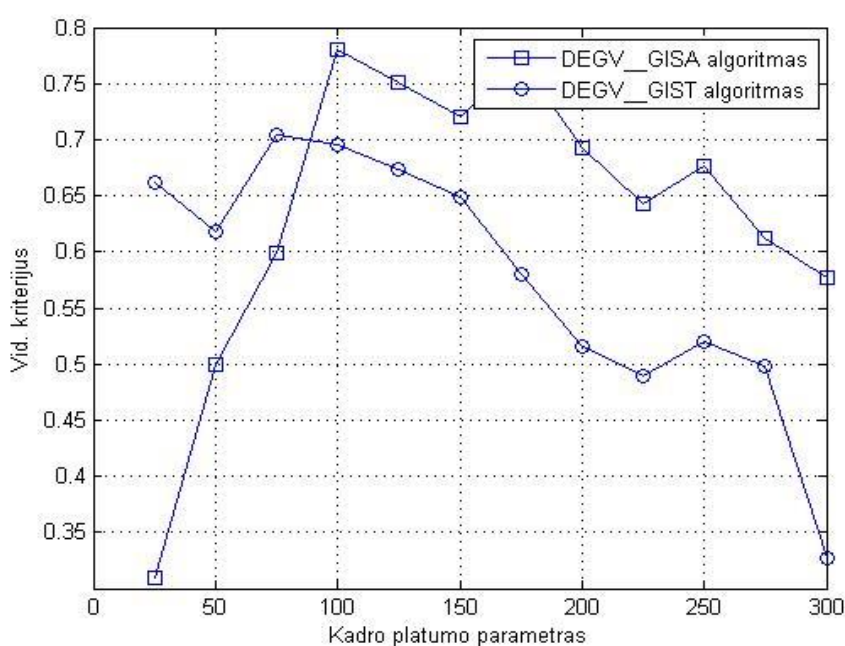


4.3 pav. Suminės kokybės kriterijaus priklausomybė nuo atkarpų grupių ilgių

4.3 pav. pateikiama įvairių vaizdų suminis kokybės įvertinimo parametro vidurkis, priklausomybė nuo pasirinkto minimalaus atkarpų grupės ilgio. Tyrimai atlikti skirtingais algoritmais. Kaip matyti, esant skirtingiems parametro dydžiams, yra gaunama skirtinga algoritmo darbo kokybė. Svarbu yra nustatyti parametro režius, kuriuose patikimas algoritmo darbas turi galimai aukščiausią kokybę. Esant didesniai parametrai nei galimas linijos ilgis, kokybė krenta todėl, kad nėra randama nei viena linijų grupė, tenkinanti parametą. Tuomet paveikslas yra nekoreguojamas, grąžinamas originalus. O kokybė skaičiuojama, lyginant su

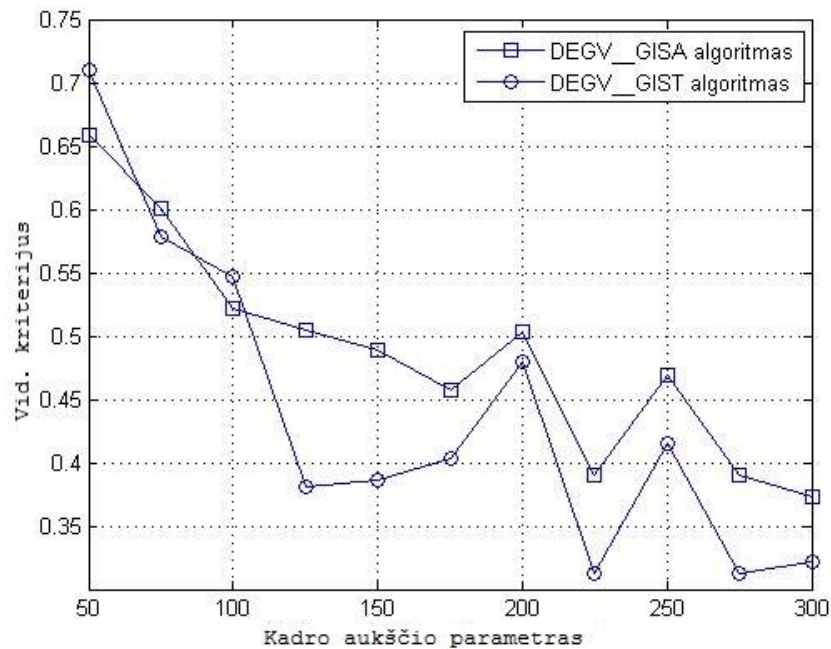
nekoreguotu paveikslu. Kadangi reikšmės yra normuotos, tai kokybė artėja link nulinės vertės. Kokybės įtaka mažėja, jei randama viena mažai koreguotina linija. Tai yra ji yra horizontali arba vertikali, toks vaizdo transformavimas neįneša papildomų pakeitimų į vaizdą. Nustatyti galimai tenkinantys parametro režiai yra: minimali vertė 3 vienetai, maksimali vertė kadro lange dydis. Nustačius didesnę nei yra kadro galų, algoritmas grąžina originalų vaizdą.

Parametrai yra artimai susiję su kadro dydžiu bei kitais algoritmo parametrais. Pakeičiant vieną parametą, pakinta kokybės įvertinimas. Todėl vartotojui, nesinaudojant standartiniais nustatymais, reikia paderinti visus parametrus. Kitas parametras yra kadro dydis. Kadro dydžio įtaka algoritmų kokybei buvo tirta, kompleksiskai tiriant kadro pločio ir kadro aukščio įtakas. Rezultatai pateikiami 4.4 paveiksle.



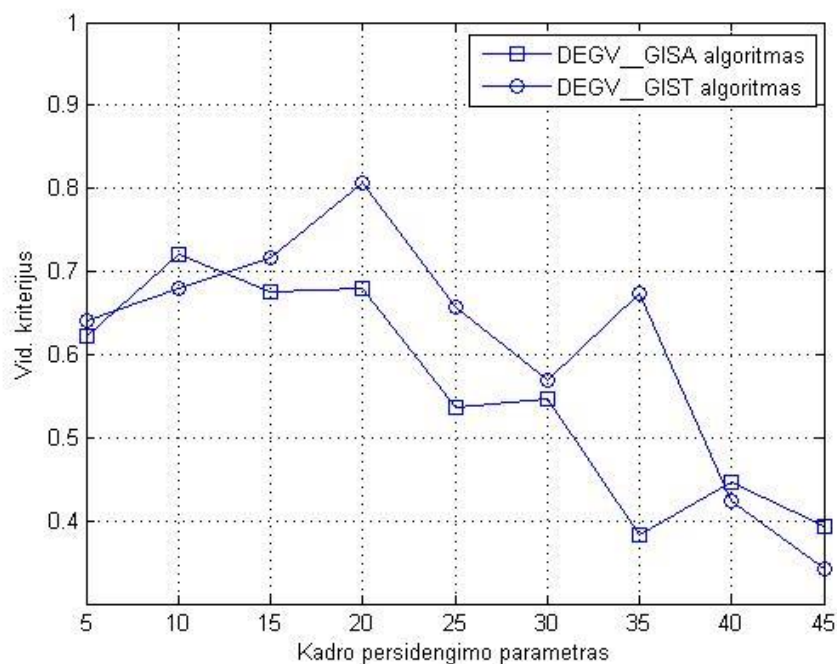
4.4 pav. Suminės kokybės priklausomybė nuo kadro pločio

Pateiktame kokybės priklausomybės grafike (žiūrėti 4.4 pav.) matyti, kaip algoritmų kokybė kinta, esant skirtingiems kadro dydžiams. Kadras keičiamas nuo 25 iki 300 vaizdo taškų. Iš suminės kokybės matyti jog aukščiausią kokybę algoritmai pasiekia, kuomet algoritmo kadro plotis yra nuo 100 iki 200 vaizdo taškų. Tuomet nustatyta standartinė algoritmų vertė vidutiniškai turi būti apie 150 vaizdo taškų.



4.5 pav. Suminės kokybės priklausomybė nuo kadro aukščio

4.5 paveiksle pateikiama suminės algoritmo kokybės priklausomybė nuo kadro aukščio. Artimas parametras, persidengianti kadro dalis pagal nutylėjimą yra nustatyta 25 vaizdo taškai. Atitinkamai didžiausia algoritmų kokybė yra pasiekama mažiausiu kadro dydžiu. Tai yra 50 vaizdo taškų. Taip yra todėl, kad parametrai yra kompleksiškai susieti ir pakeitus vieną parametą, tarkim vaizdo apdorojamo kadro dydį, būtina paderinti ir kitus parametrus. Pavyzdžiui gretimų linijų parametą. Artimas susiejimas su kadrų dydžiu – persidengimo dydis, pateikiama kokybės priklausomybė nuo jo (žiūrėti 4.6 pav.).



4.6 pav. Kokybės priklausomybė nuo kadro persidengimo

Iš pateikiamo 4.6 pav. matyti, kad optimalus kadro persidengimo dydis svyruoja nuo 10 iki 25 vaizdo taškų. Šis pasirinkimas, kuris nustatytas, kaip standartinė reikšmė antram algoritmui, yra 20 vaizdo taškų, o pirmame algoritme 15 vaizdo taškų. Toliau persidengimas, kokybės atžvilgiu, nėra reikšmingas, nes tračiame skyriuje aptartas Gauso filtro panaudojimas, nuslopina kadro kraštus, kad didžiąją įtaką turėtų kadro centras.

4.2. Imitacinių tyrimų rezultatai

Pagal antrame skyriuje aptartas fizines DEG vaizdo savybes galima išskirti horizontalias ir vertikalias vaizdo linijas. Šiomis linijomis remiamasi, sudarant imitacinį eksperimentą. Trečiame skyriuje aprašytos algoritmų savybės, leidžia išbandyti algoritmą, paduodant įvairias vaizdo struktūras:

- horizontalios linijos;
- linijos pasuktos horizontalės atžvilgiu;
- nesufokusuotos horizontalios linijos;
- užtriukšminto fono horizontalios linijos;
- linijos iškreiptos daugiausia iki $\pm 10^\circ$;
- spalvoti kvadratai;
- horizontalios banguotos linijos.

Sudaryti tyrimui skirti vaizdai buvo apdoroti skirtingais algoritmais. Atvaizdavimui pagerinti pateikiami skirtingi vaizdai. Pirmajame stulpelyje pateikiamas originalus neapdorotas vaizdas. Antrame stulpelyje pateikiama DEGV_GISA algoritmo rezultato skirtumas su originaliu vaizdu. Trečiajame – antrojo DEGV_GIST algoritmo grąžintas rezultato skirtumas su originaliu vaizdu. Bei abiejų algoritmų rezultatų skirtuminiai vaizdai. Iš tyrimo duomenų matyti, kad algoritmas puikiai atpažino horizontalias linijas, jų iškraipymas minimalus. Linijos pasuktos horizontalės atžvilgiu. Algoritmas DEGV_GISA puikiai susidorojo, linijos buvo atstatytos į pirminę padėtį. Tuo tarpu algoritmas DEGV_GISST, su numatytomis parametru reikšmėmis, vaizdą apdorojantis vertikalia kryptimi, sugrupavo gretimus vaizdo taškus, todėl ištaisymas nebuvo sėkmingas. Tai puikus pavyzdys rodantis, kad algoritmo standartiniai parametrai nėra universalūs, juos gali tekti paderinti papildomai. Nesufokusuoto vaizdo iškraipymas abiem algoritmams įtakos neturėjo. Vaizduose nustatytos horizontalios linijos nebuvo iškreiptos, vykdant korekcijas.

Užtriukšminto fono tyrimas parodė, kad DEGV_GISA algoritmas su standartiniais parametrais minimaliai iškraipė horizontalias linijas. Tuo tarpu antrojo DEGV_GIST algoritmo standartiniai parametrai atkarpą sugrupavo su didelio intensyvumo foniniu triukšmu, todėl

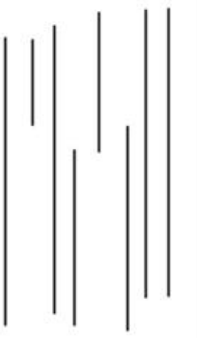
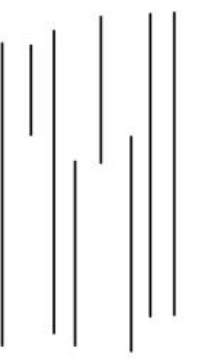
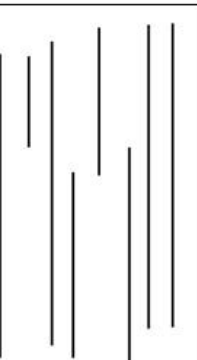
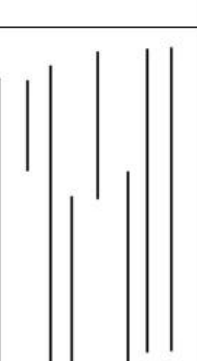
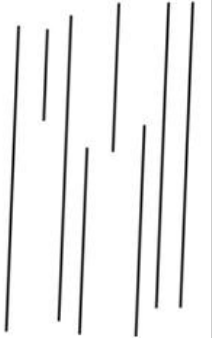
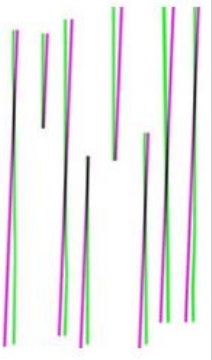
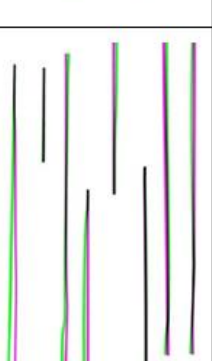
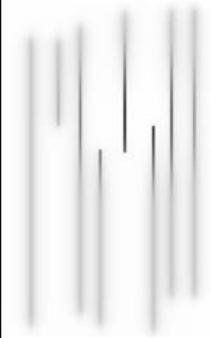
minimaliai buvo iškreiptos horizontalios linijos. Kaip matyti iš tyrimo rezultatų, jei foninis triukšmas nėra impulsinis ir jo intensyvumas priylgsta greta esantiems duomenims, algoritmas gali neatskirti reikšminių duomenų nuo foninio triukšmo. Todėl patartina DEG vaizdo kraštus, neteikiančius jokios informacijos, apkirpti.

Išlinkusių linijų tyrimas parodė, kaip į vaizdo išlinkimus reaguoja abudu algoritmai. Pirmasis algoritmas DEGV_GISA atstatinėdamas vaizdą papildomai įnešė iškraipymus į vidurinę vaizdo sritį. Tai yra algoritmo specifiką atspindintis reiškinys. Kuomet algoritmas kreivę atstatinėjo atkarpos dalimis. Taigi dalinai koreguodamas didelius iškraipymus, jis paliečia ir atitinkamai įneša iškreipimą į mažiau paveikto vaizdo sritis. Tuo tarpu DEGV_GIST algoritmas koreguodamas vaizdą dalinai įnešė iškraipymus į greta esančias kreives, tačiau iškreipimą ganėtinai stipriai pakoregavo.

Spalvoti kvadratai nebuvo algoritmų koreguojami, nes juose nebuvo nustatyta geometrinio iškreipimo. Šis tyrimas parodė, kad algoritmams vaizdo taškų intensyvumo nevienodumas neturi įtakos. Algoritmas adaptyviai vykdo skaičiavimus kiekviename kadre atskirai. Pagal nustatytus standartinius algoritmų parametrus, banguotų linijų korekcijos iškraipymas buvo minimalus, o korekcija taip pat nedidelė. Mažo dydžio bangos iškraipymui reikalingas papildomas parametrų derinimas.

4.3 lentelėje pateikiami sukurti vaizdai, tiriantys atskirą algoritmo įtaką tam tikram iškraipymui. Tiesių linijų vaizdu tikrinama ar algoritmas minimaliai iškraipo teisingą pavyzdį. Linijos turi būti randamos, o duomenys neiškraipomi arba iškraipomi minimaliai. Horizontalių linijų vaizduose spalvomis pateiktas skirtumas. Žaliu atspalviu žymimas algoritmo įneštas iškraipymas, kuomet yra lyginami algoritmo gražintas ir originalus paveikslai. O kai gretinami abiejų algoritmų rezultatai, žaliai pavaizduotas skirtumas, esantis DEGV_GIST algoritmo. 4.3 skyriuje apžvelgta, kaip algoritmas apdoroja realius DEG vaizdus. Išanalizuota kokią įtaką baltymų pėdsako koordinatėms turi kiekvienas algoritmas. 4.3 skyriuje pateikti skirtuminiai vaizdai.

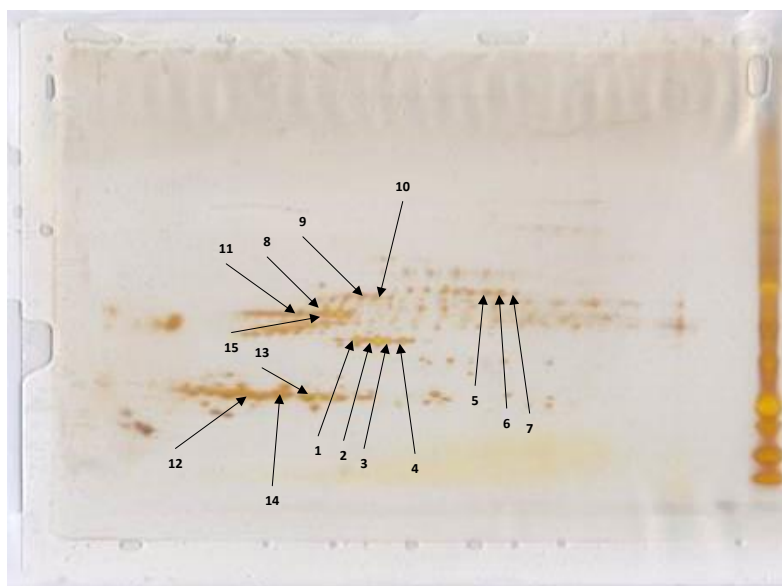
4.3 lentelė Imitacinio bandymo tyrimo rezultatai

Tyrimo paveikslas pavadinimas	Tyrimui naudotas paveikslas	DEGV_GISA algoritmo rezultato ir originalaus paveikslas palyginimas	DEGV_GIST algoritmo rezultato ir originalaus paveikslas palyginimas	DEGV_GISA ir DEGV_GIST algoritmų rezultatų palyginimas
Horizontalios linijos				
Linijų pasuktų horizontalės atžvilgiu -7° laipsnius				
Nesufokusuotos horizontalios linijos				

Tyrimo paveikslas pavadinimas	Tyrimui naudotas paveikslas	DEGV_GISA algoritmo rezultato ir originalaus paveikslas palyginimas	DEGV_GIST algoritmo rezultato ir originalaus paveikslas palyginimas	DEGV_GISA ir DEGV_GIST algoritmų rezultatų palyginimas
Užtriukšmintas fono horizontalios linijos				
Išlinkusios daugiausia iki $\pm 10^\circ$ horizontalios linijos				
Spalvoti kvadratai				
Horizontalios bangautos linijos				

4.3. Natūrinių tyrimų rezultatai

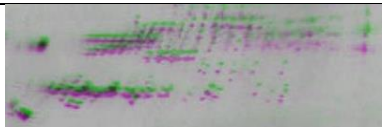
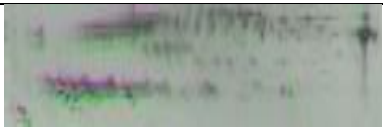
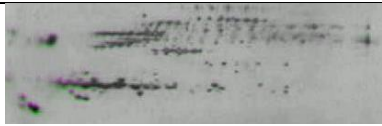
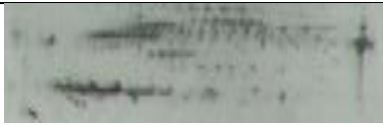
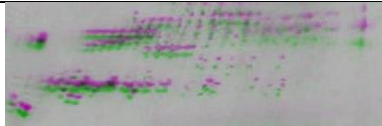
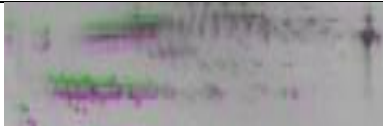
Natūriniam tyrimui atlikti pasinaudota tikromis DEG vaizdo baltymų pėdsakų koordinatėmis. Kadangi žinomos tikrosios kelių dėmių koordinatės, galima nustatyti tiek vieno, tiek kito algoritmo įtaką tikrų dėmių vietai. Tyrimas parodė kiek trūko vaizdo transformacija, įtakojanti dėmių vietas. Tyrimas atliktas naudojantis (Navakauskiene, Treigyte ir kt. 2012) duomenimis. Tyrimo paveikslai, su žinomais teoriniais, nustatytais eksperimentiniais ir nustatytais po apdorojimo algoritmo, pateikiami 4.5 lentelėje. Taip pat pavaizduoti žinomų baltymų pėdsakų vietos 4.7 paveiksle.



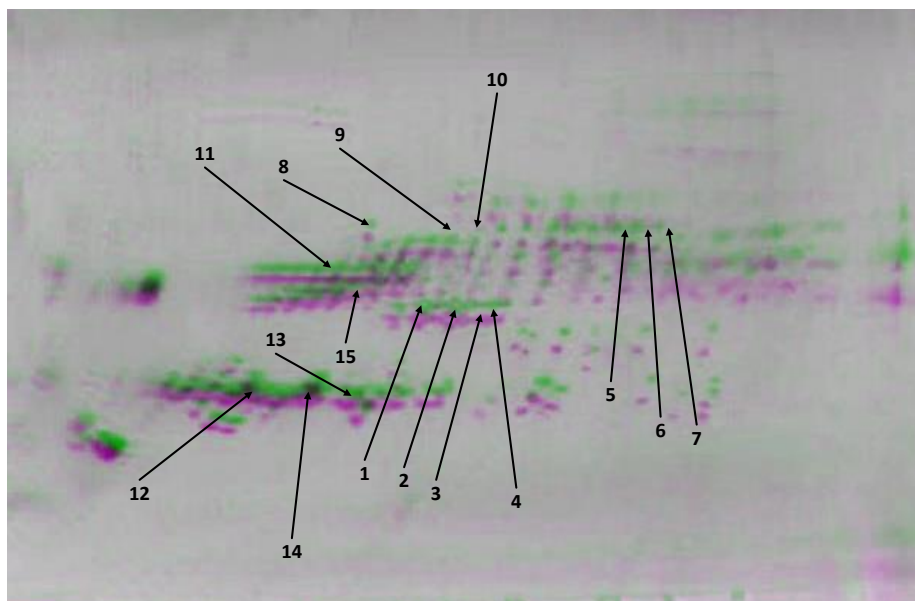
4.7 pav. Nekoreguotas DEG vaizdas su pažymėtais žinomų koordinacių baltymais

4.7 pav. pažymėti žinomi baltymų pėdsakai. Jie sunumeruoti ir jų tikrosios bei eksperimentiškai nustatytos koordinatės pateikiamos 4.5 lentelėje. Iš rekomenduojamų duomenų matyti, kad eksperimentiškai ir teoriškai nustatytų baltymų pėdsakų koordinatės skiriasi. Todėl atlikus transformaciją, įvertinti baltymų pėdsakų pokyčiai. Algoritmo transformacijos įtaka pavaizduota 4.4 lentelėje. Spalvomis sužymėta analogiškai, kaip 4.2 skyriuje. Iš duomenų matyti, kad didesnę įtaką vaizdui įnešė DEGV_GISA algoritmas. Vaizdas, kuris pateikiamas antrame stulpelyje, iškraipytas tam tikrus vaizdo taškus perkeliant į viršų. Tai žymima žalia spalva. Tuo tarpu trečiame stulpelyje matyti rezultatai kitokie ir vaizdo taškai perslenkami į apačią. Tyrimas parodė, kad esant skirtingiems to paties mėginio DEG vaizdams, gali būti gaunami skirtingi rezultatai. Tai priklauso nuo konkretaus vaizdo. Tačiau nėra aišku, kuris variantas, iš pateiktų, yra teisingesnis nes abudu vienodai tikėtini, todėl nei vieno atmesti negalima. Esant galimybei svarbu turėti kelis DEG vaizdo nuskenuotus egzempliorius, juos apdoroti ir įvertinti skirtumus arba apdorotus vaizdus palyginti ir parinkti mažiau geometriškai iškraipytą tiriamąjį objektą.

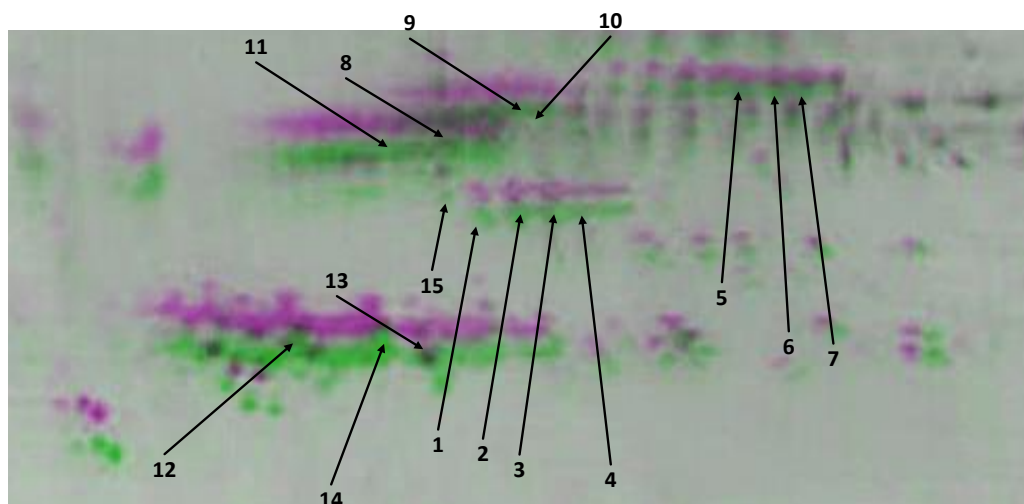
4.4 lentelė Natūrinių tyrimų rezultatai

Paveikslo pavadinimas	1h Et-ZVAD IP_DB 11 cm pI 4-7	Contr NB4 IP_DB 11 cm pI 4-7
Originalaus ir DEGV_GISA algoritmo rezultato skirtumai		
Originalaus ir DEGV_GIST algoritmo rezultato skirtumai		
DEGV_GISA ir DEGV_GIST rezultatų skirtumai		

4.4 lentelėje pateikiami dviejų algoritmų apdoroti vaizdai. Tyrimas parodė, kad algoritmas DEGV_GIST teisingiau transformuoja didesnius vaizdo iškreipimus, minimaliai deformuodamas, aplink esančias sritis. Tuo tarpu DEGV_GISA minimalius iškreipimus tiesina atkarpomis, todėl koreguojant didelį iškreipimą, bus įnešama daugiau papildomo triukšmo. 4.4 lentelėje pateikiami pavyzdžiai yra mažo iškreipimo. Todėl DEGV_GISA algoritmo rezultatai naudojami tolesniems baltymų pėdsakų koordinatinių nustatymams. 4.8 pav. pateikti originalaus ir koreguoto (1h Et-ZVAD IP_DB 11 cm pI 4-7) paveikslo skirtumai. Žalia spalva algoritmo žymimi įnešti pakeitimai. Taip pat 4.9 pav. pateikti (Contr NB4 IP_DB 11 cm pI 4-7) originalaus ir koreguoto vaizdo baltymų pėdsakai. Kadangi skirtingi to paties mėginio DEG vaizdai, turi skirtingas duomenų charakteristikas, tai to paties algoritmo apdorojimo metu yra gaunami skirtingi rezultatai. Nėra žinoma atraminė informacija, kuris iškreipimas yra tikėtinesnis, todėl baltymų pėdsakų nustatymui, naudojami abu pavyzdžiai.



4.8 pav. Baltymų pėdsakai (1h Et-ZVAD IP_DB 11 cm pI 4-7) apdorotame DEGV_GISA algoritmo



4.9 pav. Baltymų pėdsakai (Contr NB4 IP_DB 11 cm pI 4-7) apdorotame DEGV_GISA algoritmo vaizde

Pagal pateiktą 4.8 ir 4.9 pav. spalvines vizualizacijas, buvo nustatyti pakoreguoto vaizdo baltymų pėdsakai. Jie pateikiami 4.5 lentelėje.

4.5 lentelė Natūrinių tyrimų rezultatų duomenys

	Teorinis		Eksperimentinis		Po transformacijos 1h Et-ZVAD IP_DB 11 cm pI 4-7		Po transformacijos Contr NB4 IP_DB 11 cm pI 4-7	
Eil. nr.:	Mw,kDa	pI	Mw,kDa	pI	Mw,kDa	pI	Mw,kDa	pI
1	40	5,2	44	5,1	46	5,1	42	5,1
2	40	5,1	44	5,2	47	5,2	42	5,2
3	40	5,2	44	5,2	47	5,2	42	5,2
4	40	5,4	43	5,3	44	5,3	41	5,3
5	70	5,4	73	5,8	75	5,8	71	5,8
6	70	5,5	73	5,8	75	5,8	72	5,8
7	70	0,6	74	5,9	76	5,9	73	5,9
8	62	4,9	63	4,9	63	4,9	62	5,0
9	65	5,1	70	5,2	70	5,2	9,8	5,2
10	65	5,2	69	5,3	71	5,3	65	5,3
11	55	4,9	59	4,8	59	4,8	58	4,8
12	22	4,7	25	4,6	27	4,6	23	4,7
13	25	4,8	24	4,8	26	4,8	22	4,8
14	25	4,7	25	4,7	26	4,7	23	4,8
15	57	4,8	58	4,9	59	4,9	58	4,9

Lentelėje atvaizduoti natūrinio tyrimo rezultatai. Matyti, kad paveikslo (1h Et-ZVAD IP_DB 11 cm pI 4-7) korekcija DEGV_GISA algoritmu buvo priešinga teoriniams duomenims. Siekiant naudotis algoritmu, neįnešant priešingo iškraipymo nei tikimas, galima patobulinti

algoritmą įvedant papildomą iškraipymo krypties parametą. Vaizdo taškų iškraipymo etapu nustatyti, kuria kryptimi bus siekiama atstatyti vaizdą. Renkama vidutinė iškraipymo vertė. Vaizdo (Contr NB4 IP_DB 11 cm pI 4-7) korekcija buvo nukreipta tinkamai. Nustatytos baltymų pėdsakų koordinatės yra artimesnės teorinėms nei neapdoroto vaizdo. Vaizdo korekcija pakeitė baltymų pėdsakų koordinates tiek vertikaliomis tiek horizontaliomis kryptimis.

Apibendrinimas

Pasiūlyti du DEG vaizdų geometrinių iškraipymų šalinimo algoritmai. Juose gausu parametrų, kuriuos galima įvairiai keisti. Norint išsiaiškinti kokie parametrai turi įtaką galutiniam vaizdo apdorojimui buvo įvesti kriterijai, įvertinantys algoritmo kokybę. Jie normuoti ir gautas vienas kokybės parametras. Tyrinėtos algoritmų rezultatų kokybės įtakos nuo algoritmų parametrų. Nustatyti parametrų keitimo kokybiniai rėžiai. Atlikti imitaciniai tyrimai parodė, kokią įtaką atskiriems vaizdo elementams turi algoritmai. Pastebėta būtinybė derinti standartinių algoritmų parametrus, norint išgauti tikslesnį iškraipymo pašalinimą. Smulkiems iškraipymams reikia sumažinti kadro dydį, o stambiams iškraipymams – padidinti randamų atkarpų kiekį. Natūrinio eksperimento metu buvo nustatyta, kad DEGV_GISA algoritmas labiau tinka smulkiems vaizdo iškraipymams šalinti, kuriuos galima koreguoti atkarpomis. Tuo tarpu DEGV_GIST algoritmas tinkamas didesniems iškraipymams, nes jis mažiau įtakoja, greta esančius vaizdo taškus. Tyrimo metu DEG mėginio skirtingi vaizdai buvo apdoroti DEGV_GISA algoritmu ir pastebėta, kad vienu atveju algoritmas priartino baltymo pėdsakus prie teorinių, kitu atveju – nutolino. Taip yra todėl, kad algoritme nėra apibrėžta iškraipymo šalino kryptis.

5. IŠVADOS IR REKOMENDACIJOS

Magistro baigiamajame darbe pasiektas tikslas – pasiūlyti ir ištirti dvimatės elektroforezės gelių vaizdų baltymų pėdsakų geometrinių iškraipymų šalinimo sudėtinius algoritmus. Pagrįsta jų sudarymo strategija. Išnagrinėtos dvimatės elektroforezės gelių formavimo fizikinių savybių sąsajos su vaizdo savybėmis, leidžia nustatyti geometrinius iškraipymus.

IŠVADOS:

1. Pasiūlytas ir pagrįstas algoritmo sudarymo iš sudedamųjų dalių būdas. Kiekviena iš sudedamųjų dalių atlieka jai paskirtą užduotį, todėl algoritmą galima pritaikyti skirtingo dydžio geometriniams iškraipymams šalinti.
2. Pasiūlytas ir įgyvendintas, persidengiančiu kadru paremtas, DEG vaizdo apdorojimo būdas. Kadre ieškoma baltymų pėdsakų grupių trajektorijos, adaptyviai pritaikant paieškos parametrus, išskirtam kadru.
3. Imitaciniai tyrimų rezultatai parodė, kad sukurtas DEGV_GISA algoritmas tinkamas mažiems geometriniams iškraipymams šalinti, o DEGV_GIST algoritmas – stambesniems iškraipymams šalinti.

REKOMENDACIJOS:

1. DEG vaizdo geometrinių iškraipymų šalinimui, kurių iškraipymo sritis mažesnė nei tys kadro dydžiai – taikyti DEGV_GISA algoritmą, o didesniems DEGV_GIST.
2. DEGV_GISA ir DEGV_GIST algoritmuose naudoti:
 - 1) atkarpų artumo vertes nuo 2 iki 7 vaizdo taškų;
 - 2) atkarpų grupių ilgio vertes nuo 3 iki kadro skaičiaus vaizde;
 - 3) kadro pločio vertes nuo 100 iki 200 vaizdo taškų;
 - 4) kadro aukščio vertes nuo 50 iki 100 vaizdo taškų;
 - 5) kadro persidengimo vertes nuo 10 iki 25 vaizdo taškų.

TĘSTINUMAS

1. Tęsiant tyrimus dvimatės elektroforezės geometrinių iškraipymų šalinime, siūloma atkreipti dėmesį į geometrinio iškraipymo krypties nustatymą ir pritaikymą korekcinių taškų nustatymui.

LITERATŪRA

1. Baškienė A. 2005. *Analizinė geometrija*. [žiūrėta 2013-09-21]. Prieiga per internetą: <http://www.ik.su.lt/geometrija/medziaga/geom_sk3.pdf>.
2. Gavin H. 2011. The Levenberg-Marquardt method for nonlinear least squares curve-fitting problems, *Department of Civil and Environmental Engineering Duke University*.
3. Glasbey C. A.; Mardia K. V. 1998. A review of image-warping methods, *Journal of Applied Statistics*, nr. 25.
4. Gonzalez R. C.; Woods R. E.; Eddins S. L.; Hall P. 2003. *Digital Image Processing Using MATLAB(R)*. United States of America: Gatesmark.
5. Gustafsson J. S.; Blomberg A.; Rudemo M. 2001. Warping two-dimensional electrophoresis gel images to correct for geometric distortions of the spot pattern, *Applied Microbiology and Biotechnology*, nr. 76.
6. Horton P.; Nakai K. 1997. *Better Prediction of Protein Cellular Localization Sites with the k Nearest Neighbors Classifier*. [žiūrėta 2013-10-10]. Prieiga per internetą: <<http://www.aaii.org/Papers/ISMB/1997/ISMB1997-1022.pdf>>.
7. Januškevičienė G. K. 2012. Rastrinių vaizdų geometrinės transformacijos, *Mokomoji knyga*. Vilnius: Technika.
8. Jasevičius L. 2009. *Integrinių grandynų rastrinių vaizdų vektorizavimo sistema*. [žiūrėta 2013-12-05]. Prieiga per internetą: <http://vddb.library.lt/fedora/get/LT-eLABa-0001:E.0002~2009~D_20090708_20141354-20036702/DS.20090005.20090700.20090701.ETD>.
9. Maknickas R. 2005. *Kompiuterinė vaizdų analize pagrįstos sistemos, skirtos galvos smegenų tyrimams, analizė ir algoritmų plėtra*. [žiūrėta 2013-02-20]. Prieiga per internetą: <http://vddb.library.lt/fedora/get/LT-eLABa-0001:E.0002~2005~D_20050523_20162613-20036873/DS.20050005.20050520.20050501.ETD>.
10. Martin Strojnik; Podgornik R. 2008. Gel electrophoresis.
11. Matuzevičius D. 2010. Dvimatės elektroforezės gelių vaizdų analizė taikant intelektualiuosius metodus, *Daktaro disertacija. Vilniaus Gedimino technikos universitetas. Technologijos mokslai, elektros ir elektronikos inžinerija (01T)*.
12. Mildažienė V. 2007. *Proteomikos įvadas*. [žiūrėta 2013-10-10]. Prieiga per internetą: <<http://www.bchi.lt/proteomika/Medziaga/proteomikos%20ivadas.pdf>>.
13. Naučienė Z. 2012. *Gyvųjų organizmų architektūra: baltymai*. [žiūrėta 2012-11-30]. Prieiga per internetą: <http://biomokykla.wikispaces.com/file/view/Gyvujų_organizmu_architektura.pdf>.
14. Navakauskienė R. 2009. *Chromotografija. Baltymų elektroforezinis skirstymas*. [žiūrėta 2012-11-30]. Prieiga per internetą: <<http://www.bchi.vu.lt/proteg/>>.

15. Navakauskienė R.; Treigytė G.; Borutinskaitė V.; Matuzevičius D.; Navakas D.; Magnusson K. E. 2012. Alpha-Dystrobrevin and its associated proteins in human promyelocytic leukemia cells induced to apoptosis, *Journal of Proteomics*, nr 75.
16. Nevit D. 2012. *Demonstration of how RGB image split into its three RGB channels. Tricolor, trichromacy, 3x grayscale.* [žiūrėta 2013-12-01]. Prieiga per internetą: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Beyoglu_4671_tricolor.png>.
17. Sanchez J.-C.; Corthals G. L.; Hochstrasser D. F. 2004. Biomedical application of proteomics. Weinheim: Wiley-VCH.
18. Savelonas M.; Maroulis D.; Mylona E. 2009. *Segmentation of Two-Dimensional Gel Electrophoresis Images containing Overlapping Spots.* [žiūrėta 2012-11-30]. Prieiga per internetą: <http://rtsimage.di.uoa.gr/publications/ITAB09_Prefinal.pdf>.
19. Schaefer S.; McPhail T.; Warren J. 2006. Image deformation using moving least squares, *ACM Transactions on Graphics (TOG) - Proceedings of ACM SIGGRAPH 2006*.
20. Serackis A. 2008. Vaizdo rekonstravimo technologijos baltymų pėdsakams parametrizuoti, *Daktaro disertacija. Vilniaus Gedimino technikos universitetas. Technologijos mokslai, elektros ir elektronikos inžinerija (01T).*
21. Shcha. 2009. *R theta line.* [žiūrėta 2013-11-15]. Prieiga per internetą: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:R_theta_line.GIF>.
22. Stefanovič P. 2010. *Saviorganizuojančių neuroninių tinklų (SOM) sistemų lyginamoji analizė.* [žiūrėta 2013-11-15]. Prieiga per internetą: <http://vddb.library.lt/fedora/get/LT-eLABa-0001:E.0002~2010~D_20100709_20133927-20101419/DS.20100005.20100700.20100701.ETD>.
23. Tian Y.; Narasimhan S. G. 2010. Globally Optimal Data-Driven Approach for Image Distortion Estimation, *The Robotics Institute, Carnegie Mellon University, Pittsburgh, PA, USA.*
24. Vaseghi S.V. 2000. *Advanced Signal Processing and Digital Noise Reduction.* London: John Wiley & Sons Ltd.;
25. Veaser S.; Dunn M. J.; Yang G. Z. 2001. Multiresolution image registration for two-dimensional gel electrophoresis, *Proteomics*.
26. Worz S.; Winz M.-L.; Rohr K. 2008. Geometric Alignment of 2D Gel Electrophoresis Images.