

Λογισμικό ανάλυσης φιλμ ηλεκτροφόρησης

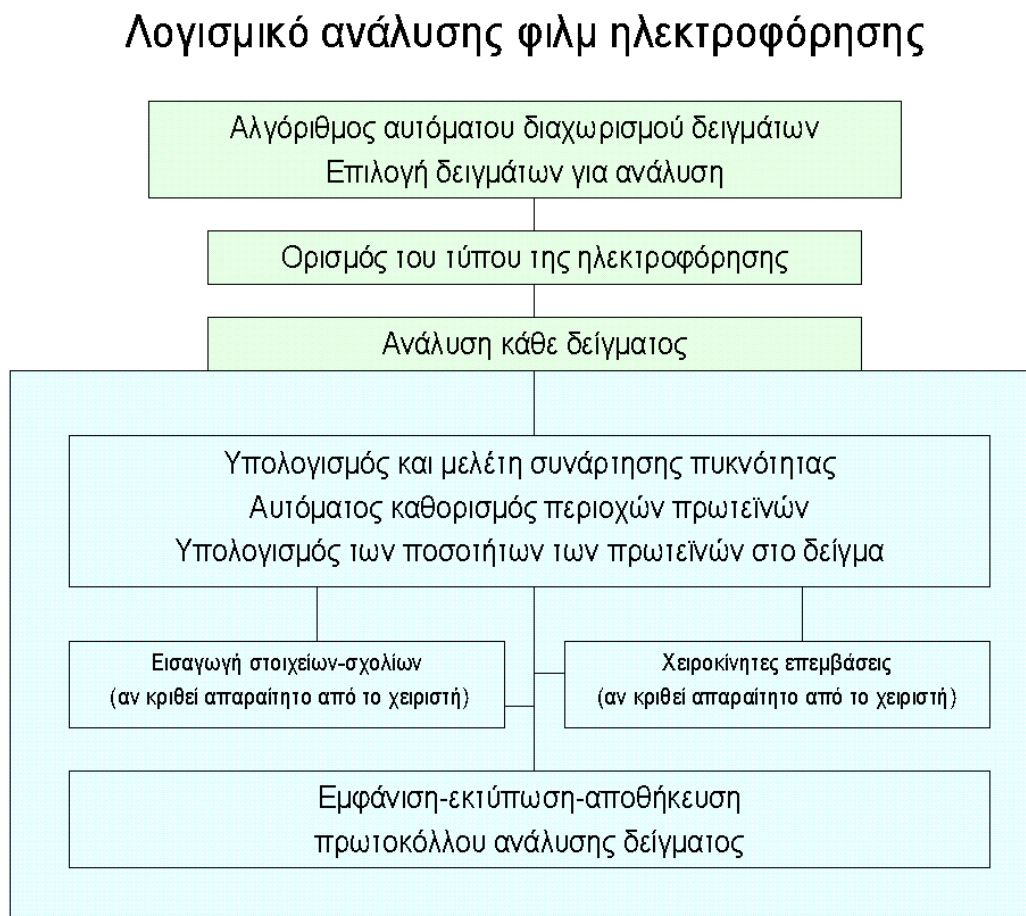
Στην κλασική χειροκίνητη ή ημιαυτόματη ηλεκτροφόρηση μετά τη δημιουργία του φιλμ με οποιοδήποτε τρόπο, πρέπει να γίνει η ανάλυση του φιλμ και ο υπολογισμός των αποτελεσμάτων. Παλαιότερα ο συνηθέστερος τρόπος για να γίνει αυτό ήταν η χρήση ενός ειδικού οργάνου για τη μέτρηση της φωτογραφικής πυκνότητας του πυκνόμετρου (densitometer), Σήμερα ο συνηθέστερος τρόπος είναι το φιλμ να περνάει από ένα σαρωτή (scanner) και στη συνέχεια η φωτογραφία να αναλύεται από ειδικό λογισμικό.

Η ερευνητική ομάδα ανέπτυξε ένα τέτοιο εξειδικευμένο λογισμικό το οποίο είναι φορτωμένο στον υπολογιστή της συσκευής μας.

Το λογισμικό επεξεργασίας του φιλμ ηλεκτροφόρησης “ανοίγει” αμέσως μετά τη φωτογράφιση και δίνει στο χρήστη τη δυνατότητα να αναλύσει, να επεξεργαστεί και να αποθηκεύσει τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης.

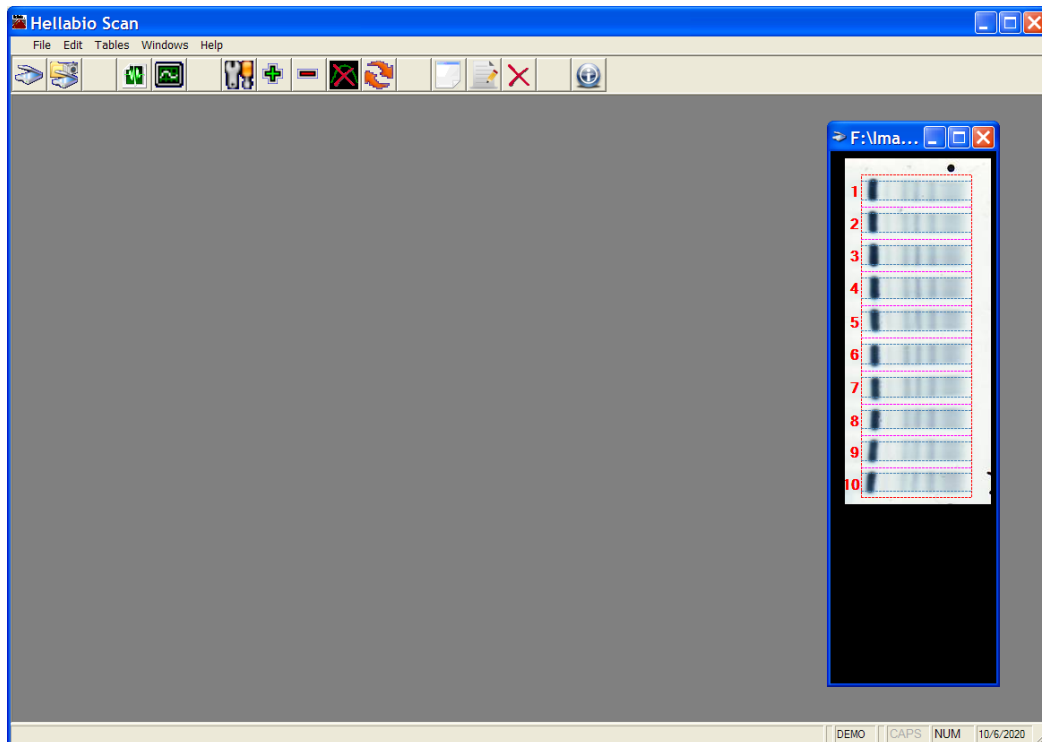
Το λογισμικό έχει αναπτυχθεί σε περιβάλλον Microsoft Visual Studio και είναι γραμμένο σε γλώσσα Visual Basic σε ότι αφορά το σχεδιασμό του user interface ενώ περιλαμβάνει μεγάλα τμήματα σε γλώσσα C++ για την υλοποίηση των αλγορίθμων υπολογισμού.

Το βασικό διάγραμμα ροής του λογισμικού επεξεργασίας του φιλμ σε γενικές γραμμές έχει ως εξής:



Εξειδικευμένος αλγόριθμος διαχωρισμού δειγμάτων του φιλμ

Η επιλογή των δειγμάτων γίνεται με αυτοματοποιημένο τρόπο με βάση έναν εξειδικευμένο αλγόριθμο επεξεργασίας εικόνας που υλοποίησε η ομάδα του ερευνητικού έργου και είναι σε θέση να διαχωρίσει τις “λωρίδες” των δειγμάτων πάνω στο φιλμ. Ο αυτόματος διαχωρισμός των “λωρίδων” προς ανάλυση φαίνεται στην παρακάτω εικόνα-1



εικ.1

Επιπλέον, ο αλγόριθμος κόβει αυτόματα τις άκρες κάθε λωρίδας και καθορίζει το πεδίο υπολογισμού στο κύριο σώμα κάθε λωρίδας. Οι μωβ γραμμές δείχνουν το περίγραμμα κάθε λωρίδας και οι μπλε γραμμές σηματοδοτούν την περιοχή υπολογισμού. Η τιμή του **Split Lane Operator** που καθορίζει το ποσοστό της αφαίρεσης και στις δύο πλευρές κάθε λωρίδας μπορεί να καθοριστεί από το χρήστη (η προεπιλεγμένη τιμή είναι 25%).

Ο χρήστης μπορεί να επιλέξει την ανάλυση όλων ή και ορισμένων από τα βιολογικά δείγματα που υποβλήθηκαν σε ηλεκτροφόρηση

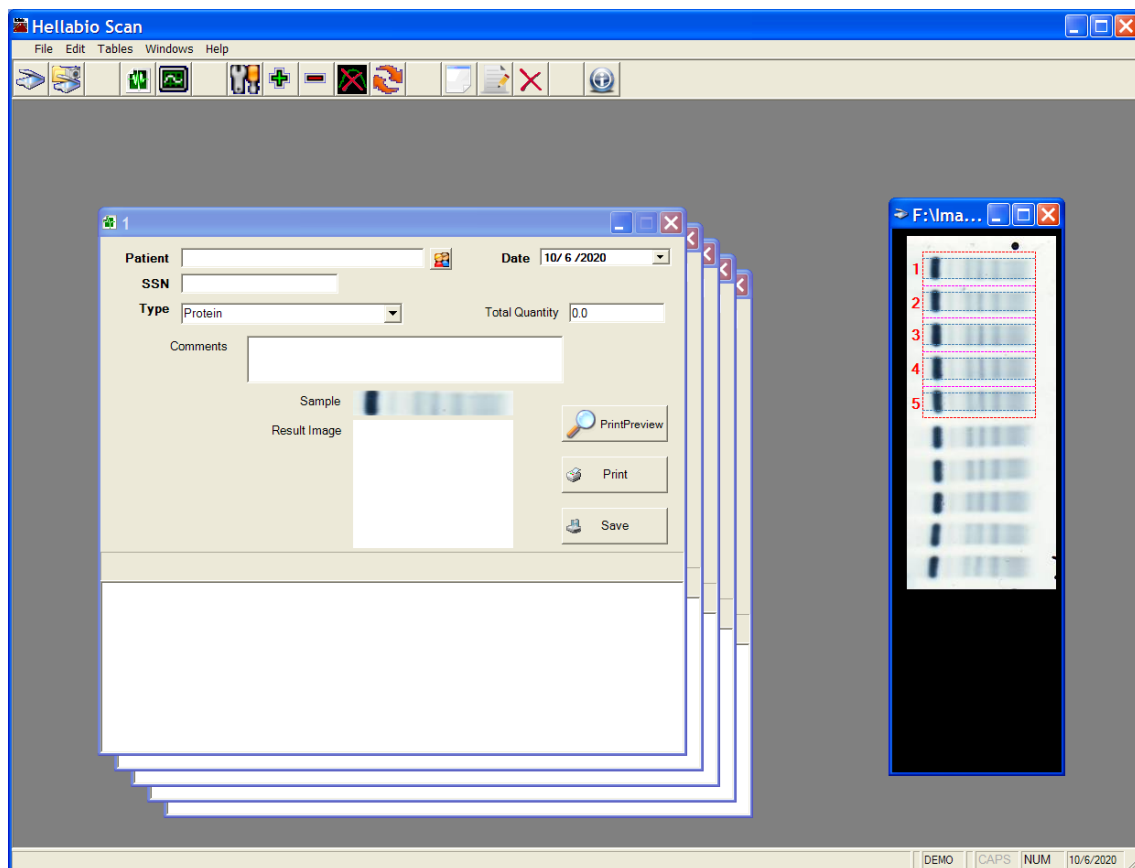
Μετά την επιλογή των δειγμάτων προς ανάλυση, ο χρήστης χρησιμοποιώντας το κουμπί  Analyze selected items στη γραμμή εργαλείων, ξεκινά τη διαδικασία ανάλυσης.

Κάθε φορά που ο χρήστης ξεκινά τη διαδικασία ανάλυσης, η εφαρμογή ρωτάει για τον τύπο της ηλεκτροφόρησης. Ο χρήστης είναι απαραίτητο να εισαγάγει τον τύπο της ηλεκτροφόρησης, επειδή το πρόγραμμα πρέπει να γνωρίζει ποιος είναι ο σωστός αριθμός κλασμάτων, προκειμένου να προσδιορίσει τις παθολογικές καταστάσεις και να παράγει το πρωτόκολλο τελικού αποτελέσματος.

Οι υποστηριζόμενοι τύποι εμφανίζονται παρακάτω:

- Πρωτεΐνες
- Αιμοσφαιρίνη (σε οξύ)
- Αιμοσφαιρίνη (σε αλκάλια)
- Λιποπρωτεΐνη
- Ανοσοκαθρισμός
- Ανοσοηλεκτροφόρηση
- DNA / RNA

Μετά την επιλογή τύπου ηλεκτροφόρησης, το πρόγραμμα δημιουργεί αυτόματα τόσα παράθυρα (windows) υπολογισμού όσες και τα επιλεγμένα δείγματα του φιλμ. Η εικόνα-2 δείχνει το Desktop της εφαρμογής μετά από επιλογή 5 λωρίδων δείγματος πρωτεϊνών.



ΕΙΚ.2

Κάθε παράθυρο υπολογισμού είναι ένα ανεξάρτητο αντικείμενο. Ο χρήστης μπορεί να ελαχιστοποιήσει, να μετακινήσει ή να κλείσει οποιοδήποτε από τα παράθυρα. Κάθε παράθυρο υπολογισμού επισημαίνεται με έναν αριθμό ανάλογα με τον αριθμό της λωρίδας της ταινίας.

Σε ένα παράθυρο υπολογισμού ο χρήστης μπορεί να εισάγει πολλά δεδομένα σχετικά με το εξεταζόμενο δείγμα (π.χ. το όνομα του ασθενούς, ο αριθμός κοινωνικής ασφάλισης, σχόλια ιατρού κλπ). Όλα αυτά τα στοιχεία εκτυπώνονται στην εμφάνιση των αποτελεσμάτων της ανάλυσης.

Εξειδικευμένος αλγόριθμος αυτόματου διαχωρισμού περιοχών πρωτεϊνών

Χρησιμοποιώντας το κουμπί  Automatic Calculation στη Γραμμή εργαλείων, το πρόγραμμα εκτελεί ένα δεύτερο επίσης εξειδικευμένο αλγόριθμο επεξεργασίας εικόνας που καθορίζει αυτόματα τα κλάσματα της εικόνας και υπολογίζει την πυκνότητα κάθε περιοχής. Ο αλγόριθμος αυτός περιλαμβάνει μαθηματικές τεχνικές που βασίζονται στη μελέτη της συνάρτησης

$$f(x) = \sum_{y=0}^{\max Y} (red(x, y) + green(x, y) + blue(x, y))$$

η οποία μας δίνει την πυκνότητα χρώματος για κάθε σημείο του άξονα των x σαν άθροισμα των τιμών των τριών βασικών χρωμάτων (Red-Green-Blue) για κάθε pixel για y=0 έως y=maxY.

Επίσης ο αλγόριθμος περιλαμβάνει και μία εξειδικευμένη τεχνική αυτο-εκπαίδευσης (self learning) που αναπτύχθηκε από την ομάδα του ερευνητικού έργου ώστε να διαχωρίζει με απόλυτη ακρίβεια τις περιοχές των πρωτεϊνών. Ο αλγόριθμος βασίζεται στη διαμόρφωση κάποιων παραμέτρων με βάση την εύρεση ή όχι του επιθυμητού αποτελέσματος σε ότι αφορά το πλήθος των περιοχών πρωτεϊνών.

Με τη μαθηματική ανάλυση, ελέγχουμε αν ο αριθμός των περιοχών που βρήκαμε είναι ο επιθυμητός για το συγκεκριμένο είδος ηλεκτροφόρησης.

π.χ. Αν έχουμε δηλώσει ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών με μία (1) περιοχή beta αιμοσφαιρινών θα πρέπει να διαχωριστούν 5 περιοχές πρωτεϊνών:

Albumin

Alpha-1

Alpha-2

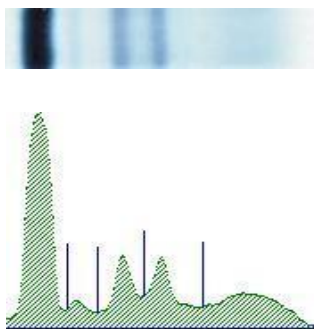
Beta

Gamma

Αν δεν έχει επιτευχθεί το συγκεκριμένο αποτέλεσμα ο αλγόριθμος προσαρμόζει τις παραμέτρους ώστε να το επιτύχει και επαναλαμβάνεται. Την επόμενη φορά που θα ζητηθεί ίδιου τύπου ανάλυση και η καμπύλη θα παρουσιάζει τα ίδια ποιοτικά χαρακτηριστικά ο αλγόριθμος θα κάνει τους υπολογισμούς με τις ίδιες παραμέτρους.

Η μέθοδος αυτή οδηγεί σε σωστό διαχωρισμό στο 99% των πραγματικών περιπτώσεων ανεξαρτήτως του είδους της ηλεκτροφόρησης.

Η εικόνα που δίνει ο αυτόματος διαχωρισμός των περιοχών απεικονίζεται μαζί με τη φωτογραφία του συγκεκριμένου δείγματος στο κέντρο του παραθύρου υπολογισμού και ένα παράδειγμα φαίνεται στην παρακάτω εικόνα 3.



ΕΙΚ.3

Αμέσως μετά το διαχωρισμό γίνονται αυτόματα οι υπολογισμοί των κλασμάτων των πρωτεϊνών και τα αποτελέσματα εμφανίζονται στο κάτω λευκό μέρος του παραθύρου υπολογισμού. Οι περιοχές πρωτεϊνών που βρίσκονται μέσα στα πλαίσια των φυσιολογικών τιμών απεικονίζονται με μπλε χρώμα ενώ οι παθολογικές τιμές με κόκκινο χρώμα.

Στο παράδειγμα της εικόνας-4 έχουμε δηλώσει ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών με δύο (2) περιοχές beta αιμοσφαιρινών και ο αλγόριθμος έκανε αυτόματα το διαχωρισμό σε έξι (6) περιοχές πρωτεϊνών:

Albumin

Alpha-1

Alpha-2

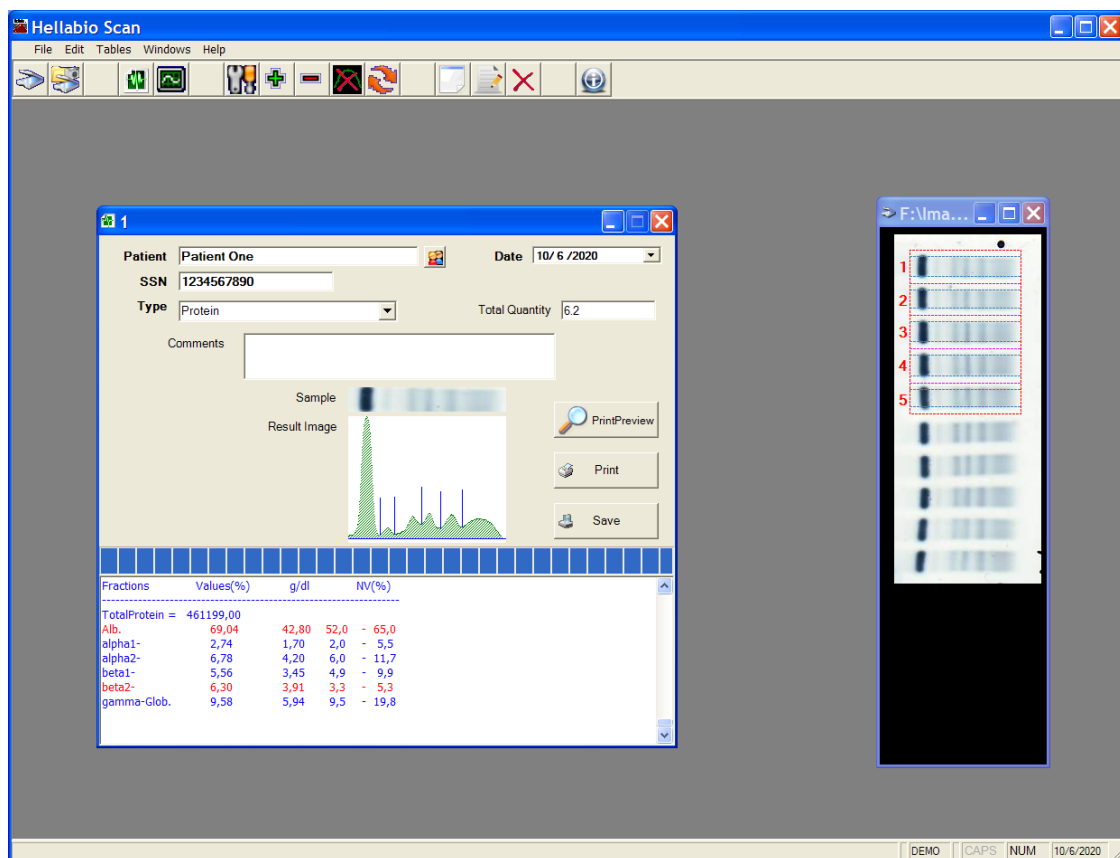
Beta-1

Beta-2

Gamma

Από τα κλάσματα πρωτεϊνών η Αλμπουμίνη και η Beta-2 αιμοσφαιρίνη παρουσιάζουν παθολογικές τιμές ενώ οι τιμές των υπολοίπων πρωτεϊνών βρίσκονται μέσα στα φυσιολογικά πλαίσια τιμών.

Σε περίπτωση που εμφανιστούν περισσότερες από τις προβλεπόμενες περιοχές ο αλγόριθμος τις ονομάζει άγνωστες (unknown) και τις χαρακτηρίζει παθολογικές.



ΕΙΚ.4

Χειροκίνητες επεμβάσεις

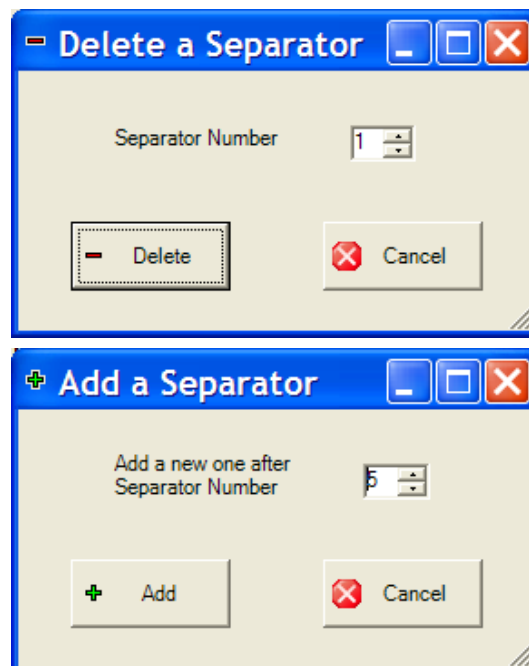
Η εφαρμογή διαθέτει ένα πολύ σημαντικό εργαλείο χειροκίνητης επέμβασης στα αποτελέσματα του αυτόματου διαχωρισμού. Σε περίπτωση που για οποιοδήποτε λόγο, ο χειριστής ιατρός θεωρεί ότι ο αυτόματος διαχωρισμός των περιοχών δεν έχει γίνει σωστά έχει τη δυνατότητα να επέμβει και με διάφορους τρόπους να προσδιορίσει ο ίδιος τις περιοχές διαχωρισμού των πρωτεϊνών.

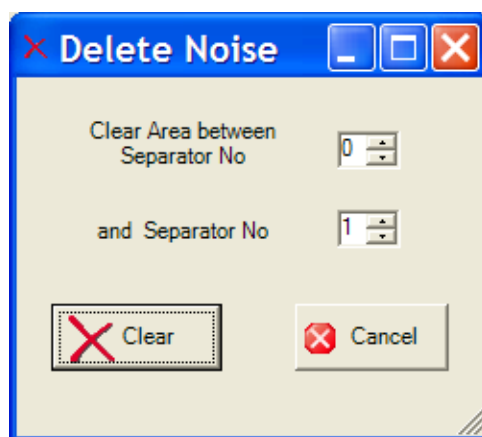
Τα εργαλεία χειροκίνητης επέμβασης ενεργοποιούνται με το πλήκτρο



Manual Correction και περιλαμβάνουν τα εξής:

- Add Separator. Προσθήκη ενός διαχωριστή (separator) ώστε να δημιουργηθεί μία ακόμη περιοχή.
- Delete Separator. Αφαίρεση ενός υπάρχοντος διαχωριστή (separator) ώστε να ενοποιηθούν δύο περιοχές σε μία.
- Noise Cleaning Αφαίρεση των τιμών μία περιοχής ανάμεσα σε δύο διαχωριστές η οποία κρίνει ο χειριστής ότι οφείλεται σε θόρυβο από κάποια διάχυση των χρωμάτων κατά τη διαδικασία βαφής και αποχρωματισμού του φιλμ.
- Undo. Αναίρεση της προηγούμενης χειροκίνητης διόρθωσης.





Επίσης η χειροκίνητη διόρθωση δίνει τη δυνατότητα στο χειριστή να μετακινήσει αριστερά ή δεξιά τους διαχωριστές κάτι που οδηγεί σε μείωση ή αύξηση του ποσοστού των αντίστοιχων πρωτεϊνών στο δείγμα.

Κάθε φορά που ο χειριστής κάνει μία οποιαδήποτε χειροκίνητη παρέμβαση γίνεται άμεσα επανα-υπολογισμός των κλασμάτων των πρωτεϊνών ώστε ο χειριστής να έχει άμεση εκτίμηση της αλλαγής των μεγεθών που επέφερε η επέμβασή του.

Γενικές δυνατότητες

Μετά τον υπολογισμό των κλασμάτων πρωτεϊνών, η εφαρμογή δίνει τη δυνατότητα στο χειριστή για μία σειρά από λειτουργίες.

- Ο χειριστής μπορεί να ορίσει στο πεδίο Total quantity τη συνολική ποσότητα πρωτεϊνών στο δείγμα ώστε μετά τον υπολογισμό να απεικονίζεται και το ποσό της πρωτεΐνης κάθε κλάσματος και όχι μόνο το ποσοστό επί του συνόλου. Κάθε φορά που ο χειριστής αλλάζει το συγκεκριμένο πεδίο ή εφαρμογή όπως είναι λογικό επανα-υπολογίζει τα ποσά των πρωτεϊνών στο δείγμα και τα εμφανίζει στο παράθυρο υπολογισμού.
- Επίσης μπορεί να εισάγει τα προσωπικά στοιχεία του εξεταζόμενου δείγματος όπως το όνομα ή αριθμός κοινωνικής ασφάλισης αλλά και να καταγράψει διάφορα σχόλια σχετικά με τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης εξέτασης.
- Κάνοντας κλικ πάνω στα αντίστοιχα κουμπιά μπορεί να δει μια προεπισκόπηση της εκτύπωσης των αποτελεσμάτων (Print preview), να τα εκτυπώσει (Print) και να τα αποθηκεύσει (Save) με σκοπό τη μελλοντική αναζήτηση και χρήση τους.

Εμφάνιση Αποτελεσμάτων

Ο χρήστης έχει τη δυνατότητα να εκτυπώσει τα αποτελέσματα της ηλεκτροφόρησης με όλα τα στοιχεία του ασθενούς και τα σχόλια που έχουν εισαχθεί από το χειριστή ιατρό. Στην τελική απεικόνιση εμφανίζονται και οι φυσιολογικές τιμές (normal values) των κλασμάτων των πρωτεϊνών για άμεση σύγκριση.

Το πεδίο φυσιολογικών τιμών των πρωτεϊνών είναι προκαθορισμένο στην εφαρμογή αλλά υπάρχει δυνατότητα στο χειριστή ιατρό να το μεταβάλει από τις επιλογές που του δίνονται πριν την τελική εμφάνιση εκτύπωση.

Επίσης η εφαρμογή δίνει στο χρήστη τη δυνατότητα να ορίσει αν θέλει και κάποια εικόνα ως τίτλο της εκτύπωσης του πρωτοκόλλου η οποία μπορεί να αναφέρει τα στοιχεία του εργαστηρίου που πραγματοποιεί την ανάλυση ή οτιδήποτε άλλο νομίζει αυτός.

Τέλος ορίζεται παραμετρικά αν το πρωτόκολλο θα περιλαμβάνει και φωτογραφία από το ίδιο το φιλμ ηλεκροφόρησης ή όχι.

Η παρακάτω εικόνα 5 δείχνει τις παραμέτρους που μπορεί να επηρεάσει ο χρήστης πριν την εκτύπωση των αποτελεσμάτων:

Band Label	Normal Values	
Alb.	52,0	65,0
alpha1-	2,0	5,5
alpha2-	6,0	11,7
beta1-	4,9	9,9
beta2-	3,3	5,3
gamma-Glob.	9,5	19,8

Header Image: Lab_Header.gif

Secondary Image: 3.bmp

Ok Cancel

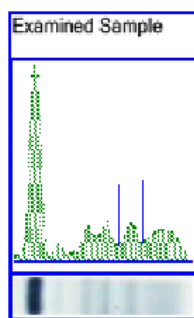
εικ.5

Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στην οθόνη ή εκτυπώνονται στη μορφή που φαίνεται στη Εικόνα-6

Τα ποσοστά των πρωτεϊνών που βρίσκονται μέσα στα φυσιολογικά πλαίσια τιμών εμφανίζονται κανονικά με μαύρο χρώμα ενώ οι τιμές εκτός κανονικών πλαισίων εμφανίζονται με κόκκινο χρώμα όπως σε όλα τα πρωτόκολλα ιατρικών εξετάσεων.

Protein Electrophoresis

Patient : Patient One
 SSN : 1234567890
 Date : 10/06/2020



Fractions	Values(%)	g/dL	NV(%)
Alb.	69,04	42,80	52,0 - 65,0
alpha1-	2,74	1,70	2,0 - 5,5
alpha2-	6,78	4,20	6,0 - 11,7
beta1-	5,56	3,45	4,9 - 9,9
beta2-	6,30	3,91	3,3 - 5,3
gamma-Glob.	9,58	5,94	9,5 - 19,8
TOTAL		62,00	A/G: 2,23



Comments:

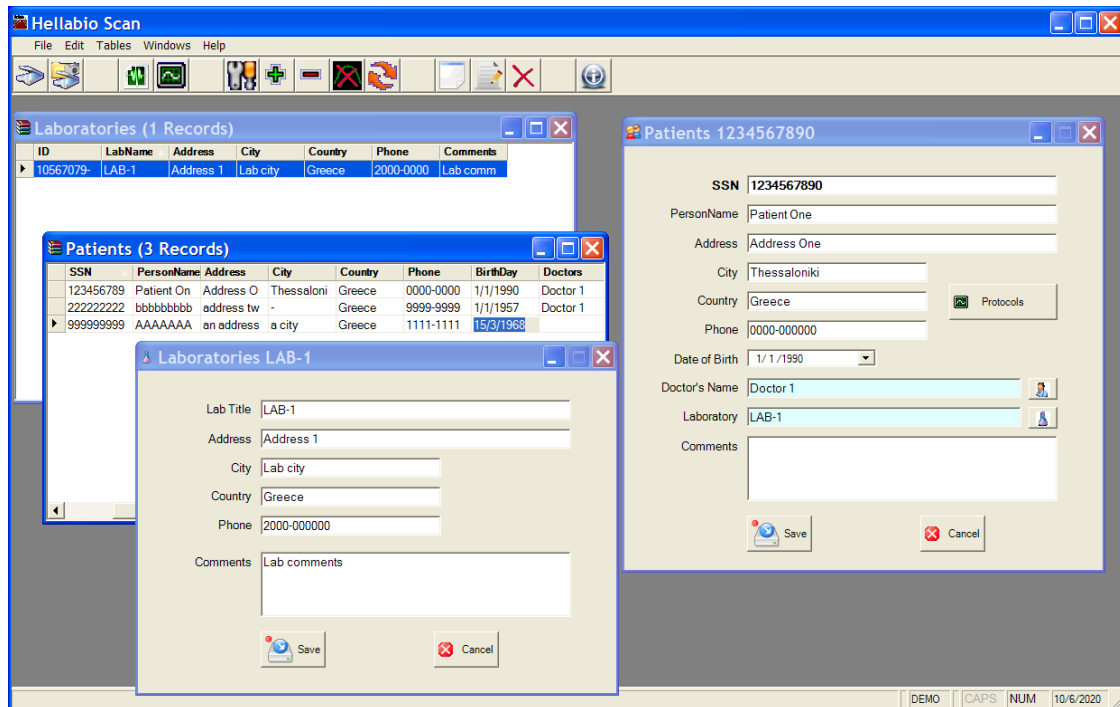
The Doctor



Copyright © 2019 EVRESIS S.A. Computer Software

Διαχείριση δεδομένων

Η εφαρμογή διαθέτει δυνατότητα διαχείρισης των στοιχείων των εξετάσεων καθώς ο χειριστής μπορεί να τα αποθηκεύει σε Βάση Δεδομένων με σύνθετες δυνατότητες αναζήτησής τους. Κάθε ασθενής μπορεί να συσχετίζεται με κάποιον ιατρό που τον παρακολουθεί ή με κάποιο εργαστήριο. Η εφαρμογή διαθέτει δυνατότητα πλήρους αρχειοθέτησης και παρακολούθησης του ιστορικού κάθε ασθενούς.



ΕΙΚ.7

Στην εικόνα-7 φαίνεται η καρτέλα στοιχείων ενός ασθενούς. Με το πάτημα του πλήκτρου  Protocols εμφανίζεται το ιστορικό εξετάσεων του ασθενούς και ο ιατρός μπορεί να επιλέξει οποιαδήποτε από τις εξετάσεις του ιστορικού για να εμφανίσει τα αποτελέσματά της.

Αν η εφαρμογή λειτουργεί σε ένα κεντρικό εργαστήριο, υπάρχει η δυνατότητα καταχώρησης στοιχείων συνεργαζομένων εργαστηρίων αλλά και ιατρών και δυνατότητα συσχέτισης αυτών με τους εξεταζόμενους ασθενείς ώστε να μπορεί ο χειριστής να εντοπίσει τα δείγματα που αφορούν κάποιο συγκεκριμένο εργαστήριο ή κάποιο συνεργάτη ιατρό.