

ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΚΑΙ
ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ

Ποσοτική Χαρτογράφηση Χρωμοφόρων Δέρματος με
Δεδομένα Φασματικής Απεικόνισης



Τσολάκη Ευαγγελία
ΑΜ:2000030060

Περιεχόμενα

Κεφάλαιο 1 - Ιστολογία και Οπτικές Ιδιότητες του Δέρματος	4
1.1 Κεράτινη Στοιβάδα.....	5
1.2 Επιδερμίδα.....	6
1.3 Χόριο	7
1.4 Υπόδερμα	8
Κεφάλαιο 2 - Αλληλεπίδραση οπτικής ακτινοβολίας με ιστούς	10
2.1 Εισαγωγή.....	10
2.2 Σκέδαση	11
2.2 Οπτικές ιδιότητες ιστών	15
2.2.1 Εισαγωγή.....	15
2.2.2 Περιγραφή διάδοσης φωτός στους ιστούς.....	16
2.2.3 Θεωρία Μεταφοράς.....	17
2.2.4 Περιοχή στην οποία κυριαρχεί η απορρόφηση	18
2.2.5 Περιοχή στην οποία κυριαρχεί η σκέδαση	18
2.2.6 Περιοχή στην οποία και τα δύο φαινόμενα είναι συγκρίσιμα.....	20
Κεφάλαιο 3 - Κακοήθεις νεοπλασίες – Μελάνωμα.....	21
3.1 Αιτιολογία – Παθογένεση.....	21
3.2 Τρόπος ανάπτυξης μελανώματος-μορφολογία	23
3.3 Πρόγνωση μελανώματος με βάση την ιστοπαθολογία της βλάβης	24
Κεφάλαιο 4 - Θρόμβωση	26
Κεφάλαιο 5 - Χρωμοφόρες	28
Κεφάλαιο 6 - Αλγόριθμοι Ποσοτικού Προσδιορισμού Χρωμοφώρων	30
6.1 Dawson	31
6.2 Feather	32
6.3 Ferguson-Pell	34
6.4 Hajizadeh-Saffar.....	36
6.5 Diffey	37
6.6 Kollias- Baqer.....	39
6.7 Dolotov	40
6.8 Meglinski and Matcher	42
6.9 M Shimada, Y Yamada et al.....	46
6.10 Wagner Jeniffer.....	48
6.11 Cotton Moncrieff.....	50
6.12 Erythema/Melanin Meter	53
6.13 Sabine Van Huffel.....	53
Κεφάλαιο 7 - Φασματική Απεικόνιση.....	55
7.1 Εισαγωγικά	55
7.2 Πειραματική Διάταξη.....	57
Κεφάλαιο 8 - Αποτελέσματα Πειραματικής Διαδικασίας.....	60
Βιβλιογραφία	99

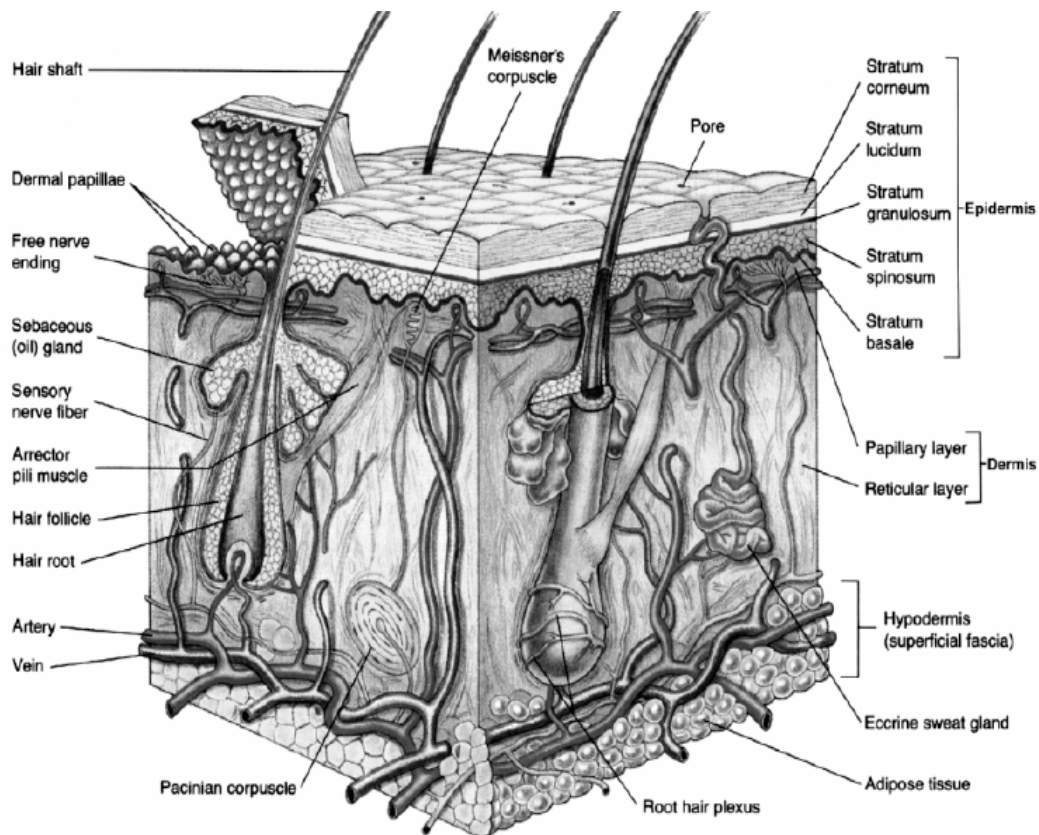
Περίληψη

Το δέρμα αποτελεί ένα ανομοιογενές, πολυστρωματικό, με διαφορετικές οπτικές ιδιότητες και λειτουργίες όργανο του σώματος. Το μεγαλύτερο ποσοστό της ακτινοβολίας που εισέρχεται στο δέρμα σκεδάζεται, με αποτέλεσμα η σκεδαζόμενη ακτινοβολία να μπορεί να καταγραφεί και να παρέχει πληροφορίες για το εσωτερικό του ιστού. Στην περιοχή του ορατού φάσματος, οι κύριες χρωμοφόρες του δέρματος είναι η μελανίνη, η οξυγονωμένη και η μη οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη. Κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας ασχοληθήκαμε με τη μελέτη αλγορίθμων που αποσκοπούν στην χαρτογράφηση των χρωμοφόρων του δέρματος στην περιοχή του ορατού φάσματος από τα 400-700nm. Πραγματοποιήσαμε δύο πειραματικές διαδικασίες χρησιμοποιώντας τα δεδομένα της πολυφασματικής κάμερας. Η πρώτη διαδικασία περιλαμβάνει τη λήψη εικόνων από υγιείς σπίλους, προκειμένου να μελετήσουμε την επαναληψιμότητα που παρουσιάζουν οι τιμές της μελανίνης καθώς και τα επίπεδά της σε υγιή σπίλο. Η δεύτερη πειραματική διαδικασία, αρχικά, περιλαμβάνει τη λήψη εικόνων από το δείκτη του χεριού, τον υπολογισμό των δεικτών της oxy-Hb και deoxy-Hb και την μελέτη της επαναληψιμότητας των τιμών τους. Στη συνέχεια προκαλέσαμε διακοπή της ροής του αίματος στο δείκτη και μελετήσαμε τις διαφοροποιήσεις που παρατηρούνται στο δείκτη της αιμοσφαιρίνης (oxy-deoxy) με τη συμπλήρωση 1 και 2 min, από τη ώρα της διακοπής, καθώς και την επαναληψιμότητα των δεικτών στα τρία στάδια της διαδικασίας. Από τα αποτελέσματα των πειραματικών διαδικασιών καταλήξαμε στο ότι είναι δυνατή η προσέγγιση των χρωμοφόρων, γεγονός το οποίο αποτελεί σημαντικό επίτευγμα για τη διάγνωση μιας σειράς ασθενειών. Η παρουσία μη οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης συνδέεται με τη διακοπή της ροής του αίματος η οποία λαμβάνει χώρα σε περιπτώσεις θρόμβωσης. Τέλος, με τον προσδιορισμό της μελανίνης μπορεί να πραγματοποιηθεί ο χαρακτηρισμός του σπίλου σε συνδεσμικό, μεικτό, χοριακό και δυσπλαστικό, να ανιχνευτεί το ανατομικό επίπεδο διήθησης (Επίπεδα κατά Clark), δηλαδή σε ποια στρώματα του δέρματος περιέχεται η μελανίνη, και να διαγνωστεί αν πρόκειται για μελάνωμα ή όχι.

Κεφάλαιο 1 - Ιστολογία και Οπτικές Ιδιότητες του Δέρματος

Το δέρμα αποτελεί τον εξωτερικό ιστό του σώματος και το μεγαλύτερο όργανο, όσον αφορά το βάρος του και την επιφάνειά του. Καταλαμβάνει $16,000 \text{ cm}^2$ για έναν ενήλικα και αντιστοιχεί σχεδόν στο 8% του βάρους του σώματος.

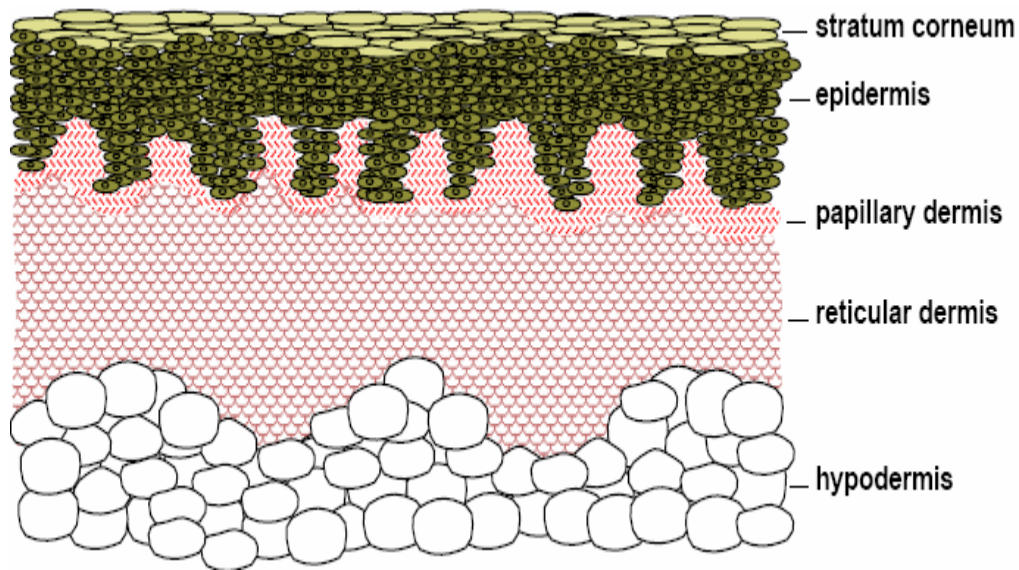
Είναι ένα όργανο πολυστρωματικό και ανομοιογενές με διαφορετικές λειτουργίες και οπτικές ιδιότητες. Όταν μια δέσμη φωτός πλησιάσει την επιφάνεια του δέρματος, ένα μικρό ποσοστό της προσπίπτουσας ακτινοβολίας ανακλάται λόγω της διαφοράς που υπάρχει μεταξύ του δείκτη διάθλασης του αέρα και της κεράτινης στοιβάδας.



Εικόνα 1: Απεικόνιση των στρωμάτων του δέρματος

Το δέρμα αποτελείται από:

- την επιδερμίδα (epidermis)
- το χόριο (dermis)
- και το υπόδερμα (subcutaneous tissue)



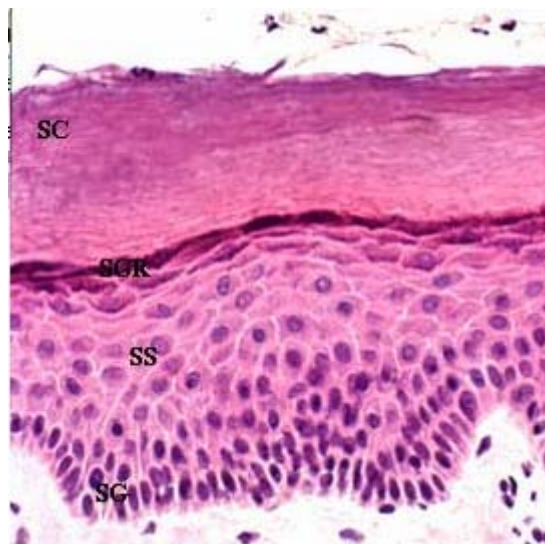
Εικόνα 2: Απεικόνιση των στρωμάτων του δέρματος

1.1 Κεράτινη Στοιβάδα

Το πιο εξωτερικό στρώμα του δέρματος λέγεται **κεράτινη στοιβάδα** (stratum corneum). Η δομή της αποτελείται από επιμέρους στρώματα με συνολικό πάχος περίπου 10-15 μm . Τα κύτταρα τα οποία δημιουργούν το κερατοειδή χιτώνα της επιδερμίδας είναι αποπεπλατυσμένα κερατινοκύτταρα ενωμένα μεταξύ τους με λιπίδια που συνθέτονται στην κοκκώδη στοιβάδα. Αποτελεί προστατευτικό στρώμα, το οποίο συγκρατεί το νερό μέσα και τα ανεπιθύμητα συστατικά εκτός του σώματος. Η απορρόφηση του φωτός σε αυτόν τον ιστό είναι χαμηλή, με μέρος του μεταδιδόμενου φωτός να διαδίδεται σχετικά ομοιόμορφα στην ορατή περιοχή του φάσματος. Άρα εκτός από την σκέδαση του φωτός αποτελεί οπτικά ουδέτερο στρώμα. [2]

1.2 Επιδερμίδα

Κάτω από τον κερατοειδή χιτώνα βρίσκεται το στρώμα της **ζωντανής επιδερμίδας**. Η επιδερμίδα είναι το πιο ανθεκτικό κύριο στρώμα του δέρματος με πάχος δομής 0.027-0.15 mm. Αποτελείται από 5 υποστρώματα: (i) τον κερατοειδή χιτώνα [stratum corneum], (ii) το υπόστρωμα lucidium [the stratum lucidum] (παρών μόνο σε περιοχές με πολύ παχύ δέρμα, όπως οι παλάμες, και οι πατούσες), (iii) το υπόστρωμα granulosum [stratum granulosum κοκκώδη], (iv) το υπόστρωμα spinosum [stratum spinosum] και (v) το υπόστρωμα germinatum [stratum germinatum βλαστικό] με πιο σημαντικά το κοκκώδη υπόστρωμα και το βλαστικό υπόστρωμα.



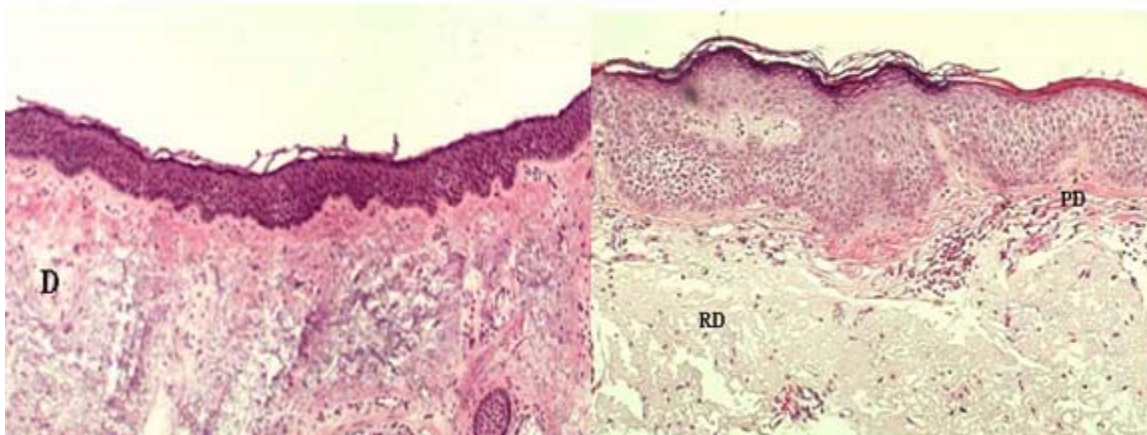
Εικόνα 3: Απεικόνιση Επιδερμίδας

Η επιδερμίδα συνεχώς αναγεννάται, δηλαδή τα κύτταρα της αναπαράγονται και για αυτή τη λειτουργία είναι υπεύθυνο το βλαστικό υπόστρωμα που βρίσκεται στην κατώτερη στοιβάδα. Η επιδερμίδα συντίθεται κυρίως από συνεκτικό ιστό και περιέχει μελανίνη, η οποία παράγεται από τα μελανοκύτταρα. Η μελανίνη απορροφά φως στο μπλε τμήμα του ορατού φάσματος και στο υπεριώδες. Με αυτό τον τρόπο λειτουργεί σαν φίλτρο το οποίο προστατεύει τα βαθύτερα στρώματα του δέρματος από τα επιβλαβή αποτελέσματα της UV ακτινοβολίας. Μέσα στο

στρώμα της επιδερμίδας η σκέδαση που παρατηρείται είναι μικρή με αποτέλεσμα όσο φως δεν απορροφάται από την μελανίνη να περνάει στο χόριο.[2]

1.3 Χόριο

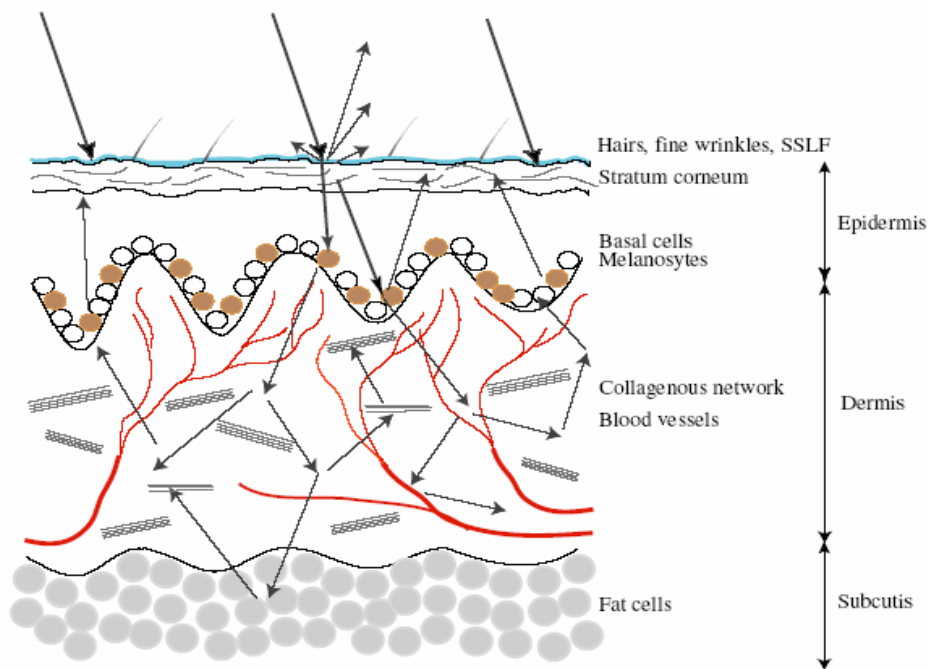
Το **χόριο** είναι το κύριο εσωτερικό στρώμα του δέρματος. Υποστηρίζει το αγγειακό δίκτυο, το οποίο παρέχει στην μη αγγειωμένη επιδερμίδα θρεπτικά συστατικά. Το χόριο περιέχει κύτταρα συνεκτικού ιστού [fibroblasts], αγγεία αίματος, νευρικές απολήξεις, κολλαγόνο, ελαστίνη και άλλη ενδοκυτταρική ύλη, στοιχεία τα οποία δίνουν την υποστήριξη και την ελαστικότητα στο δέρμα.



Εικόνα 4: Απεικόνιση Χορίου

Το χόριο αποτελείται από δυο διαφορετικά, ως προς τη δομή, υποστρώματα: το θηλώδες στρώμα [papillary layer], το οποίο περιέχει το αγγειακό δίκτυο και το δικτυωτό υπόστρωμα [reticular layer], στο οποίο υπάρχουν τριχοφυείς αδένες, θυλακώματα των τριχών και αδένες εκκρίσεως. Η βασική διαφορά των δύο στρωμάτων είναι το μέγεθος των ινών κολλαγόνου. Το μέγεθος των ινών (διάμετρος μια τάξη μεγέθους μικρότερη σε σχέση με την προσπίπτουσα ακτινοβολία) στο θηλώδες χόριο καθιστούν το στρώμα αυτό υψηλό οπισθοσκεδαστή (σκέδαση Rayleigh). Η σκέδαση είναι πιο έντονη στο τέλος του κόκκινου του φάσματος και μεγαλώνει ακόμη περισσότερο κοντά στο υπέρυθρο. Στο δικτυωτό χόριο οι ίνες κολλαγόνου έχουν μεγάλο

μέγεθος με αποτέλεσμα να προκαλείται υψηλή εμπρόσθια σκέδαση (σκέδαση Mie). Το φως που φτάνει σε αυτό το στρώμα περνάει στα βαθύτερα στρώματα του δέρματος και έτσι το δικτυωτό χόριο δεν συνεισφέρει στο σκεδασμένο φάσμα.



Εικόνα 5: Αλληλεπίδραση δέρματος - ακτινοβολίας

1.4 Υπόδερμα

Το **υπόδερμα** είναι ένα υποδερμικό στρώμα συνδετικού ιστού (κάτω από το κύριο μέρος). Το υπόδερμα είναι ένας λιπώδης ιστός [adipose tissue], που χαρακτηρίζεται από ελάχιστη απορρόφηση του φωτός στο ορατή περιοχή του φάσματος. Συνήθως αυτό το στρώμα δεν θεωρείται μέρος του δέρματος και το μέγεθος του ποικίλει σημαντικά ανάλογα με την περιοχή του σώματος. Μπορεί να φθάσει μέχρι και το πάχος των 3 cm στη κοιλιά (abdomen) και να είναι απών από άλλα μέρη όπως τα βλέφαρα. Το υπόδερμα παρουσιάζει σημαντικές εναποθέσεις από λευκό λίπος, του οποίου τα κύτταρα είναι κατά ομάδες δημιουργώντας συστοιχίες. Εξαιτίας της

παρουσίας αυτών των στρωμάτων λευκού λίπους, περισσότερη από την ορατή ακτινοβολία η οποία φθάνει σε αυτό τον ιστό, ανακλάται πίσω στα ανώτερα στρώματα [1].

Κεφάλαιο 2 - Αλληλεπίδραση οπτικής ακτινοβολίας με ιστούς

2.1 Εισαγωγή

Η οπτική ακτινοβολία είναι η περιοχή του ηλεκτρικού φάσματος μεταξύ των ακτίνων Χ και των μικροκυμάτων. Η διάδοση του φωτός, ως κυματικό φαινόμενο, χαρακτηρίζεται από ένα μήκος κύματος λ και μία συχνότητα ν που συνδέονται με τη σχέση,

$$\nu = \frac{c}{\lambda}$$

όπου c είναι η ταχύτητα του φωτός ($3 \cdot 10^8 \text{m/sec}$).

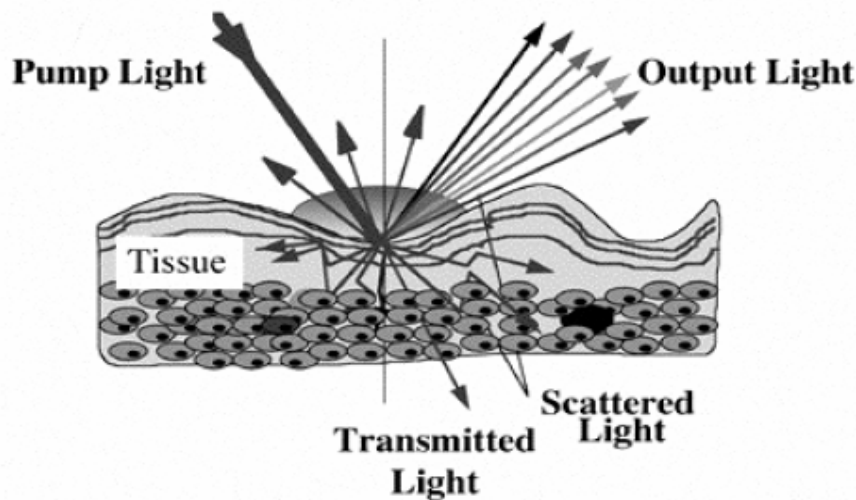
Η πρόσπτωση της φωτεινής ακτινοβολίας σε ύλη μπορεί να συνοδευτεί είτε από διάδοση του φωτός χωρίς να συμβεί απορρόφηση είτε από εξολοκλήρου ή μερική απορρόφηση. Η μελέτη της διάδοσης και της κατανομής της οπτικής ακτινοβολίας σε βιολογικούς μαλακούς ιστούς είναι ιδιαίτερα σημαντική για μια σειρά ιατρικών εφαρμογών που συσχετίζονται τόσο με διαγνωστικές τεχνικές όσο και με θεραπευτικές αγωγές.

Η έρευνα για την χρήση της οπτικής ακτινοβολίας στην βιοϊατρική τεχνολογία, τα τελευταία χρόνια, είναι εκτενής. Το γεγονός αυτό οφείλεται στα πλεονεκτήματα που έχει η χρήση της οπτικής ακτινοβολίας, σε διαγνωστικές και θεραπευτικές μεθόδους, έναντι των άλλων παρεμβατικών μεθόδων.

Βασίζονται στην βιοϊατρική ανάλυση του δείγματος μέσω των χαρακτηριστικών οπτικών ιδιοτήτων των ιστών [23]. Για τη μελέτη αυτή είναι απαραίτητη τόσο η γνώση όσο και ο προσδιορισμός των οπτικών ιδιοτήτων των ιστών καθώς και των μοντέλων διάδοσης, που περιγράφουν τους μηχανισμούς αλληλεπίδρασης της φωτεινής ακτινοβολίας με τον ιστό, στοιχεία των οποίων θα αναπτυχθούν περαιτέρω.

Κατά τη βιοψία που είναι ο συνηθέστερος τρόπος διάγνωσης του καρκίνου, γίνεται αφαίρεση του υπό εξέταση ιστού, κάτι που έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ανωμαλιών στην περιοχή της εξέτασης, καθώς ενδεχομένως και στις γύρω από τον ιστό περιοχές. Επιπλέον η χημική ανάλυση του δείγματος της βιοψίας απαιτεί κάποιον χρόνο, ο οποίος παίζει σημαντικό ρόλο σε μία ασθένεια, όπως ο καρκίνος, που εξελίσσεται με γοργό ρυθμό. Επομένως μία διάγνωση σε πραγματικό χρόνο (real time) και με μη-παρεμβατικό τρόπο είναι η ενδεδειγμένη λύση. Έτσι

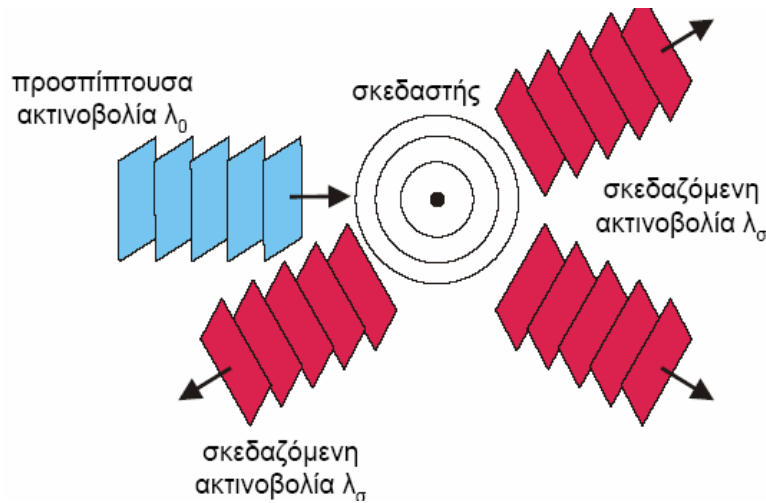
έγινε επιτακτική η ανάγκη για ανάπτυξη μιας καλύτερης μη-παρεμβατικής μεθόδου, ικανής να ανιχνεύει τις ιστολογικές ανομοιομορφίες στα αρχικά στάδια εκδήλωσης της ασθένειας. Τα τελευταία χρόνια διάφορα κλινικά και ερευνητικά κέντρα επικεντρώθηκαν στην ανάπτυξη τέτοιων μεθόδων που ονομάστηκε οπτική βιοψία (optical biopsy). Οι τεχνικές οπτικής βιοψίας δεν συνιστούν την αφαίρεση του ιστού από το σώμα.



Εικόνα 6

2.2 Σκέδαση

Η απορρόφηση ενέργειας από ένα σύστημα (σκεδαστής) λόγω της πρόσπτωσης ενός φωτονίου και η επανεκπομπή μέρους της ενέργειας του παραπάνω φωτονίου από το ίδιο σύστημα ορίζεται σαν σκέδαση. Η σκεδαζόμενη ακτινοβολία μπορεί να έχει διαφορετικό μήκος κύματος λ_0 , ένταση, φάση, διεύθυνση διάδοσης και πόλωση από την προσπίπτουσα ακτινοβολία.



Εικόνα 7

Το φαινόμενο της σκέδασης ευθύνεται για το ότι η διεύθυνση της μεταφερόμενης ακτινοβολίας αλλάζει και για το ότι ένα ποσοστό της επανεκπέμπεται από το δέρμα. Η ανακλώμενη ακτινοβολία σχηματίζει γωνία 10° μοιρών, κατά μέσο όρο, με τη διεύθυνση της προσπίπτουσας και έχει υπολογιστεί ότι απαιτούνται περίπου 324 σκεδάσεις, σύμφωνα με την προσομοίωση Monte Carlo, ώστε το φωτόνιο να εξέλθει από την επιδερμίδα. Αυτό σημαίνει ότι η ακτινοβολία ακολουθεί μεγάλη 'διαδρομή' μέσα στον ιστό, με αποτέλεσμα να παρατηρείται το φαινόμενο της απορρόφησης.

Στης περίπτωση ενός μέσου που εμφανίζει ισχυρή σκέδαση στο ορατό φάσμα, απαιτείται να έχει μέγεθος μερικές εκατοντάδες nanometers και διαφορετικό δείκτη διάθλασης σε σχέση με το περιβάλλον που το πλαισιώνει.

Στην περίπτωση του δέρματος τα συστατικά του που αποτελούν ισχυροί σκεδαστές είναι το κολλαγόνο, οι ίνες ελαστίνης, τα ερυθροκύτταρα, τα υπο-κυτταρικά οργανίδια (κεχρωσμένα μελανοσώματα, νουκλεϊκά, μιτοχόνδρια) και τα κύτταρα μεμβράνης.

Η σκέδαση συμβάλλει στο 'σχήμα' που παίρνει το οπισθοσκεδαζόμενο φάσμα και εκφράζεται μέσω της παρακάτω σχέσης:

$$\text{Scattering} = a \times \lambda^{-b}$$

όπου a και b χαρακτηριστικές σταθερές του ιστού, με την a να παίρνει τιμές από 10^{-4} έως 10^{-5} και την b από 1.2 έως 1.5.

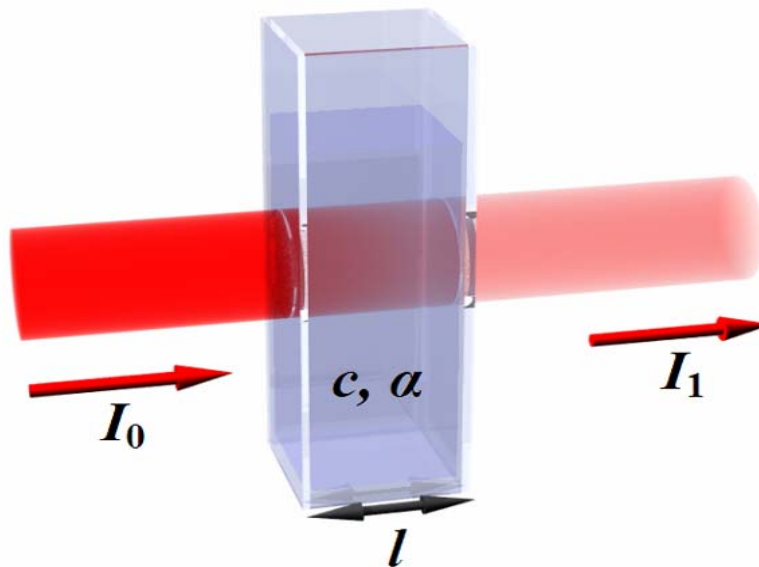
Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι το βάθος διείσδυσης της ακτινοβολίας στον ιστό εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά της σκέδασης και της απορρόφησης. Δοθέντος ότι η σκέδαση και η

απορρόφηση εξαρτώνται από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας, συμπεραίνεται ότι και το βάθος διείσδυσης εξαρτάται από το μήκος κύματος. Έχει βρεθεί ότι η μπλε ακτινοβολία διεισδύει σε βάθος 100 μm ενώ η κόκκινη περίπου στα 500 μm .

2.3 Απορρόφηση

Απορρόφηση ορίζεται η διεργασία κατά την οποία η ύλη μπορεί να απορροφήσει ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία και να μετατρέψει την ενέργεια ενός φωτονίου σε εσωτερική ενέργεια. Η ενεργειακή μετατροπή περιγράφεται σαν την μετάβαση ή την διέγερση από ένα χαμηλό ενεργειακό επίπεδο σε ένα υψηλότερο. Ο τύπος της διέγερσης εξαρτάται από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας. Τα ηλεκτρόνια προάγονται σε υψηλότερες τροχιές στο ultraviolet και visible φάσμα, στο infrared ταλαντώνονται ενώ στα microwaves περιστρέφονται.

Η φασματική απορρόφηση ασχολείται με την μελέτη των ενεργειακών σταθμών των μορίων, των ατόμων και των στερεών. Ένα φάσμα απορρόφησης είναι η απορρόφηση της ακτινοβολίας σαν συνάρτηση του μήκους κύματος. Για την μέτρηση της συγκέντρωσης ενός απορροφητή χρησιμοποιείται ο Beer-Lambert Law. Ο Beer-Lambert Law είναι μια γραμμική σχέση μεταξύ της απορροφητικότητας και της συγκέντρωσης του απορροφητή.



Εικόνα 8

Ο γενικός τύπος είναι:

$$A = a(\lambda) * l * c$$

όπου A είναι η μετρούμενη απορρόφηση, $a(\lambda)$ ο εξαρτώμενος από το μήκος κύματος συντελεστής απορρόφησης, l το μήκος της διαδρομής που διασχίζει η ακτινοβολία και c η συγκέντρωση του απορροφητή. Στην περίπτωση της μοριακής συγκέντρωσης ο Beer-Lambert Law γίνεται:

$$A = \epsilon * l * c$$

Όπου ϵ ο εξαρτώμενος από το μήκος κύματος μοριακός συντελεστής απορρόφησης με μονάδες $M^{-1}cm^{-1}$.

Οι πειραματικές μετρήσεις γίνονται με βάση την transmittance T , η οποία ορίζεται:

$$T = I_1/I_0$$

όπου I_1 η ένταση της ακτινοβολίας αφού έχει περάσει μέσα από το δείγμα και I_0 η αρχική ένταση της ακτινοβολίας. Η σχέση μεταξύ της A και T είναι:

$$A = -\log T = -\log(I_1/I_0)$$

Έτσι η συγκέντρωση μιας ουσίας δύναται να προσδιοριστεί μετρώντας το ποσοστό της ακτινοβολίας που απορροφά και χρησιμοποιώντας τον ο Beer-Lambert Law.

Στην περίπτωση ενός μέσου ισχυρής σκέδασης ο Beer-Lambert Law πρέπει να τροποποιηθεί ώστε να συμπεριλαμβάνει: (i) τον όρο G , που αντιστοιχεί στις απώλειες λόγω σκέδασης και (ii) έναν multiplier, για την μέτρηση της αύξησης της διαδρομής της ακτινοβολίας λόγω του φαινομένου της σκέδασης. Η πραγματική οπτική απόσταση ορίζεται σαν differential pathlength (DP) και ο scaling παράγοντας σαν differential pathlength factor (DPF):

$$DP = DPF * d$$

όπου d η γεωμετρική απόσταση.

Ο τροποποιημένος Beer-Lambert Law ορίζεται από την παρακάτω σχέση:

$$A = \log(I_1/I_0) = a * c * d * DPF + G$$

Η παραπάνω σχέση όμως δεν μπορεί να δώσει μια τιμή για τη συγκέντρωση μιας και το G δεν είναι γνωστό αφού εξαρτάται από τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά και το συντελεστή σκέδασης του ιστού που εξετάζεται κάθε φορά. Στην περίπτωση όμως που το G παραμένει σταθερό κατά τη διάρκεια μιας μέτρησης, τότε είναι δυνατός ο υπολογισμός της διαφοράς στην συγκέντρωση της χρωμοφόρας ($c_2 - c_1$) σε σχέση με την μετρούμενη διαφορά εκπομπής ($A_2 - A_1$):

$$(A_2 - A_1) = (c_2 - c_1) * a * d * DPF$$

Η ποσοτικοποίηση της διαφοράς στην συγκέντρωση της χρωμοφόρας ($c_2 - c_1$) εξαρτάται ακόμη από την μέτρηση της γεωμετρικής απόστασης d και από το differential pathlength factor. Αν και το d είναι εύκολο να υπολογιστεί, μιας και αντιστοιχεί στην γεωμετρική απόσταση μεταξύ του σημείου όπου εισέρχεται η ακτινοβολία στο μέσο και στο σημείο όπου εξέρχεται από αυτό, ο προσδιορισμός του differential pathlength factor δεν είναι εύκολος. Υπάρχει πλήθος τεχνικών οι οποίες χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό του στον ιστό.

2.2 Οπτικές ιδιότητες ιστών

2.2.1 Εισαγωγή

Ο βιολογικός ιστός θεωρείται μη διαυγές οπτικό μέσο, με αρκετά μικρές διακυμάνσεις των οπτικών του ιδιοτήτων. Έτσι για την περιγραφή των οπτικών του χαρακτηριστικών χρησιμοποιούνται ογκομετρικές παράμετροι σκέδασης και απορρόφησης [24] και όχι μοντέλα διακριτών κέντρων σκέδασης και απορρόφησης κατανεμημένα σε ένα μη σκεδαστικό και μη απορροφητικό μέσο.

Οι βασικές οπτικές παράμετροι για τη μελέτη της διάδοσης φωτεινής ακτινοβολίας σε μαλακό ιστό είναι: ο συντελεστής απορρόφησης μ_a , ο συντελεστής σκέδασης μ_s και ο βαθμός ανισοτροπίας g .

Ο συντελεστής απορρόφησης μ_a έχει διαστάσεις αντίστροφου μήκους και η αντίστροφη ποσότητα $1/\mu_a$ εκφράζει τη μέση ελεύθερη διαδρομή μέχρι να συμβεί απορρόφηση. Ο συντελεστής σκέδασης μ_s έχει επίσης διαστάσεις αντίστροφου μήκους ενώ το $1/\mu_s$ δηλώνει τη μέση ελεύθερη διαδρομή που διανύει το φωτόνιο μέχρι να σκεδαστεί. Το άθροισμα των δύο αυτών συντελεστών δίνει τον ολικό συντελεστή εξασθένησης, μ_t . Ο λόγος του συντελεστή σκέδασης προς τον ολικό συντελεστή εξασθένησης προσδιορίζει μια αδιάστατη ποσότητα a , που ονομάζεται albedo. Οι τιμές που μπορεί να πάρει κυμαίνονται μεταξύ 0 και 1, η τιμή 0 υποδηλώνει έλλειψη σκέδασης ενώ η τιμή 1 έλλειψη απορρόφησης.

Για την περιγραφή των γεγονότων σκέδασης χρησιμοποιείται και η συνάρτηση φάσης $p(s, s')$, όπου s, s' μοναδιαία διανύσματα διεύθυνσης. Η συνάρτηση αυτή εκφράζει το ποσοστό του φωτός, το οποίο εφόσον συμβεί σκέδαση, θα σκεδαστεί από την αρχική διεύθυνση s , στη

διεύθυνση s' . Συνήθως δίνεται ως συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας οπότε και θα πρέπει να ισχύει:

$$\int_{4\pi} p(s, s') d\omega = 1$$

όπου $d\omega$ είναι η στοιχειώδης στερεά γωνία κατά τη διεύθυνση s .

Συνήθως και για λόγους απλότητας η συνάρτηση φάσης εκφράζεται ως συνάρτηση μόνο της γωνίας μεταξύ των δύο διευθύνσεων s, s' . Η απλούστερη έκφραση για τη συνάρτηση φάσης αντιστοιχεί στην περίπτωση της ισότροπης σκέδασης, όπου η $p(s, s')$ είναι σταθερή και ισούται σύμφωνα με την παραπάνω σχέση κανονικοποίησης με $1/4\pi$. Συνήθως η μορφή της συνάρτησης φάσης δεν είναι γνωστή και μια άλλη παράμετρος το μέσο συνημίτονο της συνάρτησης φάσης ή βαθμός ανισοτροπίας g χρησιμοποιείται.

$$g = \int_{4\pi} p(s, s')(s \cdot s') d\omega = 1$$

Ο βαθμός ανισοτροπίας g υποδηλώνει την ασυμμετρία στην περίπτωση σκέδασης και μερικές χαρακτηριστικές τιμές που μπορεί να λάβει είναι: 1 για εμπρόσθια σκέδαση κατά την αρχική διεύθυνση, 0 για ισότροπη σκέδαση και -1 για οπισθοσκέδαση. Από το συνδυασμό του συντελεστή σκέδασης μ_s και του βαθμού ανισοτροπίας g προκύπτει μια άλλη οπτική παράμετρο για την περιγραφή της σκέδασης, ο ενεργός συντελεστής σκέδασης $\mu_s' = \mu_s(1-g)$. Έχει διαστάσεις αντίστροφου μήκους και η αντίστροφη ποσότητα $1/\mu_s'$ εκφράζει τη μέση ελεύθερη διαδρομή έως η τροχιά του φωτονίου γίνει τυχαία.

2.2.2 Περιγραφή διάδοσης φωτός στους ιστούς

Στους ιστούς, το φως σκεδάζεται και απορροφάται και η μαθηματική περιγραφή των χαρακτηριστικών διάδοσης είναι δυνατόν να γίνει με δυο διαφορετικούς τρόπους, την αναλυτική θεωρία και τη θεωρία μεταφοράς.

Η αναλυτική θεωρία, στηρίζεται σε βασικές εξισώσεις όπως είναι οι εξισώσεις Maxwell ή η κυματική εξίσωση, εισάγει τις ιδιότητες σκέδασης και απορρόφησης και καταλήγει σε διαφορικές ή ολοκληρωτικές εξισώσεις για στατιστικές ποσότητες όπως είναι οι διακυμάνσεις και οι συναρτήσεις συσχέτισης. Έχει αυστηρή μαθηματική δόμηση, είναι όμως πρακτικά αδύνατη η εξαγωγή μιας σχέσης που να έχει συμπεριλάβει πλήρως όλα τα φαινόμενα.

Η θεωρία μεταφοράς (Transport Theory) δεν ξεκινά με τις εξισώσεις Maxwell. Περιγράφει άμεσα τη μεταφορά ισχύος δια μέσου των ιστών. Η ανάπτυξη της θεωρίας είναι ευρεστική (Heuristic) και στερείται της αυστηρότητας της αναλυτικής θεωρίας [24]. Η θεωρία μεταφοράς έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς και εφαρμόζεται σε μεγάλο αριθμό πρακτικών προβλημάτων.

2.2.3 Θεωρία Μεταφοράς

Η θεωρία αυτή αντιμετωπίζει άμεσα το θέμα της διάδοσης της ενέργειας. Βασίζεται στην εξίσωση μεταφοράς:

$$\mathbf{s} \cdot \nabla L(\mathbf{r}, \mathbf{s}) = -(\mu_a + \mu_s)L(\mathbf{r}, \mathbf{s}) + \mu_s \int_{4\pi} p(\mathbf{s}, \mathbf{s}') L(\mathbf{r}, \mathbf{s}') d\omega$$

Η βασική φυσική ποσότητα για τη μελέτη της διάδοσης της φωτεινής ακτινοβολίας είναι η πυκνότητα ροής ακτινοβολίας $L(\mathbf{r}, \mathbf{s})$ ($\text{W m}^{-2}\text{sr}^{-1}$). Το πρώτο μέλος της παραπάνω εξίσωσης περιγράφει το ρυθμό αλλαγής ροής ακτινοβολίας σε ένα σημείο που καθορίζεται από το διάνυσμα \mathbf{r} κατά την κατεύθυνση του μοναδιαίου διανύσματος \mathbf{s} . Η αλλαγή αυτή ισούται με την απώλεια λόγω απορρόφησης και σκέδασης συν το κέρδος από τη σκέδαση από όλες τις άλλες διευθύνσεις \mathbf{s}' στη διεύθυνση \mathbf{s} . Για την εξαγωγή της εξίσωσης μεταφοράς έχουν γίνει κάποιες υποθέσεις. Έτσι, απαιτείται ανεξαρτησία των σκεδαστών μεταξύ τους. Η συνάρτηση φάσης μπορεί να περιγράψει συνολικά τη διαδικασία της σκέδασης για όλους τους σκεδαστές. Η κατανομή της ροής της ακτινοβολίας βρίσκεται στη μόνιμη κατάσταση (μια προσέγγιση αρκετά ικανοποιητική εφόσον η διάρκεια έκθεσης είναι μεγαλύτερη από λίγα nsec). Επίσης έχει γίνει η υπόθεση ότι δεν υπάρχουν στο μέσο άλλες πηγές ακτινοβολίας, σε αντίθετη περίπτωση θα πρέπει στο δεύτερο μέλος της εξίσωσης να υπάρχει και ένας "όρος πηγής". Τέλος τα φωτόνια θεωρούνται μονοενεργειακά, οι σκεδάσεις ελαστικές ενώ αγνοούνται φαινόμενα πόλωσης και φθορισμού.

Δεν υπάρχει γενική αναλυτική λύση για την εξίσωση μεταφοράς. Για το σκοπό αυτό έχουν αναπτυχθεί διάφορες προσεγγίσεις όπως η θεωρία διάχυσης καθώς και προσομοιώσεις Monte Carlo. Η επιλογή του μοντέλου είναι ισχυρά εξαρτώμενη από τις οπτικές ιδιότητες του ιστού, ιδιαίτερα από την albedo και το βαθμό ανισοτροπίας g . Γενικότερα θα μπορούσαμε να διακρίνουμε τρεις περιοχές: (α) περιοχή όπου κυριαρχεί η απορρόφηση, (β) περιοχή όπου κυριαρχεί η σκέδαση και (γ) περιοχή όπου και τα δύο φαινόμενα είναι συγκρίσιμα [24].

2.2.4 Περιοχή στην οποία κυριαρχεί η απορρόφηση

Η απορρόφηση του φωτός στο υπεριώδες οφείλεται στην παρουσία πρωτεϊνών και DNA, στο ορατό και στο εγγύς υπέρυθρο καθορίζεται από τη συγκέντρωση χρωμοφόρων όπως η αιμοσφαιρίνη και η μελανίνη, ενώ για μεγαλύτερα μήκη κύματος στο υπέρυθρο έντονη απορρόφηση παρουσιάζει το νερό.

Το μέγιστο απορρόφησης για τους αρωματικούς δακτυλίους των πρωτεϊνών εντοπίζεται στην περιοχή του υπεριώδους μεταξύ 260 και 280 nm. Η απορρόφηση της αιμοσφαιρίνης είναι ισχυρά εξαρτώμενη από το μήκος κύματος: αυξάνεται με έναν πολλαπλασιαστικό παράγοντα περίπου 5 από το ιώδες στο κίτρινο και ελαττώνεται κατά 10 και 100 φορές για μετάβαση από το κίτρινο στο κόκκινο ή στο εγγύς υπέρυθρο. Η απορρόφηση της μελανίνης παρουσιάζει μια συνεχή μείωση με το μήκος κύματος και ο αντίστοιχος συντελεστής ελαττώνεται κατά 5 περίπου φορές από το ιώδες προς το κοντινό υπέρυθρο. Στο νερό, η απορρόφηση αυξάνεται σημαντικά για μήκη κύματος μεγαλύτερα από 1.4 μm.

Για την επιλογή της περιοχής όπου η απορρόφηση υπερτερεί έναντι της σκέδασης εφαρμόζεται το κριτήριο $\mu_a > 10\mu_s(1-g)$, [25]. Έτσι για μήκη κύματος $\lambda < 250$ nm και $\lambda > 2000$ nm το φαινόμενο της απορρόφησης κυριαρχεί. Στην περίπτωση αυτή και για δέσμη φωτεινής ακτινοβολίας που προσπίπτει κάθετα στην επιφάνεια του ιστού, υπάρχει μικρή πλευρική διάχυση της ακτινοβολίας λόγω της μικρής συνεισφοράς της σκέδασης. Ο ρυθμός ενεργειακής ροής ελαττώνεται με το βάθος, z , ακολουθώντας σε αρκετά καλή προσέγγιση μια απλή εκθετική σχέση (Νόμος του Beer):

$$\psi(z) = \psi_0 \cdot e^{-\mu_a z}$$

Η ακτινοβολή διατηρεί την εμπρόσθια διεύθυνση κατά τη διάδοση της μέσα στον ιστό και με πολύ αργό ρυθμό γίνεται πιο ισότροπη λόγω σκέδασης. Επίσης, πιο σύνθετες γεωμετρίες ακτινοβολήσης και μοντελοποίησης ιστού μπορούν εύκολα να μελετηθούν στην περίπτωση που κυριαρχεί το φαινόμενο της απορρόφησης.

2.2.5 Περιοχή στην οποία κυριαρχεί η σκέδαση

Η σκέδαση κυριαρχεί της απορρόφησης ($\mu_s(1-g) > 10\mu_a$) για μήκη κύματος στην περιοχή του μακρινού ορατού και κοντινού υπέρυθρου (600-1200 nm). Η περιοχή αυτή χαρακτηρίζεται σαν "οπτικό παράθυρο" εύκολης διέλευσης της οπτικής ακτινοβολίας. Αυτό συμβαίνει γιατί στην περιοχή αυτή δεν υπάρχει έντονη απορρόφηση από τα βιολογικά μόρια των ιστών. Αν και ο

ολικός συντελεστής εξασθένησης είναι μεγάλος για την περιοχή αυτή, η μεγάλη τιμή της albedo σε συνδυασμό με την υψηλή τιμή του βαθμού ανισοτροπίας (εμπρόσθια σκέδαση) έχει ως αποτέλεσμα σημαντικό βάθος διείσδυσης στον ιστό.

Στην περίπτωση αυτή ο ρυθμός ενεργειακής ροής δεν παρουσιάζει μια απλή εκθετική εξάρτηση συναρτήσει του βάθους αλλά παρατηρείται αύξηση της ενεργειακής ροής στην περιοχή κοντά στην επιφάνεια του ιστού, λόγω του φαινομένου της οπισθοσκέδασης.

Η πυκνότητα ροής ακτινοβολίας $L(r,s)$ που εμφανίζεται στην εξίσωση μεταφοράς μπορεί να γραφεί ως το άθροισμα δύο επιμέρους όρων

$$L(r,s) = L_c(r,s) + L_d(r,s)$$

Ο πρώτος όρος, L_c , αντιπροσωπεύει τα φωτόνια που δεν έχουν αλληλεπιδράσει με τον ιστό και ακολουθεί την εκθετική μείωση που περιγράφει ο νόμος του Beer. Ο δεύτερος όρος αναφέρεται στα φωτόνια που έχουν σκεδαστεί τουλάχιστον μια φορά και μπορεί να αναπτυχθεί σε ένα άθροισμα άπειρων πολωνύμων Legendre. Στην προσέγγιση της θεωρίας διάχυσης διατηρούνται οι δύο πρώτοι όροι του αθροίσματος (ισότροπης σκέδασης και εμπρόσθιας σκέδασης). Με βάση την προσέγγιση αυτή, προκύπτει από την εξίσωση μεταφοράς, η εξίσωση διάχυσης:

$$(\nabla^2 - \kappa^2) \Psi(r) = -Q_0(r)$$

όπου $\Psi(r) = \int_{4\pi} L_d(r,s) d\omega$, η ολική διάχυτη (σκεδαζόμενη) ενεργειακή ροή.

Ο όρος πηγής στο δεύτερο μέλος προκύπτει από τη σκέδαση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας και δίνεται από τη σχέση:

$$Q_0(r) = -3\mu_s [\mu_a + \mu_s(1-g) + \mu_t g] \cdot (1-r_s) F_0(r) \exp(-\mu_t z)$$

Όπου $F_0(r)$ περιγράφει την προσπίπτουσα ακτινοβολία ενώ $\kappa = \sqrt{3\mu_a [\mu_a + \mu_s(1-g)]}$ είναι ο συντελεστής διάχυσης.

Η ακρίβεια της εξίσωσης διάχυσης εξαρτάται από το λόγο της σκέδασης προς την απορρόφηση, την ανισοτροπία στη σκέδαση (είναι βασική η υπόθεση ότι L_d είναι μόνο γραμμικά ανισότροπη) καθώς και από την απόσταση από πηγές φωτός και συνοριακές επιφάνειες.

Οι παραπάνω προϋποθέσεις καθώς και περιορισμοί που τίθενται ως προς την αντιμετώπιση σύνθετων γεωμετρικών ιστού και ακτινοβόλησης ελαττώνουν το πεδίο εφαρμογής της θεωρίας διάχυσης.

2.2.6 Περιοχή στην οποία και τα δύο φαινόμενα είναι συγκρίσιμα

Για μήκη κύματος που δεν εμπίπτουν στις περιοχές που αναφέρθηκαν παραπάνω τα φαινόμενα της απορρόφησης και της σκέδασης είναι ισότιμα. Σε αυτή την περίπτωση για την περιγραφή της διάδοσης του φωτός στον ιστό χρησιμοποιούνται είτε ευρεστικές μέθοδοι ή υπολογιστικές μοντελοποιήσεις όπως οι τεχνικές Monte Carlo [24]. Στο πρόβλημα της οπτικής μεταφοράς η μέθοδος Monte Carlo καταγράφει τη διαδρομή των φωτονίων καθώς αυτά σκεδάζονται ή απορροφώνται. Το βασικό πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι δεν απαιτεί επιπλέον υποθέσεις ενώ μπορεί να αντιμετωπίσει και σύνθετες μοντελοποιήσεις τόσο ως προς τη γεωμετρία του ιστού όσο και στον υπολογισμό της ενεργειακής ροής κοντά σε συνοριακές επιφάνειες και πηγές [26].

Όταν στον ιστό προσπίπτει ακτινοβολία, ένα μικρό ποσοστό συνήθως 5% της κάθετα προσπίπτουσας δέσμης ανακλάται από την επιφάνεια (Ανάκλαση Fresnel). Αυτό οφείλεται στους διαφορετικούς δείκτες διάθλασης του αέρα ($n_0=1$) και του ιστού ($n_0>1$). Το υπόλοιπο της δέσμης διαδίδεται μέσα στον ιστό, σκεδάζεται πολλαπλά και ένα μέρος απορροφάται.

Κεφάλαιο 3 - Κακοήθεις νεοπλασίες – Μελάνωμα

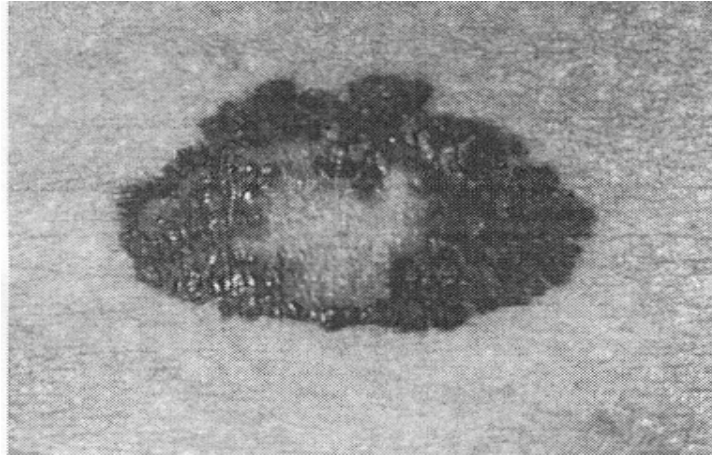
Το μελάνωμα είναι κακοήθης όγκος των μελανοκυττάρων. Αποτελεί το 1% - 3% όλων των κακοηθών όγκων και η συχνότητά του αυξάνεται σε όλο τον κόσμο κατά 4% - 7% ετησίως, ενώ η ετήσια αύξηση του πληθυσμού είναι 1.17%. Η θνησιμότητά του έχει διπλασιαστεί τα τελευταία 35 χρόνια. Η αύξηση αυτή αφορά μόνο το μελάνωμα του δέρματος και όχι το εξωδερματικό (σπλαχνικό) μελάνωμα.

3.1 Αιτιολογία – Παθογένεση

Αρκετοί παράγοντες έχουν ενοχοποιηθεί για την αιτιολογία και την παθογένεση. Οι σημαντικότεροι από αυτούς είναι η υπεριώδης ακτινοβολία και η γενετική προδιάθεση του ατόμου για την ανάπτυξη μελανώματος όπως αυτή εκφράζεται με την εμφάνιση μορφών σπύλων που έχουν αυξημένο ποσοστό μελανωματικής εξαλλαγής.

Υπάρχουν αρκετά στοιχεία που ενοχοποιούν την έκθεση στο ηλιακό φως για την ανάπτυξη μελανώματος ανάλογα με την ευαισθησία του κάθε ατόμου σ' αυτή. Για παράδειγμα, το φακοειδές μελάνωμα που αναπτύσσεται στο εκτεθειμένο δέρμα του προσώπου. Η δράση της ηλιακής ακτινοβολίας δεν είναι αθροιστική στο χρόνο, αλλά χρειάζονται βραχύχρονες έντονες εκθέσεις που συνοδεύονται από ηλιακά εγκαύματα. Στο λόγο αυτό οφείλεται και η αύξηση της συχνότητας εμφάνισης μελανώματος σε βόρειους λαούς που κάνουν διακοπές στις μεσογειακές ακτές ή που έχουν εγκατασταθεί σε χώρες με αυξημένη ηλιοφάνεια.

Είναι γνωστή από παλιά η οικογενής εμφάνιση μελανώματος. Το 5% - 10% των ασθενών με μελάνωμα έχουν οικογενειακό ιστορικό. Ο σχετικός κίνδυνος μελανώματος είναι 2.3 σε άτομα με συγγενή με μελάνωμα και 5.0 σε αυτούς με δύο συγγενείς. Τα άτομα με οικογενές μελάνωμα έχουν νεαρότερη ηλικία κατά την προσβολή και το μελάνωμα στην περίπτωση αυτή συχνά εμφανίζεται επί προϋπαρχόντων σπύλων (π.χ. δυσπλαστικοί σπίλοι) οπότε και οι πρωτοπαθείς όγκοι είναι πολλαπλοί.



Εικόνα 9 Μελάνωμα

Το μελάνωμα μπορεί να αναπτυχθεί de novo, σε έδαφος προϋπάρχοντος σπίλου ή σε έδαφος κακοήθους φακής. Όταν προϋπάρχει σπίλος το μελάνωμα αναπτύσσεται από το συνδεσμικό συντελεστή του μελανοχρωματικού σπίλου (συνδεσμικός και μεικτός σπίλος) με εξαίρεση τους γιγαντιαίους συγγενείς μελανοχρωματικούς σπίλους όπου αναπτύσσεται και από ενδοδερμικά στοιχεία .

Η σχέση μεταξύ σπύλων και μελανώματος είναι άγνωστη. Εφόσον οι σπίλοι είναι πολύ κοινό φαινόμενο και το μελάνωμα σπάνιο συμπεραίνουμε ότι οι σπίλοι σπάνια εξαλλάσσονται, παρά το ότι ένα ποσοστό της τάξης του 20% των μελανωμάτων αναπτύσσεται σε προϋπάρχοντες σπίλους. Οι σπίλοι της χοριοεπιδερμικής συμβολής και οι σύνθετοι είναι πιθανότερο να εξαλλάγουν επειδή υπάρχει ακόμα κυτταρική δραστηριότητα σε αντίθεση με τους χοριακούς (ενδοδερμικούς) που δεν εξαλλάσσονται ποτέ (ώριμοι σπίλοι).

Τα χαρακτηριστικά ενός σπίλου που τον καθιστούν ύποπτο για κακοήγη εξαλλαγή είναι:

- Μέγεθος: Αυξάνει
- Περίγραμμα: Γίνεται ακανόνιστο - οδοντωτό
- Χρώμα: Γίνεται περισσότερο σκούρο, αποκτά αποχρώσεις του καφέ, μαύρου ή ροζ
- Έπαρση: Παχύτερος και οζώδης
- Επιφάνεια: Χάνονται οι δερματικές γραμμές
- Περιβάλλον δέρμα: Εμφανίζει δορυφόρα οζίδια από διασπορά του όγκου
- Συμπτώματα: Αιμορραγία, κνησμός

Στην αγγλοσαξονική βιβλιογραφία τα προειδοποιητικά αυτά σημεία αναφέρονται ως ABCD (A=asymmetry, B=border irregularity, C=color variation, D=diameter enlargement) [27].

Το βάθος της διείσδυσης του (ή το πάχος του όγκου) αποτελεί το μοναδικό προγνωστικό παράγοντα. Η πεντάχρονη επιβίωση σε σχέση με το πάχος της βλάβης σε χιλιοστόμετρα είναι: <0,76 mm, 99%, 0,76 – 1,49 mm, 95%, 1,5 – 2,49 mm, 84%, 2,5 – 3,99 mm, 70% και >4 mm, 44%. Με προσβολή λεμφογαγγλίων η πεντάχρονη επιβίωση είναι 30% και με απομακρυσμένες μεταστάσεις είναι μικρότερη από 10%. Τα κύτταρα του μελανώματος μπορεί να έχουν λιγότερη ή περισσότερη ατυπία, πολλές ή λίγες πυρηνοκινήσεις, να περιέχουν επίσης πολλή, λίγη ή και καθόλου μελανίνη ορατή με το κοινό μικροσκόπιο.

3.2 Τρόπος ανάπτυξης μελανώματος-μορφολογία

Τα περισσότερα μελανώματα στο μεγαλύτερο ποσοστό τους αναπτύσσονται απευθείας από μελανοκύτταρα της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας και σε μικρότερο ποσοστό (30%) από προϋπάρχοντα σπίλο. Παρουσιάζουν τυπικώς δύο φάσεις ανάπτυξης οι οποίες είναι δυνατό σε μερικές περιπτώσεις να επικαλύπτονται αλλά συνήθως η δεύτερη ακολουθεί την πρώτη και είναι η φάση της οριζόντιας και η φάση της κάθετης επέκτασης. Οι σπίλοι που εξαλλάσσονται σε κακοήθες μελάνωμα παρουσιάζουν μια φάση δυσπλασίας (άτυπος σπίλος) και στη συνέχεια τα δύο παραπάνω στάδια ανάπτυξης.

Στη φάση της οριζόντιας ανάπτυξης τα μελανοκύτταρα εξαπλώνονται ακτινωτά μέσα στην επιδερμίδα (ξεκινώντας από το όριο επιδερμίδας – χορίου) καταλαμβάνοντας μεγαλύτερη έκταση. Η φάση αυτή είναι προ-διηθητική ή κατά Clark επίπεδο I (in situ).

Στη φάση της κάθετης ανάπτυξης η βλάβη είναι διηθητική και εισχωρεί προς το χόριο οπότε και μετατρέπεται σε αμιγές καλοήθες μελάνωμα. Ακολουθεί έντονη λεμφοκυτταρική διήθηση και πιθανόν και ανοσολογική αντίδραση των διηθούμενων ιστών.

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω η διαφορική διάγνωση ανάμεσα σε άτυπο σπίλο και σε ενδοεπιδερμικό καλοήθες μελάνωμα είναι πολύ δύσκολη και υποκειμενική.

Το καλοήθες μελάνωμα ιστογενετικώς διακρίνεται σε τέσσερις τύπους επί τη βάση ιστολογικών αλλά και κλινικών χαρακτηριστικών: Επιπολής εξαπλούμενο μελάνωμα (superficial spreading melanoma), Οζώδες μελάνωμα (Nodular malignant melanoma), Φακιδοειδές μελάνωμα (Lentigo malignant melanoma) και Μελάνωμα των άκρων (Acral lentiginous melanoma).



Εικόνα 10 Οζώδες μελάνωμα



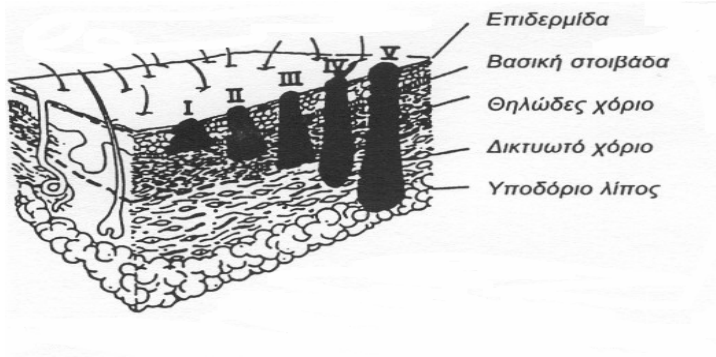
Εικόνα 11 Επιφανειακά εξαπλούμενο μελάνωμα

3.3 Πρόγνωση μελανώματος με βάση την ιστοπαθολογία της βλάβης

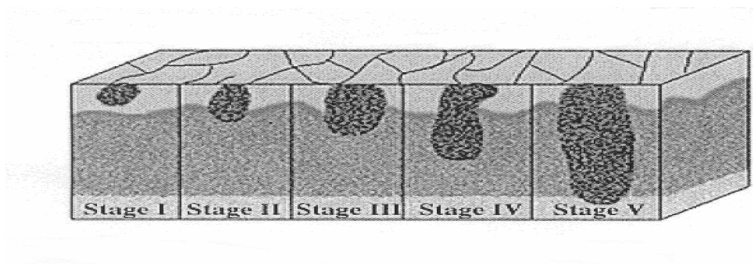
Η πρόγνωση του μελανώματος εκτιμάται με βάση: α) το ανατομικό επίπεδο διήθησης από τα άτυπα κύτταρα και β) το πάχος της βλάβης. Γεγονός είναι ότι επειδή η πρόγνωση εξαρτάται από την κατά βάθος διήθηση έχει προταθεί και τείνει να επικρατήσει η άποψη ότι η αναφορά στους τύπους είναι χωρίς πρακτική σημασία και πρέπει να διακρίνονται δύο τύποι: το ενδοεπιδερμικό μελάνωμα, με άριστη πρόγνωση, και το διηθητικό μελάνωμα.

α) Ανατομικό επίπεδο διήθησης (Επίπεδα κατά Clark)

- Επίπεδο 1: τα άτυπα κύτταρα βρίσκονται στην επιδερμίδα (melanoma in situ)
- Επίπεδο 2: διήθηση του θηλώδους χορίου, χωρίς όμως να πληρούται. Είναι η πλέον επιπολής διήθηση του μελανώματος
- Επίπεδο 3: πλήρωση του θηλώδους χορίου
- Επίπεδο 4: είσοδος στο δικτυωτό χόριο
- Επίπεδο 5: διείσδυση στο υποδερματικό λίπος

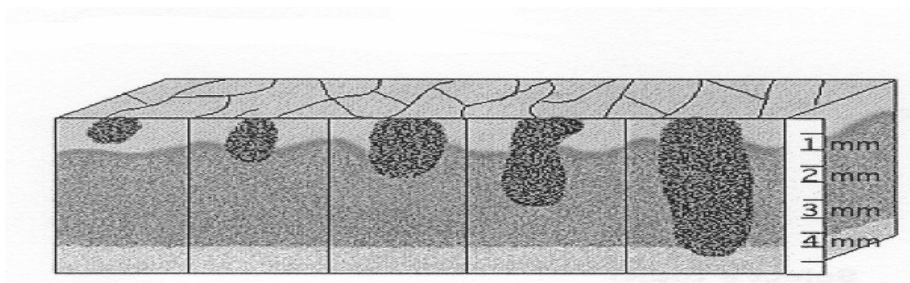


α)



β)

Εικόνα 12 α) και β). Η κατά Clark μικροσκοπική σταδιοποίηση του μελανώματος

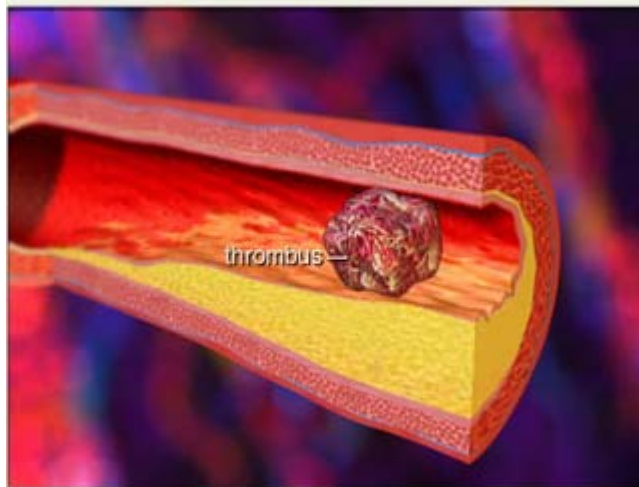


Εικόνα 13 Πάχος βλάβης (Breslow's thickness)

Το πάχος της βλάβης μετράται από την κοκκώδη στιβάδα ή σε περιπτώσεις εξέλκωσης από τον πυθμένα αυτής μέχρι το βαθύτερο καρκινικό κύτταρο. Το πάχος της βλάβης υπολογίζεται με τη βοήθεια ενός μικρομετρικού φακού σε χιλιοστά. Ασθενείς με βλάβες σχετικά λεπτές π.χ. 0,75 mm έχουν 5ετή επιβίωση που φθάνει το 100%. Βλάβες μεγαλύτερες από τα 3 mm έχουν κακή πρόγνωση. Η παράμετρος του πάχους της βλάβης έχει αποδειχθεί ότι είναι πιο ακριβής και σχετίζεται καλύτερα με την επιβίωση από ότι το επίπεδο της διήθησης.

Κεφάλαιο 4 – Θρόμβωση

Ο θρόμβος είναι το αποτέλεσμα της φυσικής διαδικασίας κατά την οποία κύτταρα αίματος και φιβρίνης διαμορφώνουν μια μάζα στο τραυματισμένο αγγείο αίματος. Ο θρόμβος δημιουργεί μια προστατευτική κρούστα γύρω από το τραυματισμένο αγγείο αίματος, επιτρέποντας με αυτόν τον τρόπο την θεραπεία του. Εάν το σώμα δεν είχε τη δυνατότητα δημιουργίας θρόμβων αίματος, οι άνθρωποι θα αιμορραγούσαν μέχρι θανάτου με ένα ασήμαντο κόψιμο.



Εικόνα 14 Θρόμβος

Μερικές φορές, εντούτοις, οι θρόμβοι αίματος δημιουργούνται ακόμα και όταν δεν έχει προηγηθεί τραυματισμός. Αν και οι περισσότεροι τείνουν να διαλυθούν από μόνοι τους, υπάρχουν καταστάσεις στις οποίες μπορούν να προκαλέσουν ιατρικά προβλήματα. Σε ένα μεγάλο αγγείο αίματος ο θρόμβος μειώνει τη ροή αίματος στο αγγείο, ενώ σε ένα μικρό αγγείο αίματος, η ροή αίματος μπορεί εντελώς να διακοπεί με συνέπεια το θάνατο του ιστού που παρέχεται στο αγγείο. Όταν ένας θρόμβος αίματος εμποδίζει τη ροή αίματος σε μια αρτηρία στην καρδιά ή στον εγκέφαλο, μπορεί να προκληθεί έμφραγμα ή εγκεφαλικό. Γενικά θεωρείται απειλητικός για τη ζωή εάν δημιουργείται σε μια από τις ακόλουθες αρτηρίες:

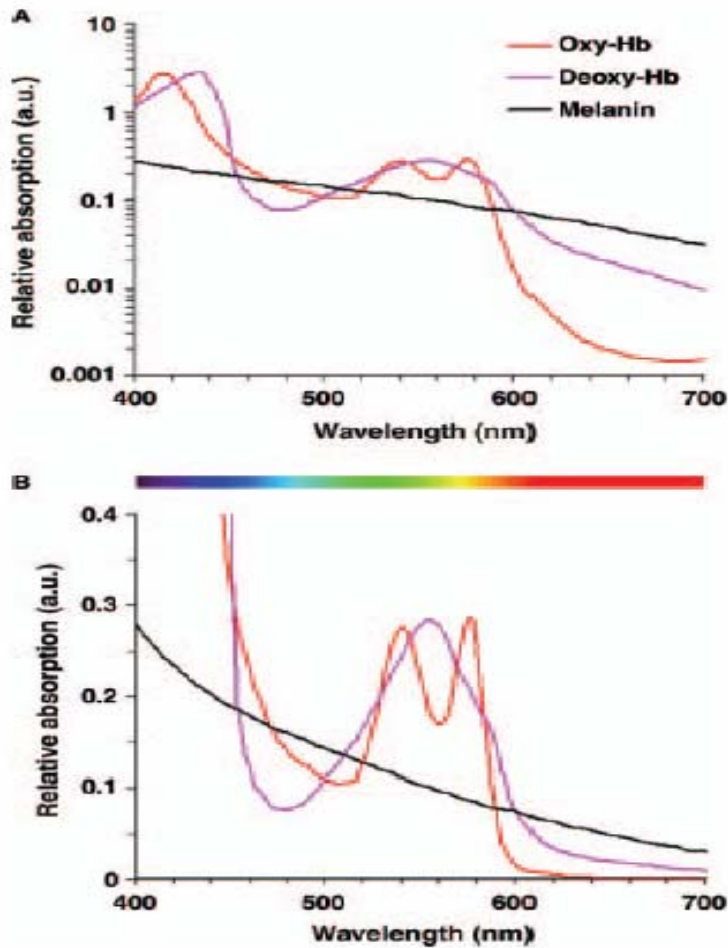
- στην πνευμονική αρτηρία, η οποία ταξιδεύει από την καρδιά στους πνεύμονες. Η παρεμπόδιση σε αυτήν την αρτηρία καλείται πνευμονικός εμβολισμός.
- στις στεφανιαίες αρτηρίες, οι οποίες βρίσκονται στην επιφάνεια της καρδιάς.

- στις καρωτιδικές αρτηρίες, οι οποίες βρίσκονται στο λαιμό και παρέχουν στον εγκέφαλο αίμα πλούσιο σε οξυγόνο.
- στη μηριαία αρτηρία. Η παρεμπόδιση προκαλεί πόνο, έλλειψη χρώματος σε εκείνη την περιοχή, αδυναμία και, εάν εξελιχθεί, θάνατο του ιστού (νέκρωση) και gangrene.

Κεφάλαιο 5 - Χρωμοφόρες

Όταν μια δέσμη φωτός πέφτει πάνω στο δέρμα, ένα μικρό ποσοστό (4-6%) της προσπίπτουσας ακτινοβολίας ανακλάται λόγω του διαφορετικού δείκτη διάθλασης μεταξύ του αέρα και της επιφάνειας του δέρματος. Το μεγαλύτερο ποσοστό της ακτινοβολίας εισέρχεται στα πρώτα στρώματα του δέρματος και ακολουθεί μια τυχαία τροχιά μέχρι να εξέλθει του δέρματος ή να εξασθενήσει λόγω της παρουσίας χρωμοφώρων. Τα κύρια χρωμοφόρα του δέρματος που απορροφούν την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία είναι η μελανίνη, η οξυγονωμένη και η μη οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη. Η οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη παρουσιάζει ένα χαρακτηριστικό μέγιστο στην απορρόφηση της στα 412nm (γνωστό σαν Soret Band) και τοπικά μέγιστα στα 542 και 577 nm (γνωστά σαν alpha-beta ή q-bands). Ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης της οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης μειώνεται σε περιοχές του φάσματος μεγαλύτερες από 600 nm, κάτι το οποίο ερμηνεύει και το κόκκινο χρώμα που εμφανίζεται στα ερυθρήματα.

Η μη οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη παρουσιάζει μέγιστο στα 430nm και τοπικό μέγιστο στα 555 nm και χαμηλές τιμές, αν και μεγαλύτερες από την οξυγονωμένη στην «κόκκινη» περιοχή. Αυτό ερμηνεύει και το «μαύρισμα» που παρατηρείται όταν αυξάνεται η συγκέντρωση της μη οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης, σε περιπτώσεις αιμόστασης. Τα τοπικά μέγιστα που παρουσιάζει η αιμοσφαιρίνη μας δίνουν, θεωρητικά, τη δυνατότητα ποσοτικού προσδιορισμού της στην περιοχή 540-580nm. Αντίθετα η μελανίνη δεν παρουσιάζει κάποιο χαρακτηριστικό μέγιστο στο φάσμα της, αλλά παρουσιάζει μια γνησίως μονότονη αύξηση σε μικρά μήκη κύματος. Αν και η μελανίνη παρουσιάζει χαμηλή απορρόφηση στην κόκκινη περιοχή του φάσματος, όπως και η οξυγονωμένη και μη αιμοσφαιρίνη, η απορρόφησή της επικρατεί στη συγκεκριμένη φασματική περιοχή. Έτσι η περιοχή αυτή προσφέρεται για ποσοτική εκτίμηση των χρωμοφώρων. [1] Τα φάσματα απορρόφησης των χρωμοφώρων αναπαρίστανται παρακάτω. (σχήμα1)



Γραφική 1

Παραπάνω φαίνεται το φάσμα απορρόφησης για τις τρεις χρωμοφόρες, οξυγωμένη αιμοσφαιρίνη, μη-οξυγωμένη αιμοσφαιρίνη και μελανίνη:

Η γραφική (A) είναι σχεδιασμένη σε λογαριθμική κλίμακα για να φανεί ότι η απορρόφηση της αιμοσφαιρίνης μειώνεται κατά τρεις τάξεις μεγέθους μέχρι να φτάσει σε μήκη κύματος μεγαλύτερα από τα 600 nm, ενώ η απορρόφηση της μελανίνης μειώνεται μόνο κατά μία τάξη μεγέθους.

Η γραφική (B) είναι σχεδιασμένη σε γραμμική κλίμακα για να αναπαρασταθούν οι σχετικές συνεισφορές των χρωμοφόρων στο χρώμα του δέρματος στο ορατό φάσμα. Η color-bar δείχνει την αντιστοιχία των χρωμάτων στα διάφορα μήκη κύματος.

Κεφάλαιο 6 - Αλγόριθμοι Ποσοτικού Προσδιορισμού Χρωμοφόρων

Ο δραματικός ρυθμός αύξησης των ασθενών που πάσχουν από δερματικό μελάνωμα (cutaneous melanoma (CM)) έστρεψε το ενδιαφέρον πολλών επιστημονικών ομάδων στην προσπάθεια αναγνώρισης τέτοιων δερματικών αλλοιώσεων σε αρχικό στάδιο. Μελάνωμα είναι ένας κακοήθης όγκος από κύτταρα που περιέχουν μελανίνη (melanocytes). Υπάρχουν όπως ήδη αναφέραμε 4 κύρια είδη μελανωμάτων: superficial spreading melanoma, lentigo melanoma, nodular melanoma, acral lentiginous melanoma. Τα είδη αυτά διαχωρίζονται με βάση την σύσταση, την δομή και τον βαθμό εισχώρησης.

Τα στάδια που προσδιορίζουν την μελανοκυτταρική εξέλιξη είναι:

melanocytes of atypical (dysplastic) nevus → melanoma in situ → primary melanoma in the radial growth phase (RGP melanoma) → primary melanoma in the vertical growth phase (VGP melanoma) → melanoma in the metastatic growth phase (MGP melanoma).

Η επιτυχής θεραπεία από τέτοιους κακοήθεις όγκους εξαρτάται αποκλειστικά από την γρήγορη διάγνωση, από την στιγμή που είναι γνωστό ότι οι μοναδικές πιθανότητες επιβίωσης για τους έχοντες τέτοιους όγκους ασθενείς, είναι η ολοκληρωτική χειρουργική αφαίρεση της αλλοίωσης [19].

Ένα από τα πιο ενδιαφέροντα προβλήματα της δερματολογίας είναι η διάγνωση του malignant μελανώματος σε σχέση με την καλοήγη χρωματική αλλοίωση του δέρματος. Το μελάνωμα εκδηλώνεται με μαύρο / καφέ χρώμα και στο αρχικό στάδιο ανάπτυξής του παρουσιάζει τα ίδια χαρακτηριστικά με τις απλές ελιές και τις φακίδες, κάτι το οποίο δυσχεραίνει ακόμη περισσότερο τη διάγνωση στο αρχικό στάδιο.

Αρχικά έγινε εισαγωγή κάποιων βασικών κλινικών χαρακτηριστικών γνωστών ως ABCD (asymmetry, border, colour, dimension) νόμων, που βοηθούν στην αναγνώριση ενός κακοήθους ή όχι όγκου. Η συγκεκριμένη μέθοδος διάκρισης στηρίχτηκε στην οπτική ανίχνευση των μακροσκοπικών χαρακτηριστικών της υπό εξέταση περιοχής και με σημαντικές βελτιώσεις ως προς την διαγνωστική ακρίβεια, χρησιμοποιήθηκε ευρέως και αργότερα επεκτάθηκε προσθέτοντας τον όρο E (evolution), ο οποίος περιγράφει την δυναμική εξέλιξη του μελανώματος [30]. Εντούτοις η εκτίμηση μιας μελαγχρωματικής αλλοίωσης από ομάδες

επιστημόνων διαφορετικών ειδικοτήτων πήρε μεγάλες διαστάσεις και έγινε αντικείμενο έρευνας τα αμέσως επόμενα χρόνια.

Cascinelli et al, [20] εισήγαγαν ένα σύστημα το οποίο χρησιμοποιούσε 8 διαφορετικούς «δείκτες» (σχήμα, κλινικά δεδομένα, μέγεθος, χρώμα, σκοτεινότητα, κορεσμός, υφή και οριακές συνθήκες) προσπαθώντας έτσι να γίνει διάκριση κακοηθών μελανωμάτων από απλές αλλοιώσεις, χωρίς όμως μεγάλη επιτυχία λόγω του μεγάλου αριθμού παραμέτρων που απαιτούνταν.

Η απόδοση των κλινικών χαρακτηριστικών θεωρείται μη ικανοποιητική μιας και έχει 50% επιτυχία σε σχέση με την κλασική μέθοδο της βιοψίας. Μέχρι τώρα η βιοψία θεωρείται η πιο επιτυχής μέθοδος για τη διάγνωση του αν ένας σπίλος είναι κακοήθης ή όχι. Σε περίπτωση όμως που ένα άτομο έχει στο σώμα του πολλές ελιές είναι αδύνατο να γίνει βιοψία σε κάθε 'ύποπτη' ελιά. Έτσι λοιπόν, πολλοί ερευνητές επικέντρωσαν την προσπάθειά τους στην εύρεση διαγνωστικών συστημάτων ικανών να συμβάλλουν στην έγκαιρη διάγνωση του μελανώματος.

6.1 Dawson

Ο Dawson[3] [4] για τον προσδιορισμό της μελανίνης βασίστηκε στη διαφορετική απορρόφηση που παρουσιάζει από τα 650 nm έως τα 700 nm. Χρησιμοποίησε αυτή τη φασματική περιοχή διότι η συνεισφορά της αιμοσφαιρίνης στο φάσμα απορρόφησης είναι μικρή για μήκη κύματος μεγαλύτερα από 620nm. Βάση για την ποσοτικοποίηση των παραμέτρων αποτέλεσε η παράμετρος LIR η οποία προσδιορίζεται:

$$LIR = \log_{10} 1/R = \log (I_0 / I)$$

όπου I_0 είναι ένταση της ακτινοβολίας που ανακλάται από την λευκή επιφάνεια και I η ένταση της ακτινοβολίας που ανακλάται από την υπό εξέταση επιφάνεια.

Θεώρησε ότι η "κλίση" του φάσματος ανάκλασης της μελανίνης είναι ανάλογη ως προς την συγκέντρωση της μελανίνης. Η κλίση ισούται με τη διαφορά των μέσων τιμών των LIR (Logarithm of the Inverse Reflectance) στα 645,650,655 και στα 695,700,705 nm. Το melanin index υπολογίζεται από την παρακάτω σχέση:

$$M_{Daw} = (L_{645,650,655} - L_{695,700,705} + a)100$$

όπου $a=0.015$ για την αποφυγή αρνητικών τιμών.

Η μέτρηση του erythema index E_{Daw} στηρίχτηκε στην θεώρηση ότι είναι μια παράμετρος ανάλογη της περιοχής κάτω από την καμπύλη απορρόφησης της αιμοσφαιρίνης, όπου μια 'τεχνητή βάση' δημιουργείται ενώνοντας τα σημεία του φάσματος που αντιστοιχούν στη φασματική παροχή από τα 510nm έως τα 610 nm.

$$E_{Daw} = 100[L_{560} + 1.5(L_{540} + L_{575}) - 2(L_{510} + L_{610})]$$

Επειδή παρατηρήθηκαν σφάλματα λόγω του διαφορετικού χρώματος δέρματος των ατόμων διαφορετικής εθνικότητας που πήραν μέρος στις μετρήσεις και της παράλειψης ότι η παροχή αίματος στο pigmented skin είναι λιγότερη από ότι στο non-pigmented skin ο Dawson διόρθωσε το erythema index:

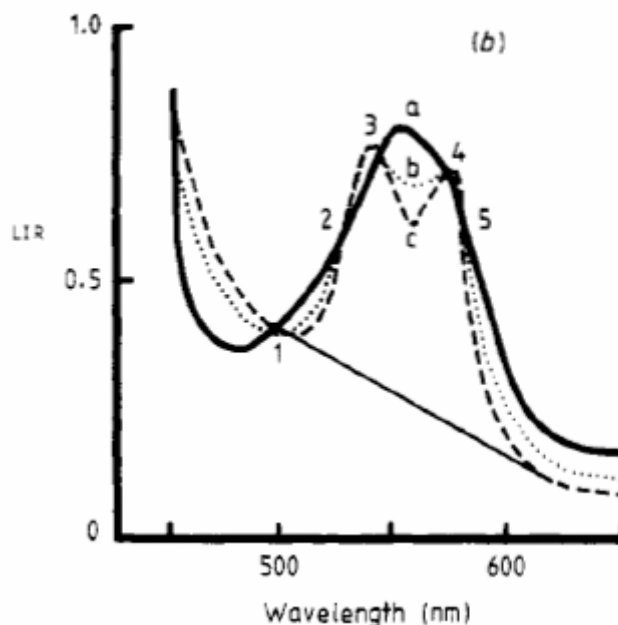
$$E_c = E_{Daw}(1 + \gamma M_{Daw})$$

όπου $\gamma=0.04$.

6.2 Feather

Παρατηρήθηκε πως για έναν αξιόπιστο υπολογισμό της αιμοσφαιρίνης, που περιέχεται στην υπο εξέταση περιοχή, δεν αρκεί το φάσμα απορρόφησης της μιας και επιδρούν και άλλοι παράγοντες που είναι άγνωστοι, όπως η φύση και το βάθος διείσδυσης της ακτινοβολίας καθώς και ο βαθμός οξυγονώσης της αιμοσφαιρίνης.

Ο Feather χρησιμοποίησε μια εναλλακτική μέθοδο, η οποία στηρίζεται στον υπολογισμό των isobestic points του φάσματος απορρόφησης. Τα isobestic points αντιστοιχούν στα μήκη κύματος εκείνα όπου τα φάσματα απορρόφησης της οξυγονωμένης και μη αιμοσφαιρίνης τέμνονται. Στη φασματική περιοχή 500-600 nm υπάρχουν πέντε isobestic points στα 500, 527.5, 544, 573 και στα 582.5 nm όπως φαίνονται στο παρακάτω σχήμα:



Γραφική 2: (a) De-oxygenated, (b) 60% oxygenated, (c) fully oxygenated. Isobestic points: (1) 500 nm, (2) 527.5 nm, (3) 544 nm, (4) 573 nm, (5) 582.5 nm.

Θεωρήθηκε πως εάν τα αποτελέσματα της σκέδασης του φωτός επηρεάζουν τις LIR (logarithm inverse reflectance) τιμές των isobestic points του φάσματος το ίδιο, τότε η διαφορά των LIR τιμών μεταξύ δύο isobestic points θα είναι οπτικά ανάλογη της ποσότητας της αιμοσφαιρίνης που υπάρχει στην υπό εξέταση περιοχή και ανεξάρτητη της κατάστασης οξυγόνωσης. Έτσι, το haemoglobin index μπορεί να προσδιοριστεί χρησιμοποιώντας τη διαφορά μεταξύ των isobestic points.

Τα μήκη κύματος που επιλέχθηκαν για τον υπολογισμό του H (haemoglobin index) είναι 527.5, 544 και 573 και όχι το 582.5, μιας και, όπως φαίνεται παραπάνω, στη περιοχή αυτή παρατηρείται μεγάλη αλλαγή στο LIR και αυτό θα εισήγαγε μεγάλη αστάθεια στον δείκτη. Ο δείκτης αιμοσφαιρίνης, που είναι ανάλογος της συνολικής ποσότητας Hb και ανεξάρτητος του βαθμού οξυγόνωσης, φαίνεται παρακάτω:

$$IHb = [(L_{544} - L_{527.5})/16.5 - (L_{573} - L_{544})/29] \times 100 \text{ (absorbance nm}^{-1}\text{)}$$

Παρατηρώντας το παραπάνω σχήμα απορρόφησης της αιμοσφαιρίνης διαπιστώνουμε πως όσο μεταβάλλεται ο βαθμός οξυγόνωσης της HB τόσο μεταβάλλεται και το σχήμα της καμπύλης. Με

την αύξηση του βαθμού oxygenation το single peak της de-oxygenated αιμοσφαιρίνης μετατρέπεται σε double peak στην oxygenated. Οι κλίσεις των καμπύλων μεταξύ των 544-558.5 και 558-573 nm είναι ανάλογες της ποσότητας αιμοσφαιρίνης και του βαθμού οξυγόνωσης και προκειμένου ο oxygenation index να είναι ανεξάρτητος της συγκέντρωσης της Hb διαιρείται κάθε κλίση με το haemoglobin index.

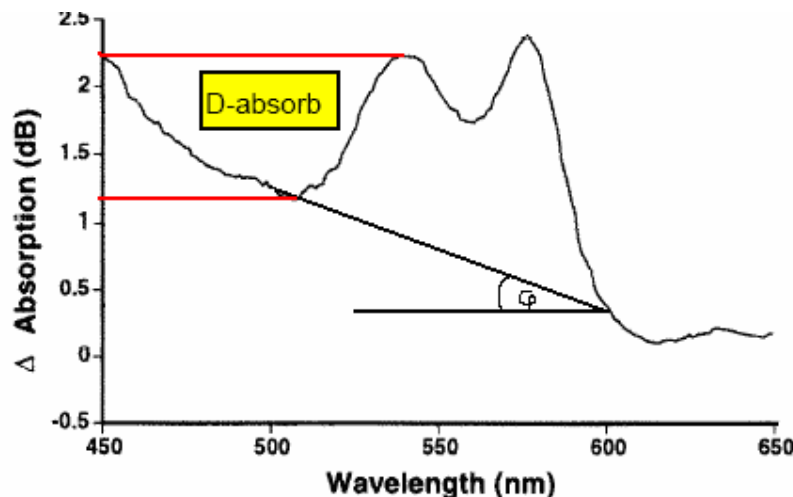
Ο oxygenation index φαίνεται παρακάτω:

$$\text{IOX} = [(L_{573} - L_{558.5}) - (L_{558.5} - L_{544})] \times 100 / (14.5 \times \text{IHB})$$

Το IOX παίρνει θετικές τιμές για oxygenated αιμοσφαιρίνη ενώ αρνητικές για de-oxygenated αιμοσφαιρίνη.

6.3 Ferguson-Pell

Οι Ferguson-Pell [6] [4] από την κλίση της γραμμής ελάττωσης του bloodless φάσματος απορρόφησης προσδιόρισαν το melanin index (IMEL) από τα 500-600 nm. Από κάθε καμπύλη φάσματος αφαιρείται η κλίση του bloodless φάσματος και η απόκριση μειώνεται κατά ένα παράγοντα ο οποίος είναι συνάρτηση του (IMEL). Το IMEL είναι καθορισμένο στην υπόθεση ότι τα ελαφρώς και τα έντονα pigmented subjects έχουν παρόμοιο περιεχόμενο όσον αφορά το αίμα.



Γραφική 3: Attenuation of amplitude of the subtracted absorption spectrum in pigmented skin.

Από την πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε κατέληξαν ότι το IMEL μπορεί να εκφραστεί συναρτήσει της φασματικής διαφοράς μέσω της παρακάτω σχέσης:

$$\ln Y = a_0 + a_1 \exp(-x)$$

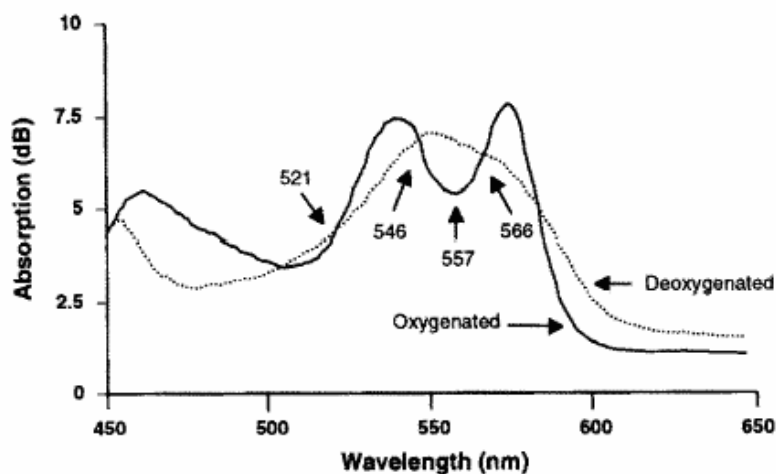
όπου Y η Δ absorption μεταξύ της πρώτης κορυφής και της βάσης, $a_0=1.7$ με διακύμανση ± 0.3 , $a_1=-0.9$ με διακύμανση ± 0.2 και x το IMEL.

Οι Ferguson–Pell ποσοτικοποίησαν το erythema από το ποσό της αιμοσφαιρίνης στην επιφάνεια της επιδερμίδας (IHB). Το index της αιμοσφαιρίνης στηρίχτηκε στα isobestic points της Hb ή στα μήκη κύματος όπου η απορρόφηση της αιμοσφαιρίνης δεν επηρεάζεται από το επίπεδο οξυγονώσής της (oxy-Hb absorption= deoxy- Hb στα ίδια μήκη κύματος).

$$\begin{aligned} \text{IHB} &= [(A_{545}-A_{522})/23-(A_{568}-A_{545})/23] \times (100/2) \\ \text{IOX} &= [(A_{568}-A_{557})/(11 \times \text{IHB}) - (A_{557}-A_{545}) / \\ &\quad (12 \times \text{IHB})] \times (100/2) \end{aligned}$$

όπου A_{xxx} η απορρόφηση που αντιστοιχεί στο xxx μήκος κύματος.

Χρησιμοποιώντας, έτσι τις παραπάνω σχέσεις, υπολογίστηκαν οι τιμές των IHB και IOX ανεξάρτητα από τα διαφορετικά επίπεδα οξυγόνωσης και τη συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης αντίστοιχα.



Γραφική 4: Isobestic and minimum points for determination of blood content and blood oxygenation.

6.4 Hajizadeh-Saffar

Ο Hajizadeh-Saffar [7] στηρίχτηκε στη δουλειά του Feather [5] με τη διαφορά ότι αφαίρεσε από το οπισθο-σκεδαζόμενο φάσμα το ποσοστό που δεν περιείχε πληροφορίες σχετικά με τις χρωμοφόρες. Ένα ποσοστό ακτινοβολίας σκεδάζεται στα επιφανειακά στρώματα της επιδερμίδας και δεν καταφέρνει να εισχωρήσει στα στρώματα που περιέχουν την μελανίνη και την αιμοσφαιρίνη με αποτέλεσμα να μην περιέχει χρήσιμες πληροφορίες και, ενδεχομένως, να προκαλεί λάθος στον ποσοτικό προσδιορισμό των χρωμοφώρων. Έτσι:

$$LIR_c = -\log_{10} (10^{-LIR_0} - 0.025)$$

Ο προσδιορισμός της μελανίνης στηρίχτηκε στην κλίση της καμπύλης απορρόφησης από τα 650-700 nm.

$$M_{675} = \{(L_{700} - L_{650})/50 + (0.060[1 - SaO_2/100] + 0.010)H/80\} \times 100$$

όπου L_n : διορθωμένη απορρόφηση σε μήκος κύματος n , SaO_2 : index οξυγόνωσης αίματος και H : hemoglobin index.

$$H = [(L_{544} - L_{527.5})/16.5 - (L_{573} - L_{544})/29]100$$

$$Sa O_2 = [(L_{573} - L_{558.5})/14.5 - (L_{558.5} - L_{544})/14.5] \frac{5.1 \times 10^3}{H} + 42$$

Το melanin index μπορεί να εκφραστεί σε σχέση με τη συγκέντρωση της συνθετικής μελανίνης που απαιτείται για να έχουμε την ίδια απόκριση εκτός σώματος:

$$Melanin = (0.054 - M_{675})120.1 \mu g cm^{-2}.$$

Το `πραγματικό` IHB είναι ίσο με το διορθωμένο IHB συν το IMEL (ug/cm^2):

$$H_T = H_C + 4.7 \times 10^{-4} M$$

Το περιεχόμενο της αιμοσφαιρίνης στο δέρμα προκύπτει από την παρακάτω σχέση με αντικατάσταση του H από το H_T .

$$\text{Haemoglobin content} = H \times 3.8 \times 10^{-4} \text{ g cm}^{-2} \text{ or } H \times 2.3 \times 10^{-8} \text{ mol cm}^{-2}$$

6.5 Diffey

Ο Diffey στηρίχτηκε στην παρατήρηση ότι η αιμοσφαιρίνη παρουσιάζει έντονη απορρόφηση στο πράσινο τμήμα του ορατού φάσματος (520-580 nm), ενώ όσο μεγαλώνει το μήκος κύματος η απορρόφηση μειώνεται με αποτέλεσμα στο κόκκινο τμήμα του φάσματος (660-690nm) να είναι ελάχιστη. Έτσι, η διαφορά αυτή θα προσδιορίσει το erythema index αφαιρώντας το λογάριθμο της inverse reflectance της πράσινης περιοχής από αυτόν της κόκκινης περιοχής.

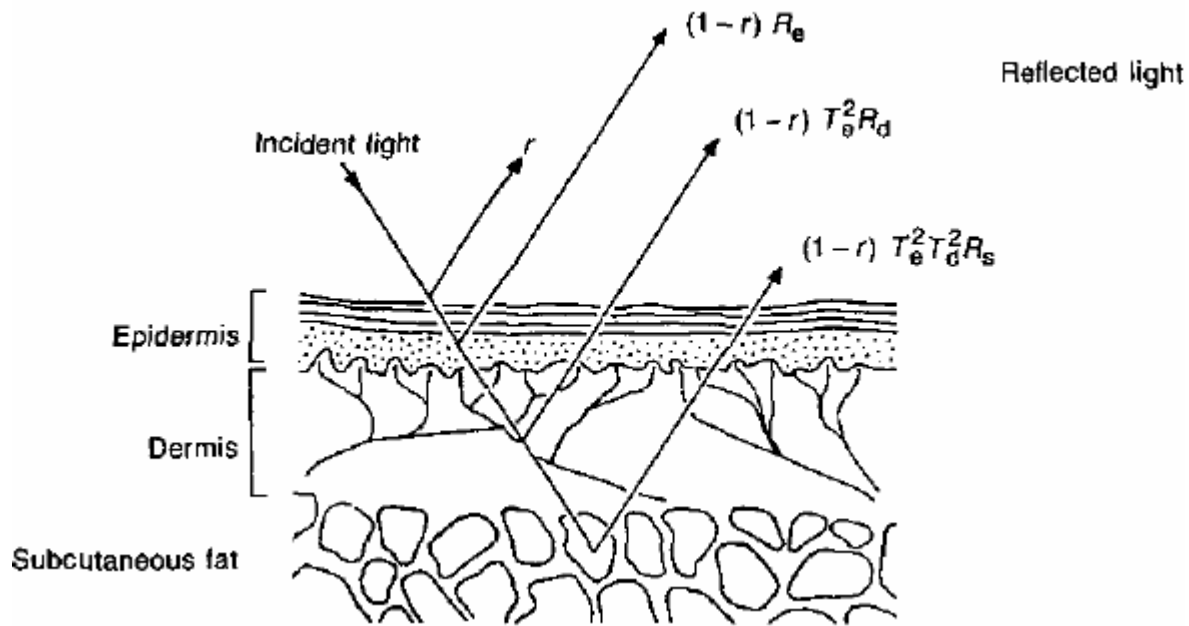
Με τον τρόπο αυτό ελαχιστοποιείται η επιρροή της επιδερμικής μελανίνης καθώς και η ανάκλαση από τα στρώματα του ιστού του δέρματος κάτω από επιφανειακό πλέγμα.

$$\begin{aligned} \text{Erythema index} &= \log_{10} (1/\text{REF} (635\text{nm})) - \log_{10} (1/\text{REF} (565\text{nm})) \\ &= \log_{10} (\text{REF} (635\text{nm})/\text{REF} (565\text{nm})) \end{aligned}$$

όπου $\text{REF}(x)$ = ανάκλαση στο μήκος κύματος x .

Θεωρώντας ότι [22] το δέρμα αποτελείται από τέσσερα στρώματα υπολόγισε την ολική ανάκλαση για ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος:

$$R = T_1^2 T_2^2 T_3^2 R_D$$



Εικόνα 15

όπου T_n ($n=1, 2, 3$) η μετάδοση του 1^{ου}-3^{ου} στρώματος αντίστοιχα και RD η διάχυτη ανάκλαση του 4^{ου} στρώματος. Παίρνοντας το λογάριθμο της παραπάνω σχέσης:

$$\log(1/R) = 2\log(1/T_1) + 2\log(1/T_2) + 2\log(1/T_3) + \log(1/RD)$$

όπου ο λογάριθμος της αντίστροφης ανάκλασης αντιστοιχεί στην απορρόφηση. Έτσι ο $\log(1/R)$ μπορεί να θεωρηθεί ανάλογος ως προς τις συγκεντρώσεις των χρωμοφόρων και να γραφτεί:

$$\log(1/R) = mC_2 + hC_3 + D$$

όπου C_2 η συγκέντρωση της μελανίνης στο layer 2, C_3 η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης στο layer 3, m , h σταθερές, που σχετίζονται με την πυκνότητα του layer και τον συντελεστή απόσβεσης των χρωμοφόρων αντίστοιχα, και $D \approx \log(1/RD)$.

Από την παραπάνω εξίσωση αποδεικνύεται ότι η inverse reflectance του δέρματος μπορεί να είναι γραμμικός συνδυασμός των χρωμοφόρων, εφόσον αυτές παρουσιάζουν υψηλές συγκεντρώσεις.

6.6 Kollias- Baqer

Οι Kollias και Baqer [9] [10] έδειξαν ότι η συγκέντρωση της μελανίνης θα μπορούσε να εκτιμηθεί in vivo από την κλίση του φάσματος απορρόφησης στην περιοχή από 620-720 nm.

$$[\text{Melanin}] \propto \text{slope (620-720nm)}$$

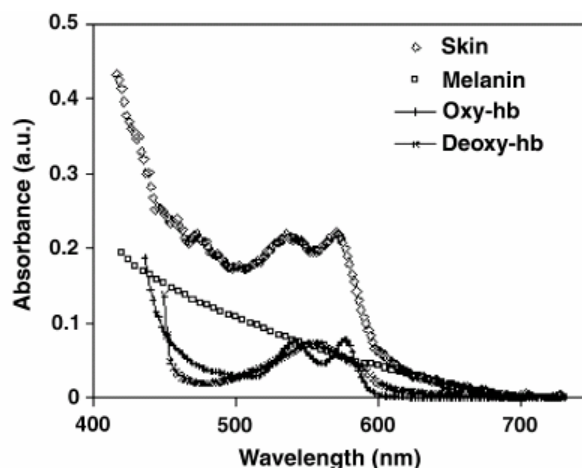
$$A_m(\lambda) = \text{slope (620-720nm)} \times \lambda + \text{intercept (620-720nm)}$$

Η συγκέντρωση της οξυγονωμένης και της μη οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης θα μπορούσε να εκτιμηθεί σε περιοχή μηκών κύματος 560-580nm όπου η απορρόφηση της αιμοσφαιρίνης είναι πιο ξεκάθαρη.

$$A_{\text{corr}}(\lambda) = A(\lambda) - A_m(\lambda)$$

Ο παραπάνω αλγόριθμος θεωρεί ότι η απορρόφηση της μελανίνης είναι σχεδόν γραμμική σε περιοχή μηκών κύματος 560-720 nm. Επιπρόσθετα, θεωρεί ότι η μελανίνη είναι ο κύριος απορροφητής στην περιοχή όπου $\lambda > 620$ nm.

Στο σχήμα 2 αναπαρίσταται το φάσμα απορρόφησης του δέρματος και την ανάλυση της συνεισφοράς που έχουν σε αυτό, η μελανίνη, η οξυγονωμένη και η μη οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη.

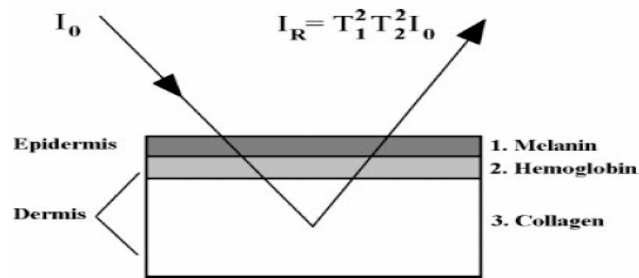


Γραφική 5 :Τυπικό φάσμα απορρόφησης δέρματος

6.7 Dolotov

Πολλοί ερευνητές προσπάθησαν να αναλύσουν το φάσμα ανάκλασης του δέρματος θεωρώντας ότι το δέρμα αποτελείται από 3 ή περισσότερα επίπεδα όπου το καθένα από αυτά απορροφά και σκεδάζει το φως.

Ο Dolotov et al [11] θεώρησαν ότι στο πρώτο επίπεδο το μεγαλύτερο μέρος του φωτός απορροφάται έντονα από την μελανίνη και το υπόλοιπο περνάει στο δεύτερο και στο τρίτο επίπεδο όπου υπάρχουν η αιμοσφαιρίνη και το κολλαγόνο αντίστοιχα. (σχήμα 3)



Εικόνα 16

Έτσι το φως ανακλάται από το δέρμα αφού διασχίσει δύο φορές τα επίπεδα όπου κυριαρχούν η μελανίνη και η αιμοσφαιρίνη. Για οπτικά μέσα όπως το δέρμα η οπτική πυκνότητα του μέσου από την ανάκλαση διάχυσης είναι:

$$OD_{\lambda} = \frac{A_{\lambda}}{l} = -\frac{1}{l} \log_{10} T = \frac{1}{l} \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

όπου I_0 είναι ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας, I η ένταση της ανακλώμενης και l η απόσταση που διανύει το φως μέσα στο μέσο.

Η συνολική οπτική πυκνότητα του δέρματος δίδεται από την σχέση:

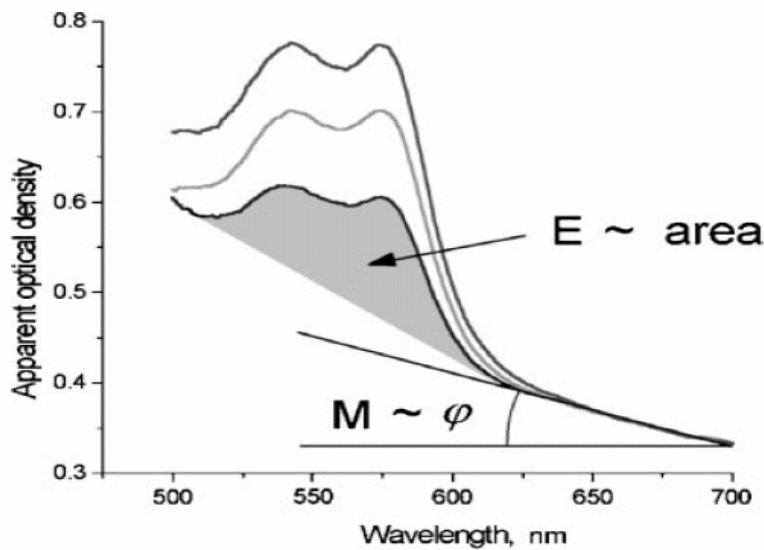
$$OD = OD_1^{\text{mel}} + OD_2^{\text{blood}} - \lg (R_{d,3}^{\text{coll}}),$$

Με βάση το φάσμα της απορρόφησης της μελανίνης προσδιορίστηκε ένας δείκτης συγκέντρωσης της μελανίνης σε συγκεκριμένη φασματική περιοχή (σχήμα 4), από την κλίση της $OD(\lambda)$ στην περιοχή από 650-700 nm .

$$M = 100 \left(\overline{OD}_{650} - \overline{OD}_{700} \right),$$

όπου \overline{OD}_{650} η μέση τιμή της OD στην περιοχή κοντά στα 650 nm.

Οι αλλαγές στην συγκέντρωση στις αιμοσφαιρίνης στο δέρμα οφείλονται στις αλλαγές που εμφανίζονται στο φάσμα απορρόφησης στην περιοχή 535-585nm (η οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη έχει διπλό μέγιστο στα 545 και 575 nm ενώ η οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη έχει ένα μέγιστο στα 560nm).



Γραφική 6

Ο Dolotov όρισε ένα δείκτη (Erythema index) που σχετίζεται με την συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης στο δέρμα και που δίδεται από μια περιοχή, μεταξύ της καμπύλης OD(λ) και της ευθείας που προκύπτει αν ενωθούν τα σημεία που αντιστοιχούν στα 510 και 610nm.

$$E = 100[OD_{560} + 1.5(OD_{545} + OD_{575}) - 2.0(OD_{510} + OD_{610})]$$

Με βάση το σχήμα 4, παρατηρείται ότι οι τιμές των συντελεστών ανάκλασης στα 650 και 710 nm παρουσιάζουν πολύ μικρή διακύμανση και εξαρτώνται από την πειραματική διαδικασία με αποτέλεσμα να απαιτείται κάθε φορά η χρήση ενός calibration factor. Επιπλέον, συμπεριλαμβάνοντας την εξάρτηση μεταξύ του erythema index και της απορρόφησης που προκαλείται λόγω της ύπαρξης μελανίνης, οι παραπάνω σχέσεις γίνονται:

$$M = k \left(\frac{OD_2 - OD_3}{\Delta\lambda_{23}} \right),$$

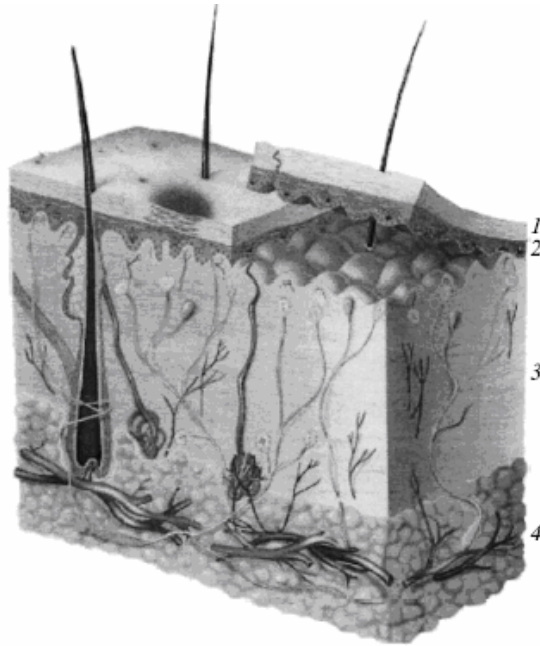
$$E = 100 \left[OD_1 - OD_2 - \frac{M}{k} \Delta\lambda_{12} \right]$$

$$\Delta\lambda_{12} = \lambda_2 - \lambda_1, \Delta\lambda_{23} = \lambda_3 - \lambda_2, \lambda_1 = 560 \text{ nm}, \lambda_2 = 650 \text{ nm}, \lambda_3 = 710 \text{ nm}$$

και k ο calibration factor.

6.8 Meglinski and Matcher

Οι Meglinski and Matcher [12], [16] σε έρευνα τους παρατήρησαν ότι είναι δυνατός ο προσδιορισμός περιοχών στο δέρμα όπου η δομή των κυττάρων, οι συγκεντρώσεις των χρωμοφόρων και του αίματος μπορούν να θεωρηθούν σταθερές. Με βάση τα παραπάνω χώρισαν το δέρμα σε επτά επίπεδα κάθε ένα από τα οποία χαρακτηρίζονταν από το μέσο πάχος, τον συντελεστή σκέδασης μ_s , απορρόφησης μ_a , τον δείκτη ανισοτροπίας g και τον δείκτη διάθλασης n.



Εικόνα 17: Structure of the skin. The following layers are usually distinguished on the basis of different cell structure: (1) horny, (2) epidermis, (3) derma, (4) hypodermis.

k	Layer	$d, \mu\text{m}$	μ_s, mm^{-1}	μ_a, mm^{-1}	g	n
1	Horny-tissue layer	20	100	0.8	0.9	1.5
2	Epidermis	80	60	0.15	0.85	1.34
3	Dermis with capillary loops	150	30	0.07	0.9	1.39
4	Dermis with surface plexus of vessels	80	35	0.1	0.95	1.4
5	Dermis	1500	25	0.05	0.76	1.39
6	Dermis with depth plexus of vessels	80	35	0.15	0.95	1.4
7	Hypodermic fat	6000	15	0.075	0.8	1.44

Πίνακας 1

Έτσι θεωρήθηκε ότι το ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης στο ορατό και στο κοντινό υπέρυθρο για κάθε επίπεδο εξαρτάται από την φασματική συνεισφορά της αιμοσφαιρίνης, της μελανίνης και του νερού που υπάρχουν στους ιστούς του δέρματος.

$$\mu_a(\lambda) = \sum_{i=1}^m \left(\mu_a^{(i)}(\lambda) C_i \prod_{j=1}^{i-1} (1 - C_j) \right) + \mu_a^{(0)}(\lambda) \prod_{i=1}^m (1 - C_i)$$

Όπου C_i αναφέρεται στον i th απορροφητή (αίμα, μελανίνη, νερό) στο δεδομένο δερματικό επίπεδο, m ο συνολικός αριθμός των απορροφητών που υπάρχουν στο επίπεδο αυτό, $\mu_a^{(i)}(\lambda)$ ο συντελεστής απορρόφησης του i th απορροφητή, $\mu_a^{(0)}(\lambda)$ ο συντελεστής απορρόφησης που δεν προκαλείται από τους προαναφερθέντες απορροφητές και ισούται με:

$$\mu_a^{(0)}(\lambda) = 7.84 \times 10^7 \times \lambda^{-3.255}.$$

Αν S (skin blood oxygen saturation) και γ (total volume fraction of haemoglobin in blood) τότε ο συντελεστής απορρόφησης σε ένα δερματικό επίπεδο είναι:

$$\mu_a^{\text{layer}}(\lambda) = (1 - S)\gamma C_{\text{blood}} \mu_a^{\text{Hb}}(\lambda) + S\gamma C_{\text{blood}} \mu_a^{\text{HbO}_2}(\lambda) + (1 - \gamma C_{\text{blood}}) C_{\text{H}_2\text{O}} \mu_a^{\text{H}_2\text{O}}(\lambda) + (1 - \gamma C_{\text{blood}})(1 - C_{\text{H}_2\text{O}}) \mu_a^{(0)}(\lambda).$$

Το γ υπολογίστηκε θεωρώντας ότι η αιμοσφαιρίνη περιέχεται μόνο στα ερυθροκύτταρα από τον παρακάτω τύπο:

$$\gamma = F_{\text{Hb}} F_{\text{RBC}} Ht$$

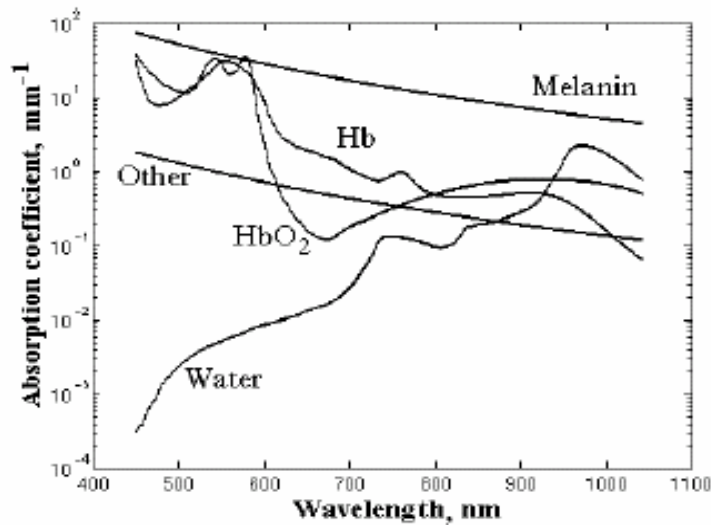
όπου το $Ht=0.45$: ο αιματοκρίτης, $F_{\text{Hb}}=0.25$: το ποσοστό της αιμοσφαιρίνης στα ερυθροκύτταρα, $F_{\text{RBC}}=0.99$: ο αριθμός των ερυθροκυττάρων που υπάρχουν στα κύτταρα του αίματος και $S= 0.6$. Αν και οι παραπάνω τιμές διαφέρουν από επίπεδο σε επίπεδο, εδώ θεωρούνται σταθερές. Για την stratum corneum και για την living epidermis υπολογίστηκαν οι συντελεστές απορρόφησης:

$$\mu_a^{\text{stratum}}(\lambda) = ((0.1 - 0.3 \times 10^{-4}\lambda) + 0.125\mu_a^{(0)}(\lambda)) (1 - C_{\text{H}_2\text{O}}) + C_{\text{H}_2\text{O}}\mu_a^{\text{H}_2\text{O}}(\lambda)$$

$$\mu_a^{\text{living epidermis}}(\lambda) = (C_{\text{melanin}}\mu_a^{\text{melanin}}(\lambda) + (1 - C_{\text{melanin}})\mu_a^{(0)}(\lambda)) (1 - C_{\text{H}_2\text{O}}) + C_{\text{H}_2\text{O}}\mu_a^{\text{H}_2\text{O}}(\lambda)$$

Οι συντελεστές $\mu_a^{\text{Hb}}(\lambda)$, $\mu_a^{\text{HbO}_2}(\lambda)$, $\mu_a^{\text{H}_2\text{O}}(\lambda)$; $\mu_a^{(0)}(\lambda)$ στην φασματική περιοχή 400-1100 nm παρουσιάζονται στο παρακάτω γράφημα 4. Ο συντελεστής απορρόφησης της μελανίνης υπολογίστηκε από την παρακάτω σχέση:

$$\mu_a^{\text{melanin}}(\lambda) = 5 \times 10^9 \times \lambda^{-3.33}$$



Γραφική 7: Οι συντελεστές απορρόφησης της oxy-Hb, deoxy-Hb, H₂O σε συνάρτηση με το μήκος κύματος.

Οι υπόλοιπες οπτικές παράμετροι που χρησιμοποιήθηκαν στο μοντέλο όπως ο συντελεστής σκέδασης μ_s , ο δείκτης ανισοτροπίας g και ο δείκτης διάθλασης n , για $\lambda = 633 \text{ nm}$, φαίνονται επίσης στον παρακάτω πίνακα 1.

k	Name of layer	C_{blood}	$C_{\text{H}_2\text{O}}$	$\mu_s (\text{mm}^{-1})$	g	n
1	Stratum corneum	0	0.05	100	0.86	1.5
2	Living epidermis	0	0.2	45	0.8	1.34
3	Papillary dermis	0.04	0.5	30	0.9	1.4
4	Upper blood net dermis	0.3	0.6	35	0.95	1.39
5	Reticular dermis	0.04	0.7	25	0.8	1.4
6	Deep blood net dermis	0.1	0.7	30	0.95	1.38
7	Subcutaneous fat	0.05	0.7	5	0.75	1.44

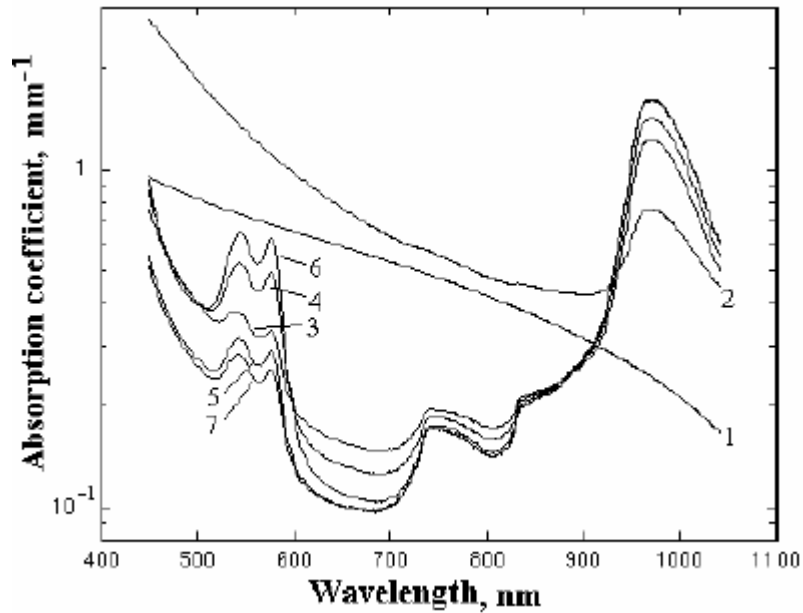
Πίνακας 2: The parameters used in the calculation of the absorption coefficients of skin layers, and other optical properties of the layers used in the simulation.

k	Name of layer	C_{Blood}	S	Ht	F_{Hb}	F_{RBC}	$C_{\text{H}_2\text{O}}$
1	Stratum corneum	0	0	0	0	0	0.05
2	Living epidermis	0	0	0	0	0	0.2
3	Papillary dermis	0.04	0.6	0.45	0.99	0.25	0.5
4	Upper blood net dermis	0.3	0.6	0.45	0.99	0.25	0.6
5	Reticular dermis	0.04	0.6	0.45	0.99	0.25	0.7
6	Deep blood net dermis	0.1	0.6	0.45	0.99	0.25	0.7
7	Subcutaneous fat	0.05	0.6	0.45	0.99	0.25	0.7

Πίνακας 3: The parameters used in the calculation of the absorption coefficients of the blood contented layers of the skin.

Οι παραπάνω τιμές αντιστοιχούν σε μήκος κύματος $\lambda = 632,8 \text{ nm}$. Ο περιβάλλον δείκτης διάθλασης του μέσου μετρήθηκε $n_0 = 1$.

Με βάση τα παραπάνω προσδιορίστηκαν οι συντελεστές απορρόφησης για τα διάφορα στρώματα του δέρματος σε σχέση με το μήκος κύματος.



Γραφική 8: The absorption coefficients of oxy-, deoxy-hemoglobin and water as a function of wavelength. These data are taken from literature reports

6.9 M Shimada, Y Yamada et al

Οι Shimada και Yamada [13], [14] ακολούθησαν και αυτοί την μέθοδο χωρισμού του δέρματος σε διάφορα στρώματα, προσδιορίζοντας τις συγκεντρώσεις του αίματος και της μελανίνης, χρησιμοποιώντας όμως σαν δεδομένο ότι η μελανίνη βρίσκεται στα ανώτερα στρώματα του δέρματος σε αντίθεση με τα υπόλοιπα χρωμοφόρα.

Για τη φασματική ανάλυση του δέρματος πρότειναν την multiple regression analysis βασισμένη στον τροποποιημένο Beer-Lambert Law.

Η ανάλυση στηρίχθηκε στις εξής εξισώσεις:

$$A(\lambda) = -\log_{10} R(\lambda).$$

όπου $A(\lambda)$ το φάσμα απορρόφησης και $R(\lambda)$ ανάκλασης.

Το φάσμα απορρόφησης με βάση τον τροποποιημένο Beer-Lambert Law είναι:

$$A(\lambda) = \varepsilon(\lambda)C\bar{l}(\lambda, C) + G(\lambda)$$

όπου $\varepsilon(\lambda)$ είναι ο μοριακός συντελεστής απορρόφησης, C η μοριακή συγκέντρωση, $\bar{l}(\lambda)$ η μέση διαδρομή και το $G(\lambda)$ οι απώλειες λόγω σκέδασης.

Το $A(\lambda)$ για ένα πολυεπίπεδο μέσο, όπου οι συντελεστές σκέδασης και μοριακής απορρόφησης είναι διαφορετικοί σε κάθε επίπεδο, υπολογίζεται από το άθροισμα των $A_i(\lambda)$.

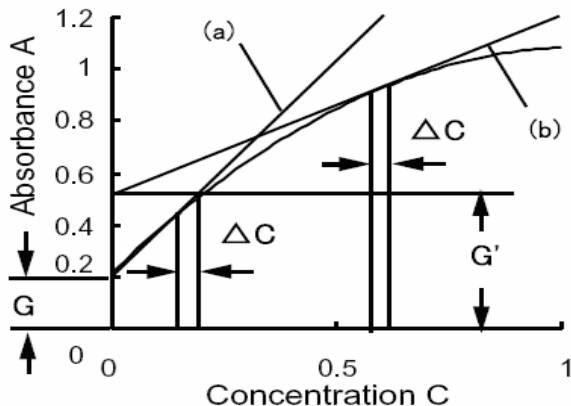
$$A(\lambda, C_1, \dots, C_m) = \sum_{i=1}^m A_i(\lambda, C_i) + G(\lambda) = \sum_{i=1}^m \varepsilon_i(\lambda)C_i(\lambda)\bar{l}_i(\lambda, C_i) + G(\lambda).$$

όπου $I_i(\lambda, C_i)$ η μέση διαδρομή στο i th επίπεδο και επειδή οι συντελεστές σκέδασης είναι διαφορετικοί σε κάθε μήκος κύματος τα $I_i(\lambda, C_i)$ και $G(\lambda)$ εξαρτώνται από το μήκος κύματος.

Όταν C_i μεταβάλλεται σε μικρό βαθμό τότε $I_i(\lambda) \sim I_i(\lambda, C_i)$ και η διαφορά που προκαλείται στο φάσμα απορρόφησης, λόγω της αλλαγής αυτής στη συγκέντρωση, εκφράζεται από την:

$$\Delta A_i(\lambda) = \varepsilon_i(\lambda)\Delta C_i\bar{l}_i(\lambda).$$

Η εξίσωση αυτή υποδηλώνει ότι η διαφορά που προκαλείται στο φάσμα απορρόφησης είναι ανάλογη της διαφοράς στη συγκέντρωση.



Γραφική 9: Relationship between absorbance of scattering medium and concentration of chromophore is linear within small change in concentration. At large concentration, the slope decreases while the scattering loss increases. The gradient of A/C is large at strong scattering medium.

Το φάσμα απορρόφησης του δέρματος δίνεται από την παρακάτω εξίσωση:

$$A_{\text{skin}}(\lambda) = \varepsilon_{\text{m}}(\lambda)C_{\text{m}}\bar{I}_{\text{m}}(\lambda) + \varepsilon_{\text{b}}C_{\text{b}}\bar{I}_{\text{b}}(\lambda) + A_0(\lambda)$$

$$A_0(\lambda) = A'_0(\lambda) + G(\lambda)$$

όπου $A'_0(\lambda)$ το φάσμα απορρόφησης όλων των χρωμοφόρων του δέρματος εκτός από την μελανίνη και την αιμοσφαιρίνη.

Στην συνέχεια χρησιμοποιώντας multiple regression analysis κατέληξαν στις παρακάτω εξισώσεις:

$$A_{\text{skin}}(\lambda) = \frac{C_{\text{m}}}{\Delta C_{\text{m}}} \Delta A_{\text{m}}(\lambda) + \frac{C_{\text{b}}}{\Delta C_{\text{b}}} \Delta A_{\text{b}}(\lambda) + A_0(\lambda)$$

$$\Delta A_{\text{m}}(\lambda) = \varepsilon_{\text{m}}(\lambda) \Delta C_{\text{m}} \bar{I}_{\text{m}}(\lambda) \quad \Delta A_{\text{b}}(\lambda) = \varepsilon_{\text{b}}(\lambda) \Delta C_{\text{b}} \bar{I}_{\text{b}}(\lambda).$$

Σε κάθε επίπεδο με αυτόν τον τρόπο μπορεί θεωρητικά να υπολογιστεί ο λόγος των συγκεντρώσεων $C/\Delta C$.

Το συγκεκριμένο μοντέλο έχει την δυνατότητα να χωρίσει το δέρμα σε διάφορα επίπεδα που θα σχετίζονται με το μήκος κύματος που επιλέγουμε.

Με βάση τα παραπάνω θα μπορούσαμε να χωρίσουμε σε διάφορα επίπεδα την περιοχή του φάσματος από τα 620 nm έως τα 720 nm όπου μπορεί να προσδιοριστεί η μελανίνη και την περιοχή από τα 520 nm έως τα 580 nm για τον υπολογισμό της αιμοσφαιρίνης.

6.10 Wagner Jeniffer

Χρησιμοποίησε [17] το DermaSpectrometer, ένα όργανο περιορισμένης ζώνης έχοντας κεντραρισμένη την πράσινη δίοδο στα 568nm και την κόκκινη στα 655 nm και το Microflash 200D ένα diffuse reflectance spectrophotometer, το οποίο χρησιμοποιεί μια πρισματική φωτοδίοδο για την παροχή πληροφοριών κάθε 10 nm στο ορατό φάσμα.

Το ποσοστό της ανάκλασης σε ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος συσχετίζεται με την ανάκλαση του 'λευκού' στο ίδιο μήκος κύματος, δηλαδή με τη μέγιστη δυνατή ανάκλαση.

Η απορρόφηση δίνεται από το λογάριθμο του πηλίκου του ποσοστού ανάκλασης (Percent Reflectance : PR) του λευκού σε ένα μήκος κύματος προς το πραγματικό ποσοστό ανάκλασης στο ίδιο το μήκος κύματος:

$$AA_{580 \text{ nm}} = \log (PR_{580 \text{ nm blank}} / PR_{580 \text{ nm object}})$$

Για τον μέτρηση της συγκέντρωσης της μελανίνης η κόκκινη δίοδος του DermaSpectrometer κεντράρεται στα 655 nm (σχήμα 7α) και το M index υπολογίζεται από τα βάρη των ποσοστών ανάκλασης στα 640, 650, 660 και 670 nm χρησιμοποιώντας τις παρακάτω εξισώσεις:

$$Eqn1 = [(PR_{650 \text{ nm}} + PR_{660 \text{ nm}} + 1/2 * PR_{640 \text{ nm}} + 1/2 * PR_{670 \text{ nm}}) / 3] / 100$$

$$M \text{ index} = 100 * \log [1 / (eqn 1)]$$

Υπολογίστηκε και το (adjusted melanin index) AM από την κλίση στην περιοχή 650-700 nm.[9]

$$AM = \text{slope}(650-700 \text{ nm})$$

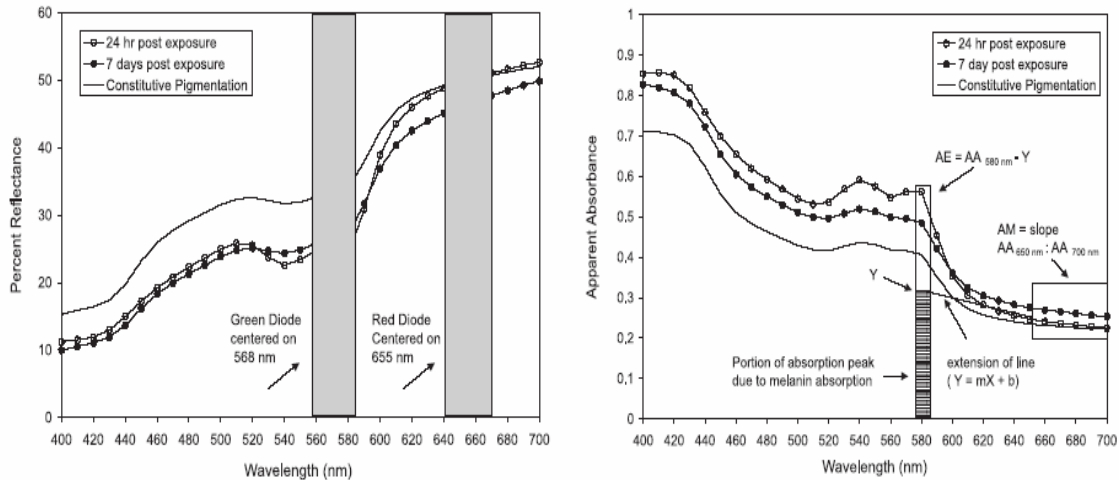
Για τον υπολογισμό του erythema index η πράσινη δίοδος κεντράρεται στα 568 nm (σχήμα 7α). Στόχος είναι η μέτρηση του φωτός που απορροφάται από την οξυγονωμένη και μη αιμοσφαιρίνη, ενώ παράλληλα θα πρέπει να υπολογιστεί και η απορρόφηση της μελανίνης στην περιοχή αυτή. Έτσι:

$$Eqn3 = [(PR_{560 \text{ nm}} + PR_{570 \text{ nm}} + 1/2 * PR_{580 \text{ nm}} / 2] / 100$$

$$E \text{ index} = 100 * \log (1 / eqn 3) - \log (1 / eqn 1)$$

Στο (σχήμα 7β) φαίνονται τα adjusted melanin και erythema, AM και AE αντίστοιχα. Υπολογίζεται η κλίση της καμπύλης από τα AA_650nm στα AA_700nm (Apparent Absorbance: AA) και χρησιμοποιώντας την κλίση και την εξίσωση της γραμμής ($Y = mX + b$), η γραμμή επεκτείνεται προς τα πίσω στο σημείο Y (580 nm), δείχνοντας έτσι ότι η απορρόφηση οφείλεται στην παρουσία μελανίνης. Η απορρόφηση της αιμοσφαιρίνης δίνεται από την εξίσωση:

$$AE = AA_{580 \text{ nm}} - Y_{580 \text{ nm}}$$



Γραφικές 10-11: Percent reflectance and apparent absorbance. Three reflectance curves are shown for the same person; constitutive pigmentation (line with no symbols); 24 h postexposure (line with open circles) and 7 d postexposure (line with filled circles). (1A) Data displayed as percent reflectance. Raw reflectance data from Microflash is shown. Vertical bars indicate the regions being screened by narrow-band based methods (M and E index). (1b) Data displayed as apparent absorbance. Raw data transformed to apparent absorbance as described in the text. Vertical bar indicates the region around 580 nm, where hemoglobin has a maximal absorbance.

6.11 Cotton Moncrieff

Τα 2 τελευταία [15] χρόνια αναπτύχθηκε (Astron Clinica, Cambridge, UK) ένα νέο απεικονιστικό σύστημα προσδιορισμού των χρωμοφώρων του δέρματος (Skin chromophore imaging system SIAscore). Το σύστημα εξετάζει μια 24mm x 24mm περιοχή και αντλεί πληροφορίες για τα συστατικά του δέρματος. Περιλαμβάνει 8 φασματικές περιοχές (στο ορατό και στο κοντινό υπέρυθρο στα 400-1000nm) όπου θεωρητικά μπορεί να προσδιορίσει την κατανομή του κολλαγόνου, του αίματος και της μελανίνης στο επιθηλιακό δέρμα.

Η διάγνωση μιας χρωματισμένης δερματικής αλλοίωσης είναι καθαρά υποκειμενική. Χωρίζοντας τα συστατικά του δέρματος το SIAscore έχει στόχο να μειώσει την υποκειμενικότητα της ανάλυσης και να διευκολύνει την διάγνωση δερματικών αλλοιώσεων.



Εικόνα 18

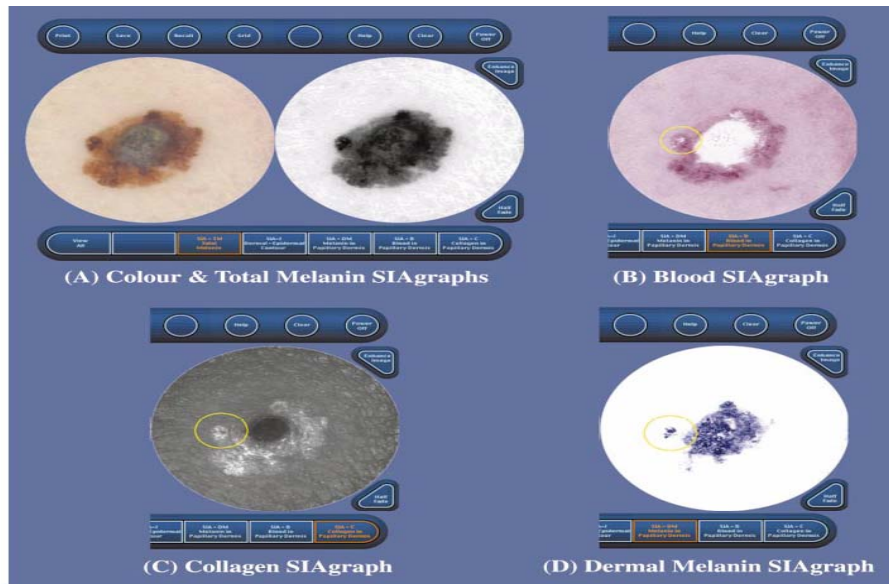
Ο αλγόριθμος που χρησιμοποιείται αρχικά αξιοποιεί τις φασματικές περιοχές στο υπέρυθρο ώστε να προσδιορίσει την ποσότητα κολλαγόνου στην δερματική αλλοίωση. Στην συνέχεια με κατάλληλο μετασχηματισμό των φασματικών περιοχών προσδιορίζεται η ποσότητα της μελανίνης και του αίματος. Η μέθοδος αυτή ισχυρίζεται ότι γίνεται δυνατός ο προσδιορισμός της μελανίνης σε διάφορα στρώματα του δέρματος, στοιχείο ιδιαίτερα σημαντικό, καθώς όπως είναι γνωστό αποτελεί διαγνωστική πληροφορία για την εκδήλωση ή όχι δυσπλασίας.

Κάποια χαρακτηριστικά που θα μπορούσαν να συσχετιστούν με σημαντικά ιστοπαθολογικές παραμέτρους αναφέρονται στον πίνακα παρακάτω.

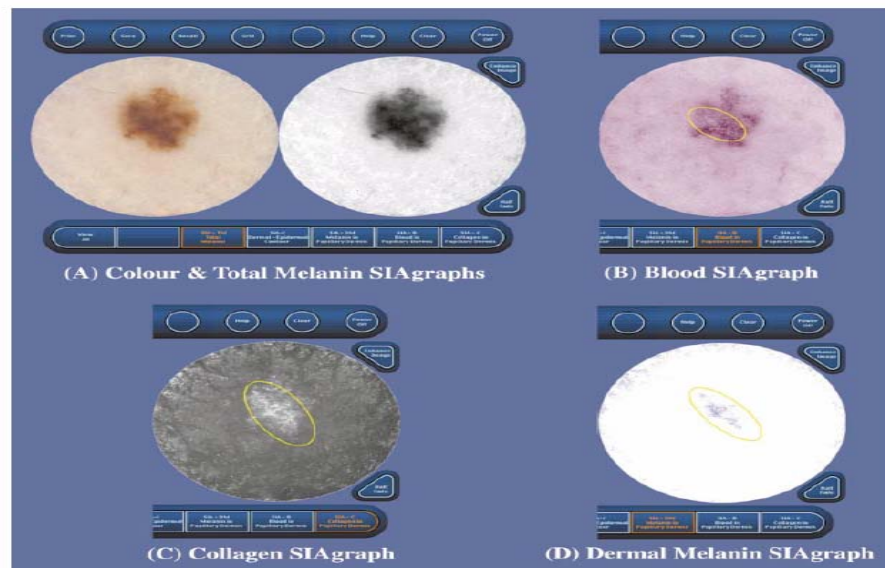
Feature	Definition	SIAGraph view
Melanin globules	A circumscribed aggregation or flocculation of melanin within the lesion	Total melanin
Blood globules	A circumscribed aggregation or flocculation of blood within the lesion	Blood
Blood displacement	A confluent, non-pixelated area demonstrating an absence of blood within the lesion	Blood
Erythematous blush	A peripheral increase in blood within the lesion compared with the surrounding normal skin for 3/4 of the circumference of the lesion	Blood
Dermal melanin	The presence of dermal melanin within the lesion not due to hairs	Dermal melanin
Dermal melanin globules	A circumscribed aggregation or flocculation of dermal melanin within the lesion	Dermal melanin
Collagen holes	An area within the lesion coinciding with melanin (dermal or total) demonstrating an absence of collagen not due to hair follicles or sebaceous/sweat ducts	Collagen
Biaxial symmetry	Symmetry of shape and pattern in two perpendicular planes within the constraints of biological variability	Total melanin
Asymmetry	A lack of symmetry of shape and pattern in any plane	Total melanin

Πίνακας 4

Κάποιες από αυτές τις παραμέτρους φαίνονται στα σχήματα 5 και 6.



Εικόνα 19: SIAgraphs superficial spreading melanoma (Clark's level IV) A) Colour SIAgraph (left) shows dermatoscopic view, especially blue-gray veil. SIAgraph της ολικής μελανίνης (το μαύρο απεικονίζει την μελανίνη) ενισχύει τα δερματικά κριτήρια όπως branched streaking and pseudopodia (δεξιά).B) Blood SIAgraph (το κόκκινο απεικονίζει το αίμα) .Στην συγκεκριμένη αλλοίωση εμφανίζει έντονο «κοκκίνισμα».C) Collagen SIAgraph (το άσπρο αναπαριστά το κολλαγόνο) D) Dermal melanin SIAgraph (το μπλε αναπαριστά την επιδερμική μελανίνη) Στην συγκεκριμένη αλλοίωση υπάρχουν μεγάλες ποσότητες επιδερμικής μελανίνης ακανόνιστα κατανεμημένες.



Εικόνα 20: SIAgraph of a superficial melanoma (Clark's level II).Το χρώμα και η συνολική μελανίνη στα SIAgraphs(A) είναι κοινή. Παρόλα αυτά το blood SIAgraph (B) δείχνει μια δυσδιάκριτη μετατόπιση με έντονο «κοκκίνισμα».Το collagen SIAgraph (C) δεν εμφανίζει κοίλωμα κάτι που εμφανίζεται μόνο σε ένα Clark's level II melanoma παρόλα αυτά υπάρχουν μεγάλες ποσότητες κολλαγόνου ακανόνιστα κατανεμημένες. Το dermal melanin SIAgraph (D) δείχνει την επιδερμική μελανίνη ακανόνιστα κατανεμημένη σε μεγάλη περιοχή της αλλοίωσης.

6.12 Erythema/Melanin Meter

Το Erythema/Melanin Meter[1] (DiaStron Ltd, Andover, Hampshire, UK) μετράει την ανάκλαση σε τρία μήκη κύματος 546, 632 και 905 nm.

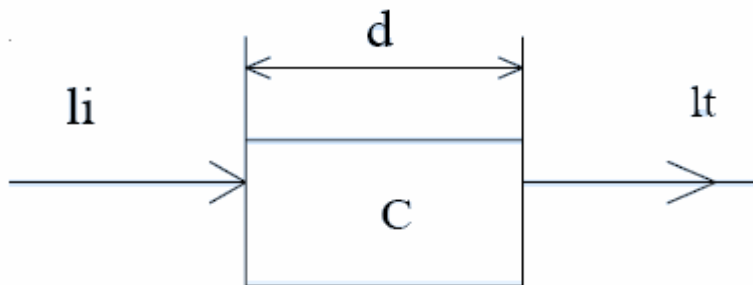
$$EI = \log_{10}(R_{632\text{nm}}/R_{546\text{nm}}) \times 1000$$

$$MI = \log_{10}(R_{905\text{nm}}/R_{632\text{nm}}) \times 1000$$

Η συγκεκριμένη μέθοδος παρουσιάζει πρόβλημα όταν κάποια από τις χρωμοφόρες παρουσιάζει μεταβολές, όταν δηλαδή για διάφορους λόγους εμφανίζεται διαφορετική κατανομή στην αιμοσφαιρίνη και στην μελανίνη. Η αδυναμία της μεθόδου, έγκειται στο γεγονός ότι αλλαγές στις συγκεντρώσεις των χρωμοφώρων του δέρματος προκαλούν αλλαγές το λιγότερο σε δυο μεταβλητές, κάνοντας έτσι αδύνατο να διαχωριστεί η συνεισφορά του κάθε συστατικού.

6.13 Sabine Van Huffel

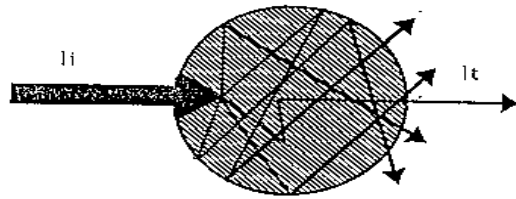
Χρησιμοποίησε [28] τον Beer-Lambert Law Model για να περιγράψει την ανάκλαση του φωτός:



Εικόνα 21

$$A = \log\left(\frac{l_i}{l_t}\right) = \alpha \cdot C \cdot d + G$$

όπου l_i , l_t η προσπίπτουσα και η ανακλώμενη ακτινοβολία αντίστοιχα, α ο συντελεστής απόσβεσης, C η συγκέντρωση των χρωμοφόρων, d η απόσταση μέσα στο μέσο και G απώλειες λόγω σκέδασης.



Εικόνα 22

Για τον υπολογισμό των αλλαγών των συγκεντρώσεων των χρωμοφόρων χρησιμοποίησε τις παρακάτω εξισώσεις:

$$\begin{aligned} \text{STAGE I : } \Delta A_w &= \log \frac{l_{i_w}}{l_{t_w}} - \log \frac{l_{i_w}^0}{l_{t_w}^0} = \Delta K_w p_w d \\ \text{STAGE II : } \Delta K_w &= \sum_{j=1}^3 \alpha_{wj} \Delta C_j \quad w = 1, \dots, m \end{aligned}$$

όπου: m ο αριθμός των επιλεγμένων wavelengths

l_{i_w} , l_{t_w} η προσπίπτουσα και η εκπεμπόμενη ακτινοβολία αντίστοιχα

ΔA_w η μεταβολή της εκπεμπόμενης ακτινοβολίας στο μήκος κύματος w

ΔK_w η συνολική μεταβολή του συντελεστή απόσβεσης

α_{wj} ο συγκεκριμένος συντελεστής απόσβεσης

ρ_w ο διαφορικός συντελεστής διαδρομής

d interoptode απόσταση

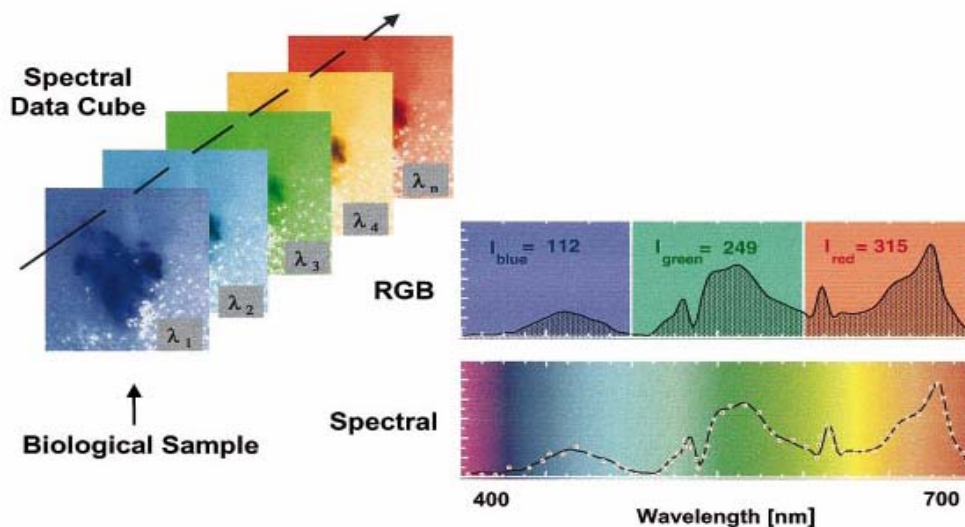
ΔC_j η μεταβολή της συγκέντρωσης των χρωμοφόρων

Κεφάλαιο 7 - Φασματική Απεικόνιση

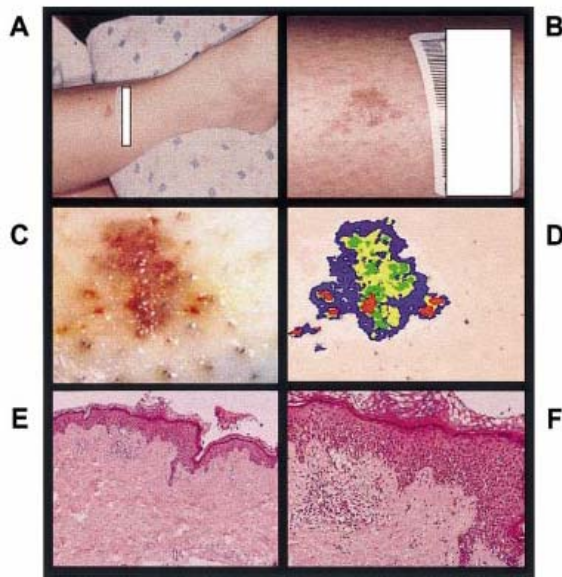
7.1 Εισαγωγικά

Όταν το φως επιδρά σε ένα 'αντικείμενο', το φως μπορεί να ανακλαστεί, να σκεδαστεί, να μεταδοθεί ή να απορροφηθεί. Η φασματοσκοπία μετράει αυτά τα φαινόμενα στο πεδίο της συχνότητας ή στο πεδίο του χρόνου προκειμένου να προσδιορίσει τις φυσικές ή χημικές ιδιότητες του 'αντικειμένου'.

Η φασματική απεικόνιση αναλύει τα μικροσκοπικά και μακροσκοπικά δείγματα στα διάφορα μήκη κύματος, επιτρέποντας υψηλής ανάλυσης φάσμα (ένταση ακτινοβολίας σε συνάρτηση με το μήκος κύματος) να αποκτηθεί σε κάθε pixel της εικόνας. Το αποτέλεσμα είναι ένας κύβος εικόνας που περιέχει φασματική και χωρική πληροφορία. Η φασματική πληροφορία μπορεί να χρησιμοποιηθεί, ταξινομώντας κάθε pixel, ανάλογα με την ένταση του σήματος στην εικόνα. Αντί να ταξινομείται κάθε pixel με απόλυτο τρόπο, οι εντάσεις μοντελοποιούνται σαν γραμμικός συνδυασμός του φάσματος. Αν δοθεί μια βιβλιοθήκη από τα βασικά φάσματα, που αντιστοιχούν σε γνωστά στοιχεία του δείγματος, το ποσοστό του κάθε βασικού φάσματος που συνεισφέρει στο pixel μπορεί να προσδιοριστεί. Χρησιμοποιώντας τα ποσοστά αυτά και τις ολικές εντάσεις του pixel, η ποσότητα του κάθε υλικού από τη φασματική βιβλιοθήκη στο συγκεκριμένο φάσμα μπορεί να μετρηθεί και να αναλυθεί χωρικά.

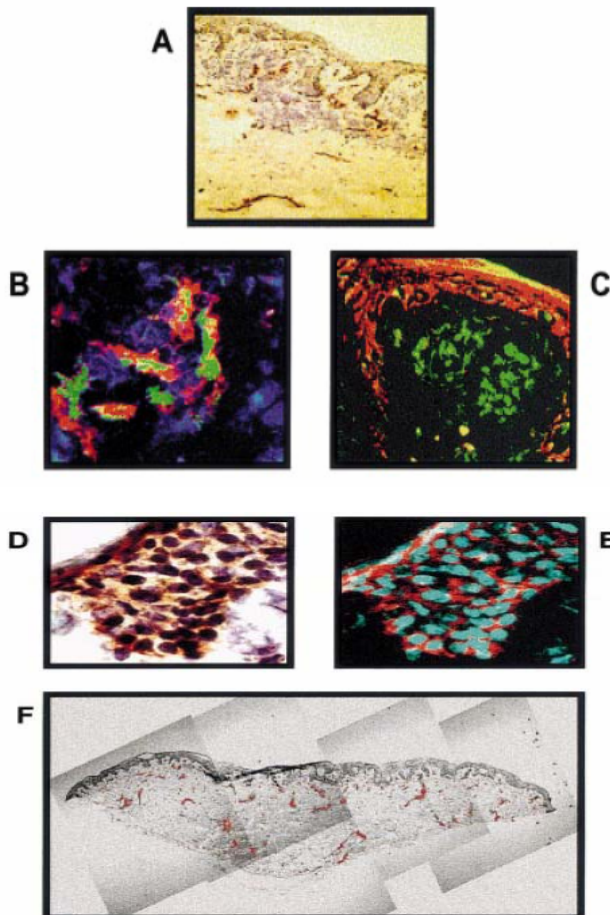


Εικόνα 23: Δείχνει την αρχή της φασματικής ανάλυσης. Ένα βιολογικό δείγμα απεικονίζεται σε διάφορα μήκη κύματος είτε σε color bands (RGB) είτε σε μεγάλο αριθμό από μήκη κύματος (spectral imaging), πολλές φορές επεκτείνεται πέρα από το ορατό φάσμα. Ένας κύβος δεδομένων παράγεται όπου σε κάθε pixel της εικόνας είναι διαθέσιμο το αντίστοιχο φάσμα. Η φασματική διάκριση επιτυγχάνεται μέσω των φασματικών πλακιδίων.



Εικόνα 24

Μακροσκοπική φασματική ανάλυση ενός RGB μελανώματος που εξελίσσεται σε atypical nevus :
(A), (B) φωτογραφίες των μελανοκυτταρικών περιοχών. (C) RGB εικόνα από τον κύβο της μελανοκυτταρικής περιοχής. Τα pixels της RGB εικόνας χρησιμοποιούνται για την ταξινόμηση του φάσματος. (D) Η περιοχή με το ψευδο-μπλε αναπαριστά τη φασματική απομονωμένη περιοχή στο atypical nevus. Η περιοχή με το ψευδο-κίτρινο και ψευδο-πράσινο αντιστοιχεί στο τμήμα που περιέχει RGB melanoma. Ενώ, η περιοχή με το ψευδο-κόκκινο αντιστοιχεί στο heavily pigmented regions του atypical nevus. Τέλος, τα (E) και (F) απεικονίζουν την ιστολογία του atypical nevus και του RGB melanoma αντίστοιχα.



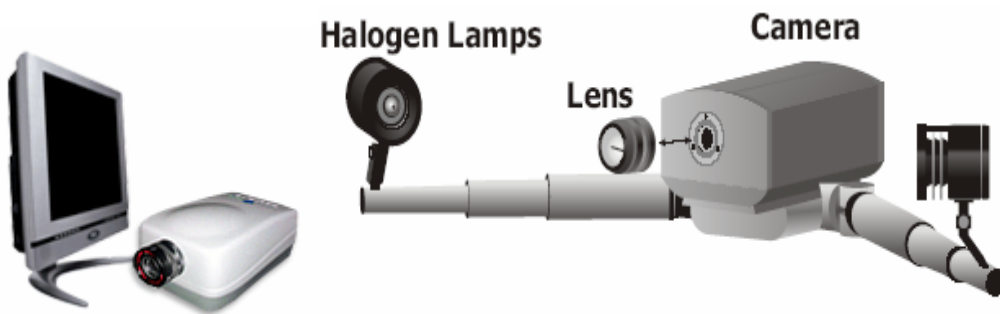
Εικόνα 25

Μικροσκοπική φασματική ανάλυση του atypical nevus:
(A) το atypical nevus μελάνωμα με το αντίσωμα FGFR-1 και ενδοθηλιακό κύτταρο CD31. (B) Ψευδο-χρωματισμένη περιοχή ενός τμήματος του atypical nevus όπου περιέχονται αγγεία αίματος, FGFR-1 signal (green), CD31 signal (red), περιοχές στα αγγεία αίματος εκφράζονται και με τα δύο (FGFR-1, CD31) (yellow) και η αιματοξυλίνη με το blue. (C) Ψευδο-χρωματισμένη εικόνα μιας non-counterstained περιοχής του atypical nevus με τα αντισώματα bFGF (red) και FGFR-1 (green). Τα κύτταρα εκφράζονται από τα bFGF και FGFR-1 και έχουν ψευδο-κίτρινο.

(D) Hematoxylin-counterstained περιοχή του atypical nevus probed with a Stat3-specific antibody. (E) Η φασματική εικόνα του stained nevus τμήματος που φαίνεται στο D φανερώνει την παρουσία της Stat3 protein (pseudocolored red) στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων, αλλά όχι στον πυρήνα τους (pseudocolored blue). (F) A non-counterstained atypical nevus περιοχή, probed with an antibody to CD31 antigen, υποβάλλεται σε ποιοτική και ποσοτική spectral imaging analysis. Με το ψευδο-κόκκινο αναπαρίστανται τα αγγεία του αίματος.

7.2 Πειραματική Διάταξη

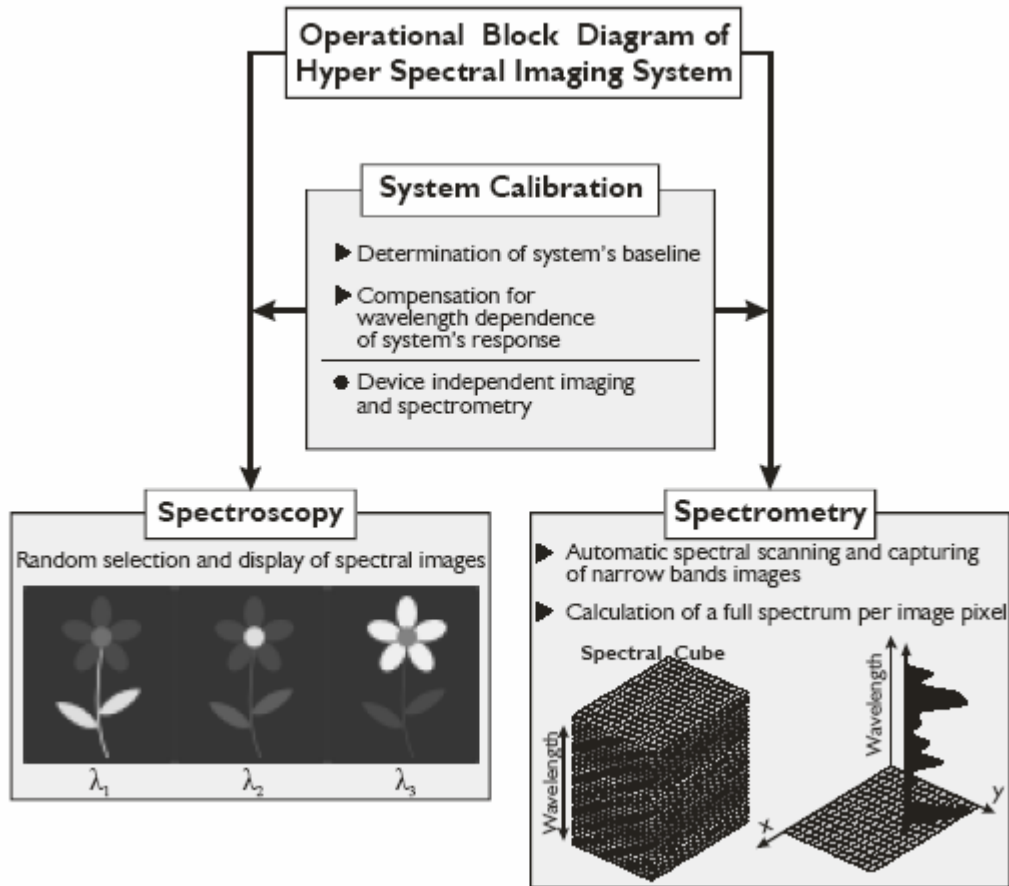
Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν από ένα υπερφασματικό σύστημα απεικόνισης, βασισμένο σε έναν όλο-οπτικό μονοχρωμάτορα απεικόνισης. Το σύστημα παράγει φασματικές εικόνες 5nm Full Width Half Maximum (FWHM) με βήμα ρύθμισης 3nm στη φασματική περιοχή 400-1200nm. Με τη βοήθεια μηχανικών χειρισμών, οι οποίοι ελέγχονται από το PC μέσω ενός μικροελεγκτή, πραγματοποιείται η μετατόπιση των οπτικών στοιχείων των τελευταίων αποτελεσμάτων στο συντονισμό του μήκους κύματος απεικόνισης, έτσι ώστε να συνεχιστεί η διαδικασία λήψης. Ο φωτισμός πραγματοποιείται μέσω δύο λαμπών αλογόνου 250W, οι οποίες σχηματίζουν γωνία 45° με το φακό της κάμερας, ώστε να αποφεύγεται το φαινόμενο του κατοπτρισμού.



Εικόνα 26

Ο συντονισμός του φασματικού εύρους ταιριάζει με το φασματικό εύρος της δυνατότητας απόκρισης (responsity) του CCD αλλά μπορεί να επεκταθεί και σε πιο μεγάλα μήκη κύματος μέχρι τη μέση υπέρυθρη περιοχή. Το σήμα ανατροφοδότησης που παράγεται από τον μονοχρωμάτορα περιέχει πληροφορίες σχετικές με την κατάσταση του μεταβλητού φίλτρου καθιστώντας έτσι δυνατό το συντονισμό με τη διαδικασία λήψης εικόνων. Ο μονοχρωμάτορας είναι συνδεδεμένος με μια ασπρόμαυρη CCD κάμερα, βασισμένη στο IEEE-1394 πρωτόκολλο μεταφοράς δεδομένων, ικανό να παράγει εικόνες σε ένα ποσοστό 15 frames/sec σε πλήρη ανάλυση και περισσότερες από 30 frames/sec σε VGA ανάλυση.

Ένα ειδικά διαμορφωμένο λογισμικό έχει αναπτυχθεί για τον έλεγχο της κάμερας, του μονοχρωμάτορα καθώς και της φασματικής ανάλυσης της εικόνας.



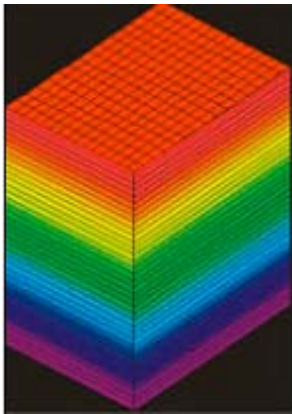
Εικόνα 27

Το σύστημα λειτουργεί σε δύο καταστάσεις: της φασματοσκοπίας και της φασματομετρίας. Η φασματοσκοπία επιτρέπει την τυχαία επιλογή και την απεικόνιση, σε πραγματικό χρόνο, των επιθυμητών φασματικών εικόνων, ενώ η φασματομέτρα εκτελεί συγχρονισμένα τη φασματική ανίχνευση και σύλληψη της εικόνας και ,τελικά, τον υπολογισμό ενός πλήρους φάσματος ανά εικονοκύτταρο εικόνας.

Και στις δύο καταστάσεις, μια ειδική διαδικασία βαθμονόμησης εκτελείται προκειμένου να αντισταθμιστεί για το μήκος κύματος η εξάρτηση της απόκρισης των ηλεκτροπτικών μερών του συστήματος, όπως το CCD, ο φωτισμός κ.ά. Μια λευκή πλάκα Ba_2SO_4 με ενιαίο συντελεστή ανάκλασης στη φασματική περιοχή 400-1000 nm χρησιμοποιείται ως δείγμα βαθμονόμησης. Το δείγμα τοποθετείται στο οπτικό πεδίο του φακού και η γκρι τιμή του της κεντρικής περιοχής της εικόνας απεικονίζεται σε πραγματικό χρόνο. Στη συνέχεια ο μονοχρωμάτορας σκανάρει τη συνολική φασματική περιοχή και σε κάθε βήμα το διάφραγμα (shutter) και το κέρδος (gain) της κάμερας ρυθμίζονται αυτόματα ώστε να επιτυγχάνεται τιμή περίπου στα 255. Αυτό γίνεται ώστε να διασφαλιστεί ότι αξιοποιείται όλη η δυναμική περιοχή του CCD. Οι τιμές των shutter και gain αποθηκεύονται σε κάθε μήκος κύματος μαζί με την εικόνα του λευκού δείγματος αποτελώντας έτσι

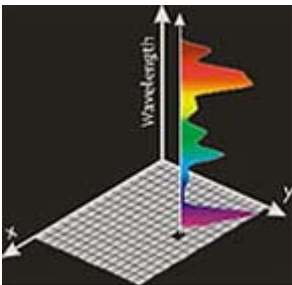
το σύνολο των στοιχείων βαθμονόμησης του συστήματος. Οι ρυθμίσεις αυτές προσδιορίζουν το επίπεδο ευαισθησίας της κάμερας, το οποίο αυξάνεται όταν το μήκος κύματος απεικόνισης συντονιστεί σε μικρότερα ή μεγαλύτερα μήκη κύματος, σε σχέση με τη ζώνη των μηκών κύματος όπου επιτυγχάνεται τόσο η μέγιστη ρυθμοαπόδοση του φωτός όσο και η απόδοση του συστήματος. Αυτό καθιστά την απόκρισή του συστήματος, σχεδόν, ανεξάρτητη του μήκους κύματος, διασφαλίζοντας με αυτόν τον τρόπο φασματική απεικόνιση και φασματομετρία ανεξάρτητες της συσκευής. Οι αποθηκευμένες φασματικές εικόνες του λευκού δείγματος χρησιμοποιούνται για τη διόρθωση των ανωμαλιών της φωτεινότητας της εικόνας εξαιτίας της μη ομοιόμορφης συνάρτησης της οπτικής.

Τρέχοντας τον κώδικα για την κατάσταση της φασματομετρίας, που ακολουθεί τη διαδικασία της βαθμονόμησης, το σύστημα εκτελεί συγχρονισμένα τη ρύθμιση του μήκους κύματος απεικόνισης της εικόνας, τη σύλληψη της εικόνας και την αποθήκευση της υπό ανάλυσης περιοχή. Σε κάθε βήμα, ευαισθησία της κάμερας ρυθμίζεται αυτόματα σύμφωνα με τις αποθηκευμένες τιμές του shutter και gain.



Από την αποθηκευμένη “στοίβα” των φασματικών εικόνων, ένα φάσμα μπορεί να υπολογιστεί και να αναπαρασταθεί σε οποιοδήποτε επιλεγμένο χωρικό σημείο της φασματικής εικόνας. Τα φάσματα υπολογίζονται από τις γκρι τιμές της φασματικής στήλης που αντιστοιχεί στο pixel που επιλέγεται. Η χωρική ανάλυση του ανιχνευτή προσδιορίζει τον αριθμό των φασμάτων που δύναται συλλεχθούν σε ένα κύκλο πειράματος. Με την παραπάνω περιγραφή, ένα εκατομμύριο φάσματα δύναται να συλλεχθούν σε δύο λεπτά, περίπου, χρόνου ανίχνευσης. Τέλος, το σύστημα

Εικόνα 28: Φασματικός Κύβος ενσωματώνει μια γρήγορη διαδικασία αποθήκευσης σε μικρότερη ανάλυση, η οποία μειώνει το χρόνο ανίχνευσης του συστήματος σε 10 δευτερόλεπτα.



Εικόνα 29: Φάσμα Ανάκλασης

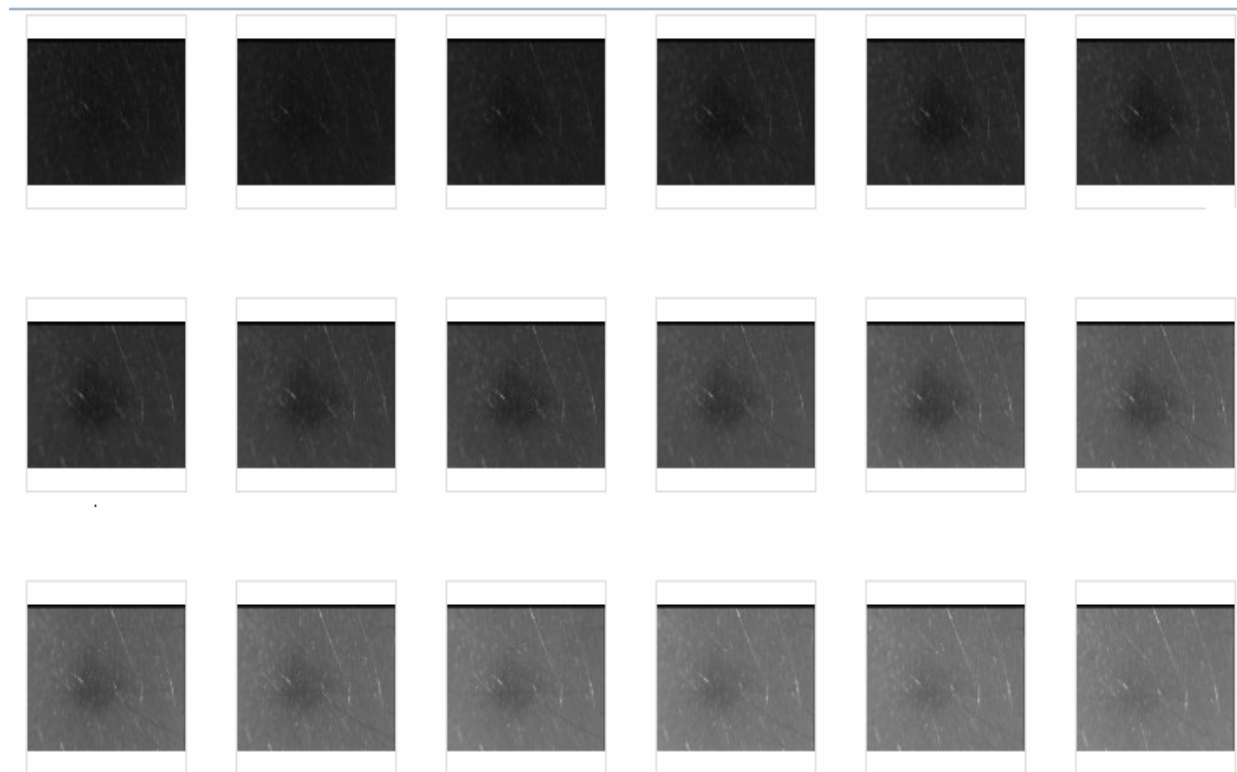
Κεφάλαιο 8 - Αποτελέσματα Πειραματικής Διαδικασίας

Πειραματική Διαδικασία

Πραγματοποιήθηκαν δύο πειραματικές διαδικασίες:

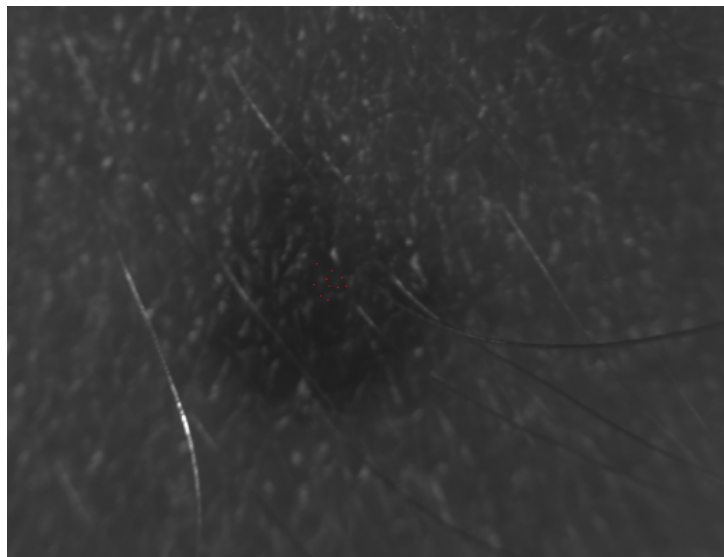
- **1^η Πειραματική Διαδικασία:**

Συλλογή εικόνων στη φασματική περιοχή (420-1000nm) από φυσιολογικούς και υγιής σπίλους.



Εικόνα 30: Απεικόνιση στην περιοχή 420-760nm

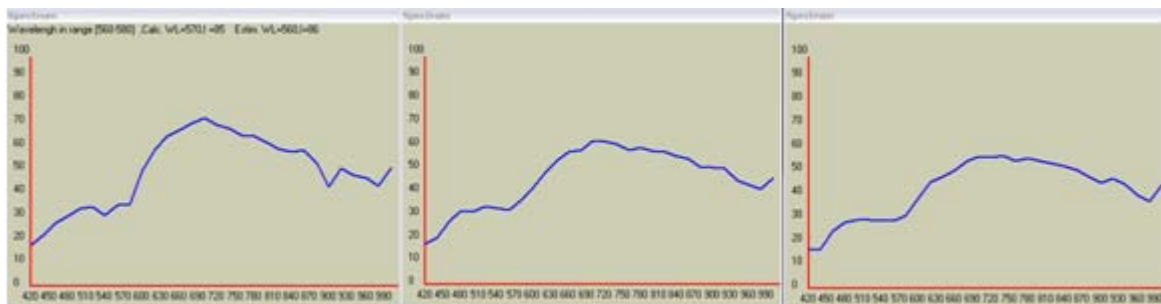
Προκειμένου να μελετήσουμε την επαναληψιμότητα των αλγορίθμων, (i) πήραμε τα φάσματα 10 pixels από το κέντρο της ελιάς, (ii) υλοποιήσαμε τους αλγορίθμους και (iii) υπολογίσαμε το standard deviation και το coefficient of variation του κάθε δείκτη.



Εικόνα 31

- **2^η Πειραματική Διαδικασία:** Διακοπή κυκλοφορίας του αίματος

Συλλέξαμε εικόνες στη φασματική περιοχή 420-1000nm από το δείκτη του χεριού. Θέλοντας να διακόψουμε τη ροή του αίματος, τοποθετήσαμε ένα λαστιχάκι στο δείκτη και επαναλάβαμε τη διαδικασία όταν συμπληρώθηκαν 1 και 3 λεπτά από την ώρα που το τοποθετήσαμε.



Από τα φάσματα που προκύψανε, παρατηρούμε ότι όσο περνάει η ώρα και μειώνεται η ροή του αίματος στην περιοχή του δείκτη, το φάσμα ανάκλασης μειώνεται. Όσο η περιοχή δεν αιματώνεται τόσο η απορρόφηση της ακτινοβολίας αυξάνεται και συνεπώς το φάσμα ανάκλασης μειώνεται.

Ομοίως και εδώ, πήραμε τα φάσματα από 10 pixels του δείκτη, σε κάθε κατάσταση, προκειμένου να εξετάσουμε την επαναληψιμότητα που παρουσιάζουν οι αλγόριθμοι.

Αυτό που αναμένουμε να γίνει φανερό, με τη διακοπή της κυκλοφορίας του αίματος που προκαλέσαμε, από τα αποτελέσματα των αλγορίθμων, όσο περνάει ο χρόνος είναι:

- ο melanin index να παραμένει σταθερός καθόλη τη διάρκεια της διαδικασίας.
- να ανιχνεύεται η παρουσία της De-oxy Hb, μιας και θα πρέπει οι τιμές τις De-oxy Hb να υπερτερούν αυτών της Oxy-Hb, ώστε να δικαιολογηθεί και το μαύρισμα που παρατηρείται όσο περνάει ο χρόνος. Η παρουσία της De-oxy υποδηλώνεται με τις αρνητικές τιμές του δείκτη οξυγόνωσης (IOX, SaO₂), ενώ οι θετικές τιμές του δείκτη οξυγόνωσης αντιστοιχούν σε οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη.

Επαναληψιμότητα Αλγορίθμων

Την επαναληψιμότητα που παρουσιάζουν οι δείκτες σε κάθε αλγόριθμο την εξετάζουμε με βάση δύο συντελεστές:

1. Standard deviation (STD-τυπική απόκλιση): ορίζεται για μικρό σύνολο τιμών από την παρακάτω σχέση.

$$s = \left(\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \right)^{\frac{1}{2}}$$

Για τη σύγκριση της μεταβλητότητας δύο μεταβλητών η τυπική απόκλιση είναι πολύ καλό μέτρο, όταν οι τιμές τους μετρώνται με τις ίδιες μονάδες και οι μέσες τιμές είναι περίπου ίσες. Αν όμως οι μεταβλητές μετρώνται με τις ίδιες μονάδες αλλά οι μέσες τιμές διαφέρουν σημαντικά ή οι μεταβλητές υπολογίζονται με διαφορετικές μονάδες, τότε χρησιμοποιείται ένας 'καθαρός' συντελεστής απαλλαγμένος μονάδων, ο coefficient of variation.

2. Coefficient of variation (CV- συντελεστής μεταβλητότητας): ορίζεται ο λόγος της δειγματικής απόκλισης προς το δειγματικό μέσο.

$$CV = (S/N) * 100\%$$

Ο συντελεστής μεταβλητότητας είναι ανεξάρτητος από μονάδες μέτρησης και χαρακτηρίζει ένα δείγμα σαν ομογενές όταν η τιμή του είναι το πολύ 10%.

Άρα λοιπόν εξετάζουμε αν οι δείκτες παρουσιάζουν $CV \leq 10\%$, προκειμένου να χαρακτηρίσουμε τη συμπεριφορά τους σαν ομοιόμορφη.

Υλοποίηση αλγορίθμων

Επειδή η σύλληψη των εικόνων πραγματοποιείται με βήμα 20 nm από τα 420-1000 nm δεν υπάρχουν πληροφορίες για όλη τη φασματική περιοχή. Για το λόγο αυτό αναγκαστήκαμε να κάνουμε μερικές προσεγγίσεις, μιας και κάθε αλγόριθμος χρησιμοποιεί για τον υπολογισμό των δεικτών της μελανίνης και της αιμοσφαιρίνης και ενδιάμεσες φασματικές μπάντες. Επίσης θα πρέπει να αναφέρουμε πως το erythema index παραλείπεται από τους αλγορίθμους διότι αποτελεί μια παράμετρο που σχετίζεται περισσότερο με το χρώμα που παρατηρείται στην υπό εξέταση περιοχή και όχι με τα ενδοεπιδερμικά χαρακτηριστικά της περιοχής. Για το λόγο αυτό αποτελεί μείζονος σημασίας παράμετρος.

1^{ος} Αλγόριθμος Dawson: Στον αλγόριθμο του Dawson, βάση για την ποσοτικοποίηση των παραμέτρων αποτέλεσε η παράμετρος LIR η οποία προσδιορίζεται από τη σχέση:

$$LIR = \log_{10} 1/R = \log (I_0 / I)$$

όπου I_0 είναι ένταση της ακτινοβολίας που ανακλάται από την λευκή επιφάνεια και I η ένταση της ακτινοβολίας που ανακλάται από την υπό εξέταση επιφάνεια.

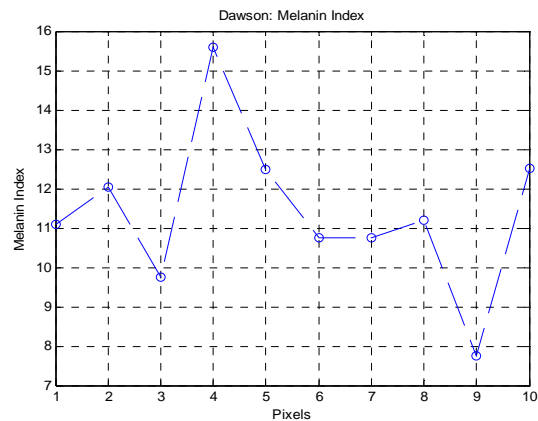
Τα μήκη κύματος που επιλέχθηκαν για την υλοποίηση του αλγορίθμου πραγματοποιώντας κάποιες προσεγγίσεις φαίνονται παρακάτω:

Μήκη Κύματος Αλγορίθμου(nm)	Επιλεγμένα Μήκη Κύματος (nm)
645	640
650	640
655	660
695	700
700	700
705	700

Αποτελέσματα 1^{ης} Πειραματικής Διαδικασίας

Οι τιμές του δείκτη μελανίνης σε κάθε pixel ,το standard deviation και ο coefficient of variation φαίνονται παρακάτω:

STD	MI	CV (%)	MI
σ	2.0397	CV	17.9037



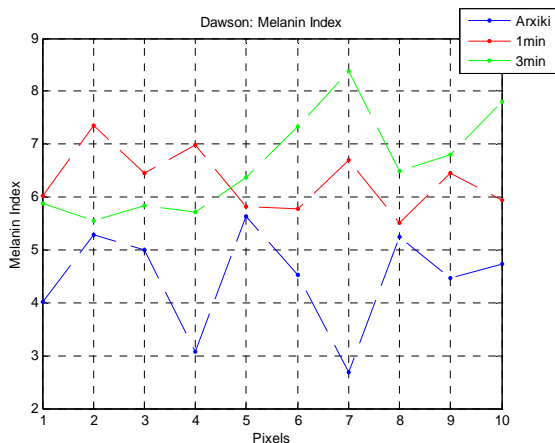
Διάγραμμα 1: Δείκτης Μελανίνης(MI)

Παρατηρούμε ότι παρουσιάζει ο melanin index CV=17.9%, τιμή η οποία καθιστά το σύνολο των τιμών του μη ομογενές.

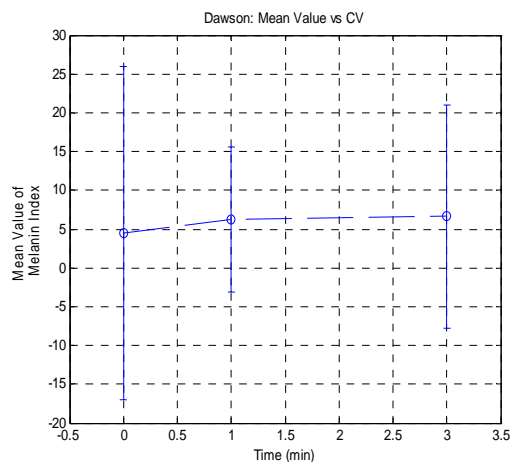
Αποτελέσματα 2^{ης} Πειραματικής Διαδικασίας

Ο συντελεστής μεταβλητότητας του δείκτη μελανίνης σε κάθε μία κατάσταση είναι:

CV (%)	Αρχική	1min	3min
CV	21.4988	9.3550	14.4516



Διάγραμμα 2: Δείκτης Μελανίνης



Διάγραμμα 3: MI-Coefficient Of Variation

Από την εξέλιξη των τιμών του δείκτη, όπως φαίνονται παραπάνω, σε συνδυασμό με το συντελεστή μεταβλητότητας σε κάθε κατάσταση, κρίνεται μη ικανοποιητικός.

2^{ος} Αλγόριθμος Feather: Ο Feather για τον υπολογισμό των δεικτών χρησιμοποίησε τις παρακάτω σχέσεις:

$$IHB = [(L_{544} - L_{527.5}) / 16.5 - (L_{573} - L_{544}) / 29] \times 100$$

$$IOX = [(L_{573} - L_{558.5}) - (L_{558.5} - L_{544})] \times 100 / (14.5 \times IHB)$$

όπου $L = LIR = \log_{10} 1/R = \log (I_0 / I)$.

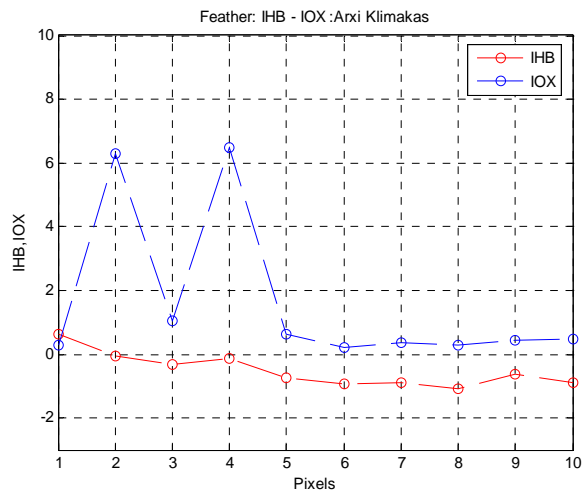
Η αντιστοιχία των μηκών κύματος που επιλέχτηκε φαίνεται παρακάτω:

Μήκη Κύματος Αλγορίθμου(nm)	Επιλεγμένα Μήκη Κύματος (nm)
527.5	520
544	540
558.5	560
573	580

Αποτελέσματα 1^{ης} Πειραματικής Διαδικασίας

Θεωρούμε ότι οι τιμές που εμφανίζει ο δείκτης της IHB όσο και ο IOX αποτελούν την αρχή της κλίμακάς τους μιας και στην περίπτωση του σπίλου δεν υπάρχει αιμοσφαιρίνη παρά μόνο μελανίνη. Οι συντελεστές τυπικής απόκλισης και μεταβλητότητας είναι:

STD	IHB	IOX	CV (%)	IHB	IOX
σ	0.5329	2.5071	CV	105.2504	152.0018



Διάγραμμα 4: Αρχή κλίμακας IHB-IOX

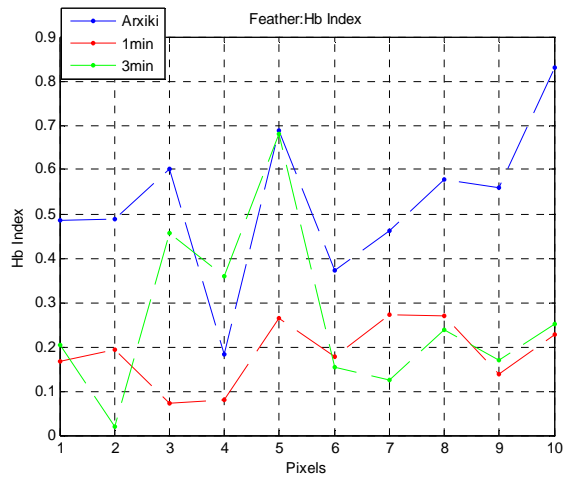
Παρατηρούμε πως στην αρχή της κλίμακας οι τιμές του δείκτη αιμοσφαιρίνης είναι αρνητικές ενώ του δείκτη οξυγόνωσης θετικές, με πολύ μεγάλο συντελεστή μεταβλητότητας.

Αποτελέσματα 2^{ης} Πειραματικής Διαδικασίας

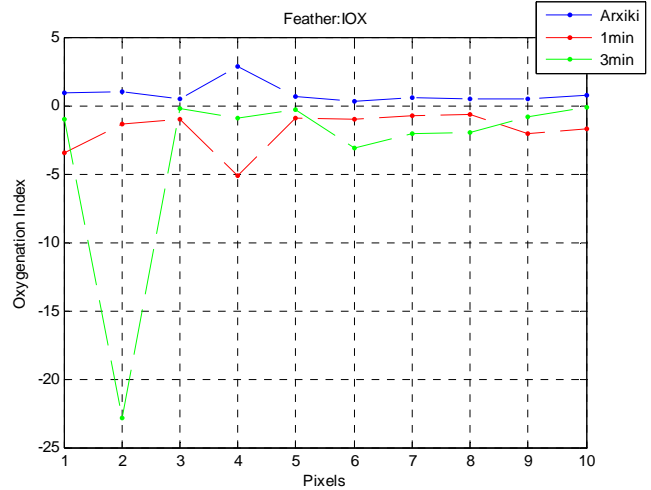
Το STD και το CV του hemoglobin index και για του oxygenation index φαίνονται παρακάτω:

STD	Αρχική		1min		3min	
σ	IHB	0.1753	IHB	0.0736	IHB	0.1898
	IOX	0.7376	IOX	1.4447	IOX	6.9153

CV (%)	Αρχική		1min		3min	
CV	IHB	33.3960	IHB	39.5048	IHB	71.4542
	IOX	85.1519	IOX	79.7804	IOX	206.8353

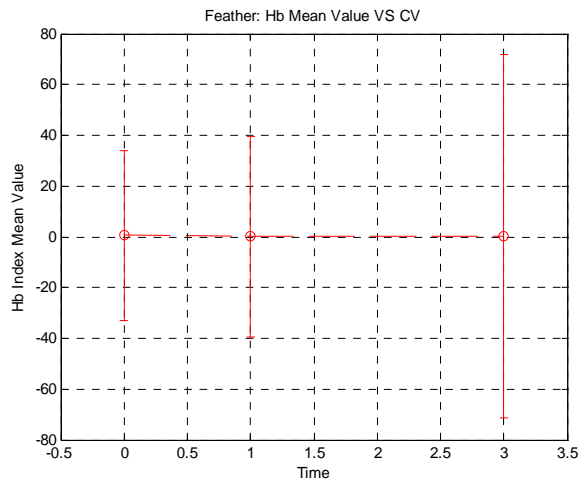


Διάγραμμα 5: IHb Index

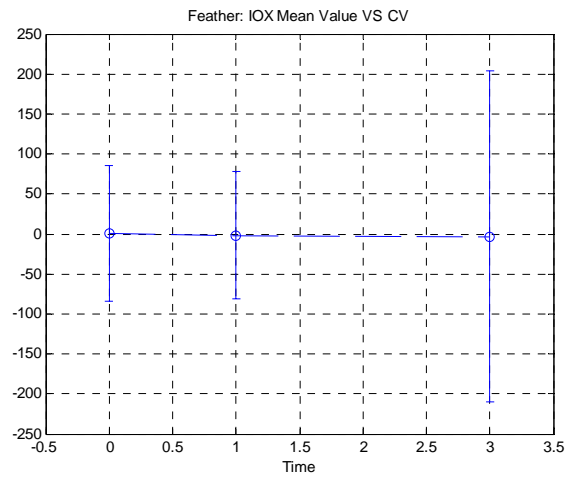


Διάγραμμα 6: IOX Index

Οι γραφικές παραστάσεις των μέσων τιμών των δύο δεικτών συναρτήσει του coefficient of variation φαίνονται παρακάτω:



Διάγραμμα 7: IHb - Coefficient Of Variation



Διάγραμμα 8: IOX - Coefficient Of Variation

Στον αλγόριθμο του Feather παρατηρούμε ότι:

- Αρχική → 1 min: σε όλα τα pixels η τιμή του IHb μειώνεται ενώ ο IOX παίρνει αρνητικές τιμές υποδηλώνοντας την παρουσία μη οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης στο 1 min.

- ο 1 min → 3 min : στο 3min σε ορισμένα pixels μειώνονται οι δείκτες και σε άλλα αυξάνονται, ο IOX εξακολουθεί να παίρνει αρνητικές τιμές υποδηλώνοντας την παρουσία deoxy-Hb.

Όμως, οι μεγάλες τιμές του συντελεστή μεταβλητότητας που παρατηρούνται και στους δύο δείκτες, τους καθιστούν μη κατάλληλους παρά τη λογική εξέλιξη των τιμών τους.

3^{ος} Αλγόριθμος Ferguson: Ο Ferguson χρησιμοποιώντας τις παρακάτω σχέσεις υπολόγισε τις τιμές των IHB και IOX ανεξάρτητα από τα διαφορετικά επίπεδα οξυγόνωσης και τη συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης αντίστοιχα.

$$IHB = [(A_{545} - A_{522}) / 23 - (A_{568} - A_{545}) / 23] \times (100 / 2)$$

$$IOX = [(A_{568} - A_{557}) / (11 \times IHB) - (A_{557} - A_{545}) / (12 \times IHB)] \times (100 / 2)$$

where A_{xxx} is the absorption value at xxx nm.

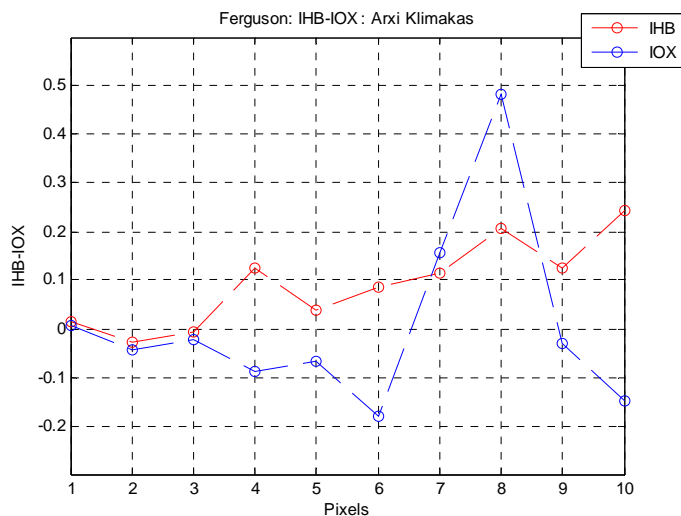
Η αντιστοιχία των μηκών κύματος που επιλέχτηκαν φαίνεται παρακάτω:

Μήκη Κύματος Αλγορίθμου(nm)	Επιλεγμένα Μήκη Κύματος (nm)
522	520
545	540
557	560
568	580

Αποτελέσματα 1^{ης} Πειραματικής Διαδικασίας

Ομοίως και εδώ, θεωρούμε ότι οι τιμές που εμφανίζει τόσο ο δείκτης της IHB όσο και ο IOX αποτελούν την αρχή της κλίμακάς τους, μιας και στην περίπτωση του σπίλου δεν υπάρχει αιμοσφαιρίνη παρά μόνο μελανίνη.

STD	IHB	IOX	CV (%)	IHB	IOX
σ	0.0848	0.1809	CV	92.4250	2.7408e+003



Διάγραμμα 9: Αρχή κλίμακας IHB-IOX

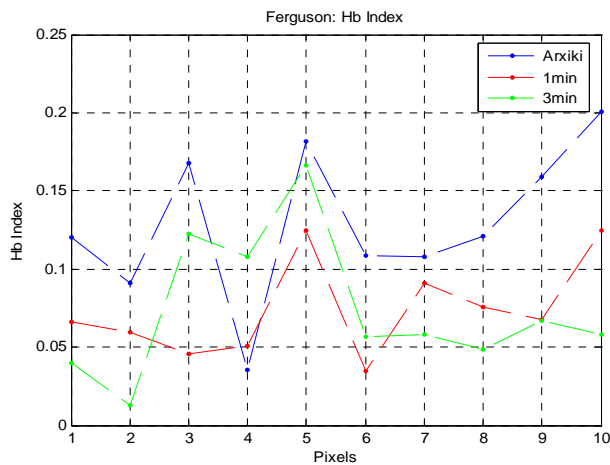
Αποτελέσματα 2^{ης} Πειραματικής Διαδικασίας

Οι τιμές για τους συντελεστές απόκλισης και μεταβλητότητας, που αντιστοιχούν στα IHB και IOX, στις τρεις καταστάσεις της πειραματικής διαδικασίας.

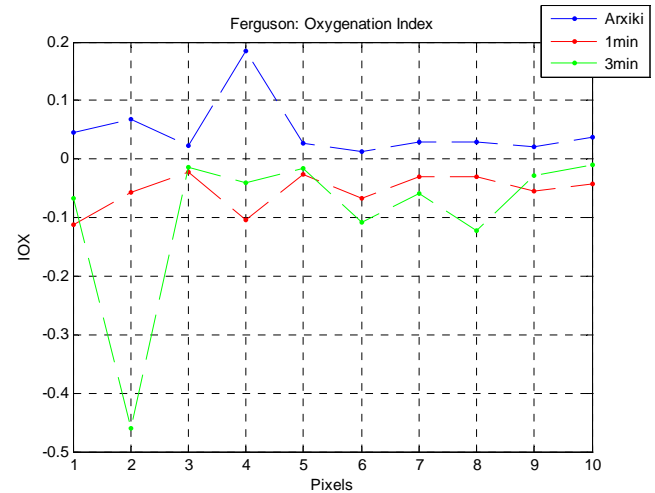
STD	Αρχική		1min		3min	
σ	IHB	0.0488	IHB	0.0311	IHB	0.0452
	IOX	0.0508	IOX	0.0321	IOX	0.1348

CV (%)	Αρχική		1min		3min	
CV	IHB	37.7402	IHB	41.9693	IHB	61.3346
	IOX	105.9555	IOX	58.6407	IOX	145.8377

Η εξέλιξη των τιμών του δείκτη της αιμοσφαιρίνης και του δείκτη οξυγόνωσης φαίνεται στα παρακάτω διαγράμματα.

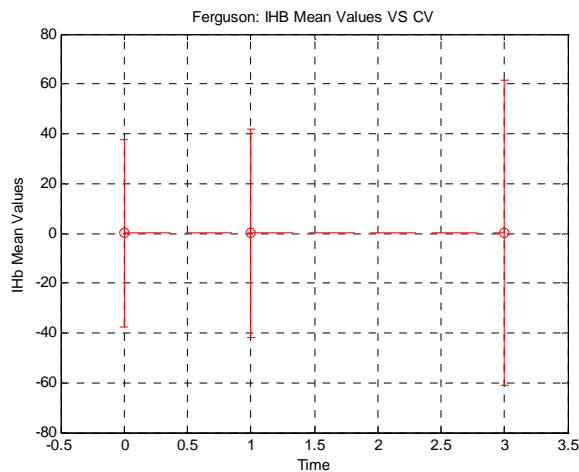


Διάγραμμα 10: IHB Index

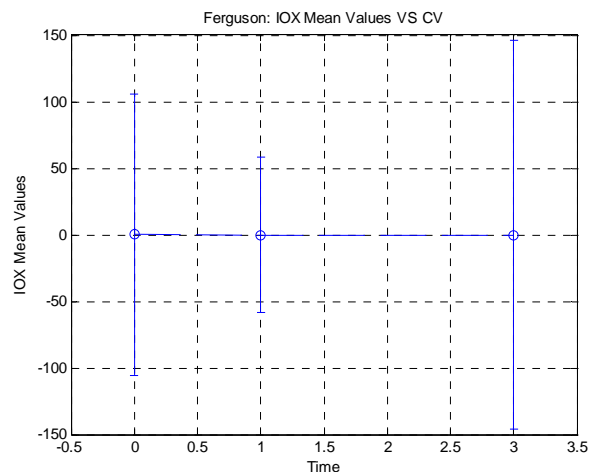


Διάγραμμα 11: IOX Index

Οι αποκλίσεις για τους δύο δείκτες φαίνεται στις γραφικές που ακολουθούν.



Διάγραμμα 12: IHB- Coefficient Of Variation



Διάγραμμα 13: IOX- Coefficient Of Variation

Στον αλγόριθμο του Ferguson παρατηρούμε ότι:

- Αρχική → 1 min: σε όλα τα pixels η τιμή του IHB μειώνεται ενώ ο IOX παίρνει αρνητικές τιμές υποδηλώνοντας την παρουσία μη οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης στο 1 min.
- 1 min → 3 min : στο 3min σε ορισμένα pixels μειώνονται οι δείκτες και σε άλλα αυξάνονται, διατηρώντας όμως ο IOX αρνητικές τιμές.

Όσον αφορά τις αποκλίσεις και οι δύο δείκτες παρουσιάζουν πολύ μεγάλες.

4^{ος} Αλγόριθμος Wagner: Το ποσοστό της ανάκλασης σε ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος η Wagner το συσχέτισε με την ανάκλαση του 'λευκού' στο ίδιο μήκος κύματος, δηλαδή με τη μέγιστη δυνατή ανάκλαση.

Η απορρόφηση δίνεται από το λογάριθμο του πηλίκου του ποσοστού ανάκλασης (Percent Reflectance : PR) του λευκού σε ένα μήκος κύματος προς το πραγματικό ποσοστό ανάκλασης στο ίδιο το μήκος κύματος:

$$AA_{580 \text{ nm}} = \log (PR_{580 \text{ nm blank}} / PR_{580 \text{ nm object}})$$

Για τον μέτρηση της συγκέντρωσης της μελανίνης η κόκκινη δίοδος του DermaSpectrometer κεντράρεται στα 655 nm (σχήμα 7a) και το M index υπολογίζεται από τα βάρη των ποσοστών ανάκλασης στα 640, 650, 660 και 670 nm χρησιμοποιώντας τις παρακάτω εξισώσεις:

$$Eqn1 = [(PR_{650 \text{ nm}} + PR_{660 \text{ nm}} + 1/2 * PR_{640 \text{ nm}} + 1/2 * PR_{670 \text{ nm}}) / 3] / 100$$

$$M \text{ index} = 100 * \log [1 / (eqn 1)]$$

Η αντιστοιχία των μηκών κύματος που επιλέχτηκαν είναι:

Μήκη Κύματος Αλγορίθμου(nm)	Επιλεγμένα Μήκη Κύματος (nm)
640	640
650	660
660	660
670	680

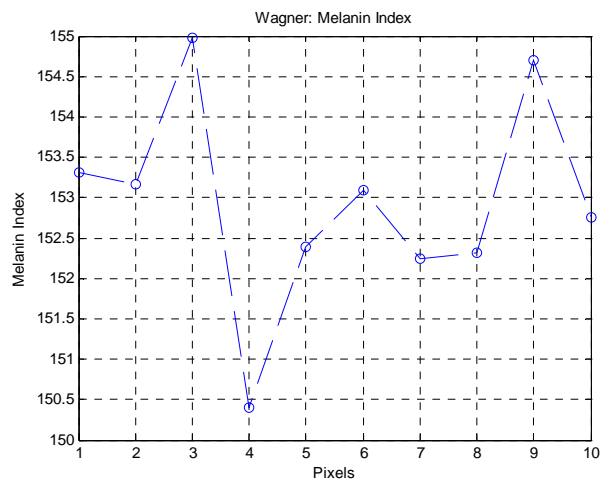
Αποτελέσματα 1^{ης} Πειραματικής Διαδικασίας

Το standard deviation και το coefficient of variation για το δείκτη της μελανίνης είναι:

STD	MI
σ	1.2941

CV (%)	MI
CV	0.8462

Παρατηρείται μεγάλη ομοιομορφία στο σύνολο των τιμών της μελανίνης.

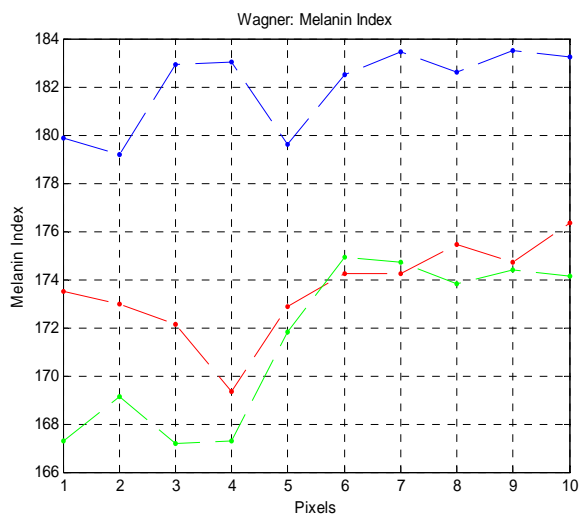


Διάγραμμα 14: Melanin Index

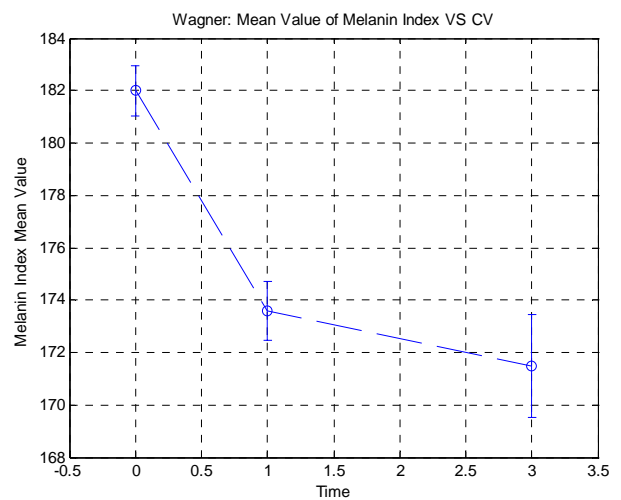
Αποτελέσματα 2^{ης} Πειραματικής Διαδικασίας

Οι τιμές του STD και CV για το δείκτη της μελανίνης είναι:

STD	Αρχική	1min	3min	CV (%)	Αρχική	1min	3min
σ	1.7191	1.9522	3.3741	CV	0.9446	1.1246	1.9678



Διάγραμμα 15: Melanin Index



Διάγραμμα 16: MI-Coefficient Of Variation

Από τις παραπάνω τιμές βλέπουμε πως ο δείκτης της μελανίνης παρουσιάζει μεγάλη ομοιομορφία και στις δύο πειραματικές διαδικασίες. Έτσι με βάση τη σχέση της Wagner, αποτελεί αξιόπιστο δείκτη για την προσέγγιση της μελανίνης στην υπό εξέταση περιοχή.

5^{ος} Αλγόριθμος Dolotov: Με βάση το φάσμα της απορρόφησης της μελανίνης προσδιορίστηκε ένας δείκτης συγκέντρωσης της μελανίνης σε συγκεκριμένη φασματική περιοχή, από την κλίση της OD(λ) στην περιοχή από 650-700 nm.

$$M = 100(\overline{OD}_{650} - \overline{OD}_{700}),$$

όπου \overline{OD}_{650} η μέση τιμή της OD στην περιοχή κοντά στα 650 nm.

Για οπτικά μέσα όπως το δέρμα η οπτική πυκνότητα του μέσου από την ανάκλαση διάχυσης είναι:

$$OD_{\lambda} = \frac{A_{\lambda}}{l} = -\frac{1}{l} \log_{10} T = \frac{1}{l} \log_{10} \left(\frac{I_0}{I} \right)$$

Η αντιστοιχία των μηκών κύματος που επιλέχτηκαν φαίνεται παρακάτω:

Μήκη Κύματος Αλγορίθμου(nm)	Επιλεγμένα Μήκη Κύματος (nm)
640	640
650	660
660	660
670	680
680	680
710	700

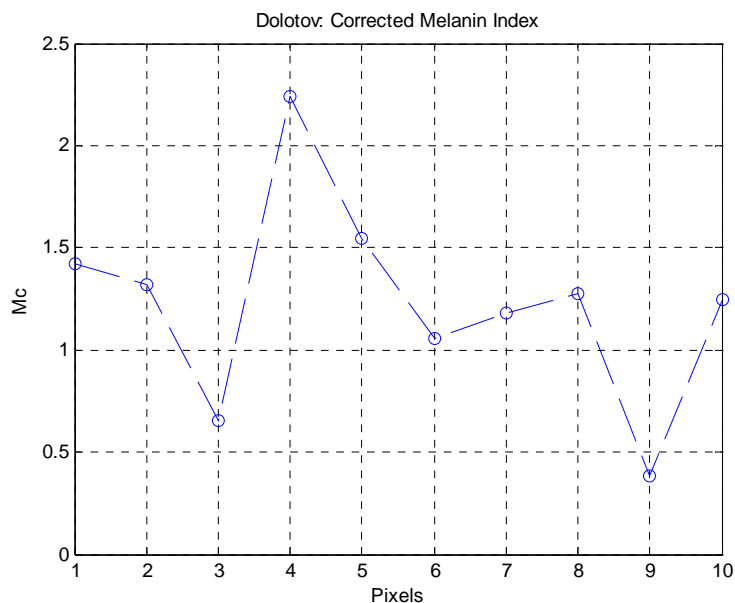
Αποτελέσματα 1^{ης} Πειραματικής Διαδικασίας

Οι τιμές του συντελεστή απόκλισης και για το δείκτη της μελανίνης είναι:

STD	M_C
σ	0.4985

CV (%)	M_C
CV	40.44

Παρατηρούμε πως δεν υπάρχει μεγάλη ομοιομορφία στο σύνολο των τιμών του δείκτη της μελανίνης.



Διάγραμμα 17: Corrected Melanin Index

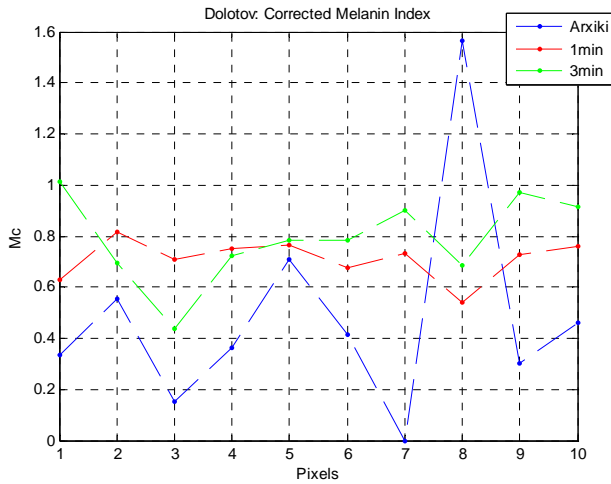
Αποτελέσματα 2^{ης} Πειραματικής Διαδικασίας

Οι τιμές των συντελεστών στη δεύτερη πειραματική διαδικασία είναι:

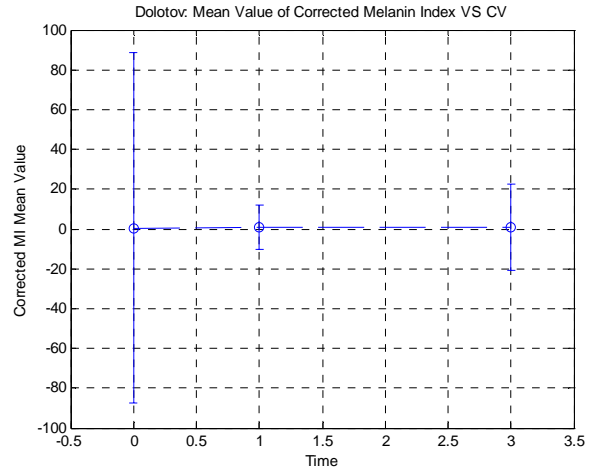
STD	Αρχική	1min	3min
σ	0.4270	0.0786	0.1700

CV (%)	Αρχική	1min	3min
CV	88.0182	11.0592	21.4957

Όπως φαίνεται και στις παρακάτω γραφικές παραστάσεις, διαπιστώνουμε μεγάλη ανομοιογένεια στις τιμές του δείκτη της μελανίνης στην αρχή της πειραματικής διαδικασίας αλλά και στο 3^ο λεπτό, ενώ οι τιμές στο 1^ο λεπτό παρουσιάζουν μεγαλύτερη ομοιομορφία.



Διάγραμμα 18: Corrected MI_C



Διάγραμμα 19: MI_C-Coefficient Of Variation

6ος Αλγόριθμος Hajizadeh: Αφαίρεσε από το οπισθο-σκεδαζόμενο φάσμα το ποσοστό που δεν περιείχε πληροφορίες σχετικά με τις χρωμοφόρες.

$$LIR_c = -\log_{10} (10^{-LIR_0} - 0.025)$$

Ο προσδιορισμός της μελανίνης στηρίχτηκε στην κλίση της καμπύλης απορρόφησης από τα 650-700 nm.

$$M_{675} = \{(L_{700} - L_{650})/50 + (0.060[1 - SaO_2/100] + 0.010)H/80\} \times 100$$

όπου L_n : διορθωμένη απορρόφηση σε μήκος κύματος n , SaO_2 : index οξυγόνωσης αίματος και H : hemoglobin index.

$$H = [(L_{544} - L_{527.5})/16.5 - (L_{573} - L_{544})/29]100$$

$$Sa O_2 = [(L_{573} - L_{558.5})/14.5 - (L_{558.5} - L_{544})/14.5] \frac{5.1 \times 10^3}{H} + 42$$

Η αντιστοιχία των μηκών κύματος που επιλέχθηκαν φαίνεται παρακάτω:

Μήκη Κύματος Αλγορίθμου(nm)	Επιλεγμένα Μήκη Κύματος (nm)
527.5	520
544	540
558.5	560
573	580
650	640
700	700

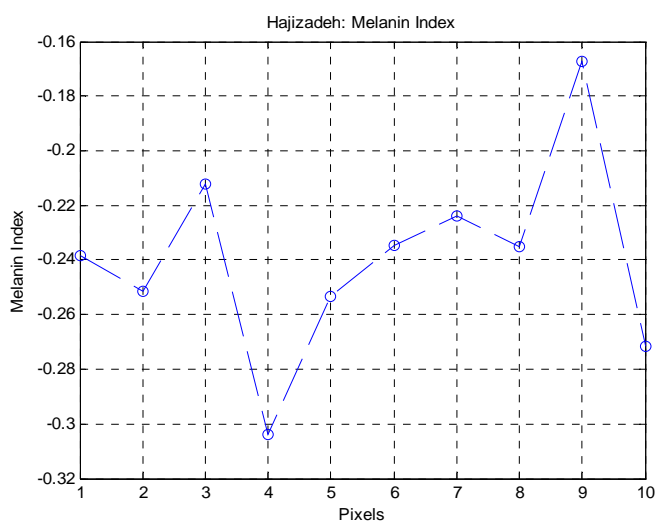
Αποτελέσματα 1^{ης} πειραματικής διαδικασίας

Ομοίως και εδώ, θεωρούμε ότι οι τιμές που εμφανίζει τόσο ο δείκτης της IHB όσο και ο SaO2 αποτελούν την αρχή της κλίμακάς τους, μιας και στην περίπτωση του σπίλου δεν υπάρχει αιμοσφαιρίνη παρά μόνο μελανίνη. Οι STD και CV των δεικτών είναι:

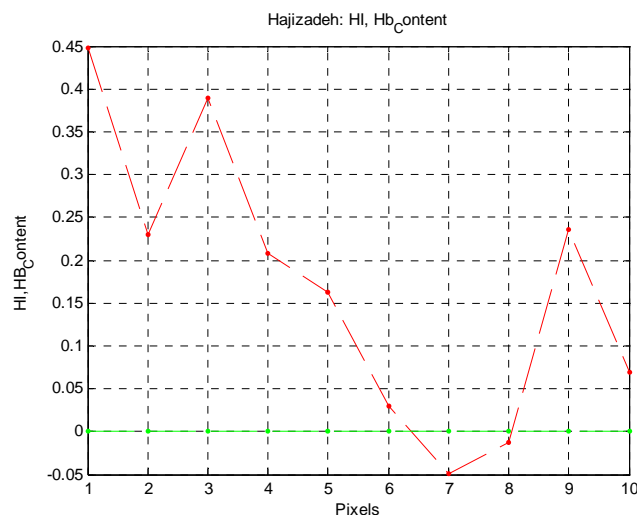
STD	MI	HI	SaO2	Hb_Content
σ	0.0361	0.1653	515.1460	6.2828e-005

CV (%)	MI	HI	SaO2	Hb_Content
CV	15.0812	96.6566	1.4419e+003	96.7315

Παρατηρούμε πως κανένας δείκτης δεν παρουσιάζει ομοιογένεια στο σύνολο των τιμών του.



Διάγραμμα 20: Melanin Index



Διάγραμμα 21: Αρχή κλίμακας HI, SaO2

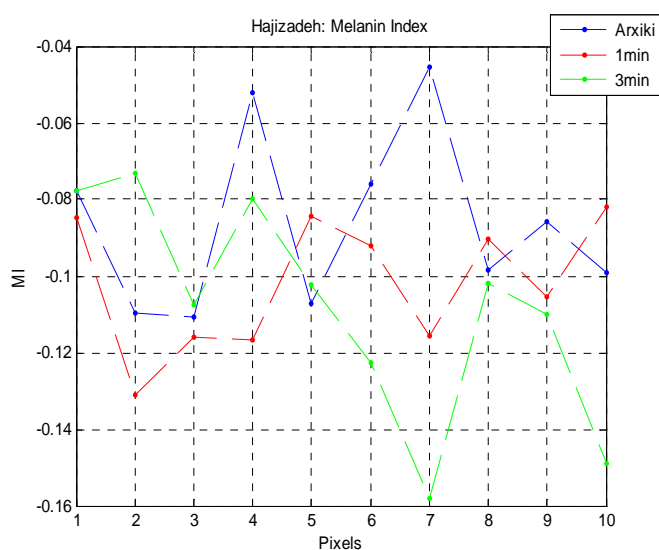
Αποτελέσματα 2^{ης} Πειραματικής Διαδικασίας

Οι συντελεστές STD-CV για κάθε δείκτη στις τρεις καταστάσεις φαίνονται παρακάτω:

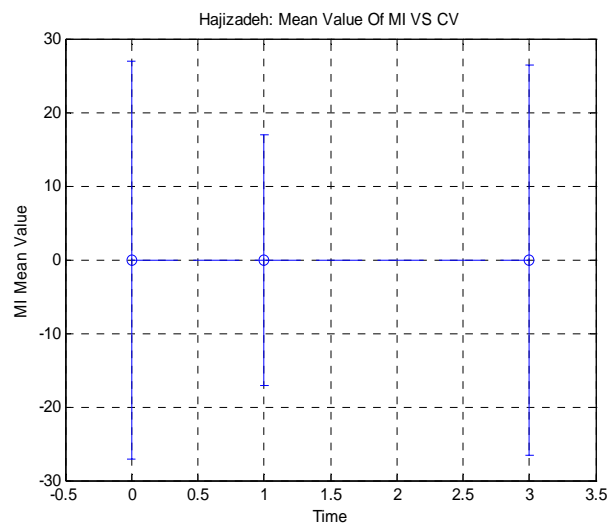
STD	Αρχική		1min		3min	
σ	HI	0.0843	HI	0.0531	HI	0.0786
	SaO2	129.0223	SaO2	82.2682	SaO2	344.3993
	MI	0.0234	MI	0.0173	MI	0.0287
	Hb_C	3.2023e-005	Hb_C	2.0167e-005	Hb_C	2.9887e-005

CV (%)	Αρχική		1min		3min	
CV	HI	37.8147	HI	41.7625	HI	61.6990
	SaO2	101.8542	SaO2	60.6991	SaO2	148.6360
	MI	27.0955	MI	16.9992	MI	26.5145
	Hb_C	37.8243	Hb_C	41.7893	Hb_C	61.7287

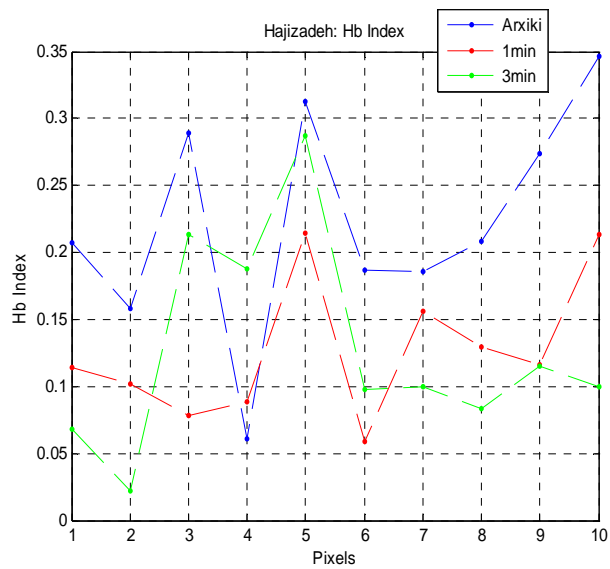
Ακολουθούν τα διαγράμματα των δεικτών σε σχέση με το χρόνο και το συντελεστή μεταβλητότητας.



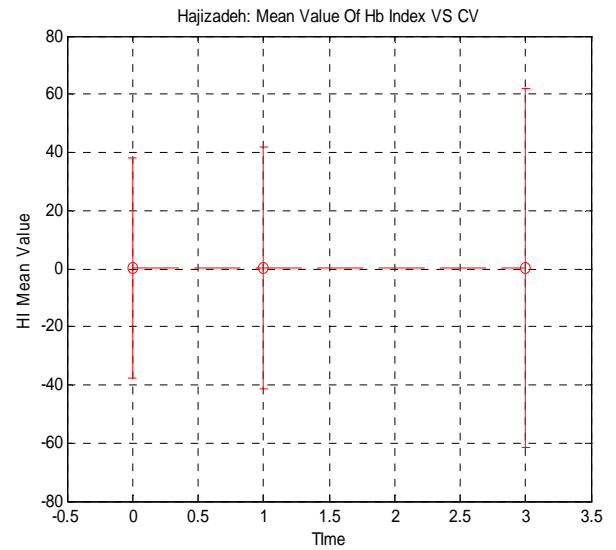
Διάγραμμα 22: Melanin Index



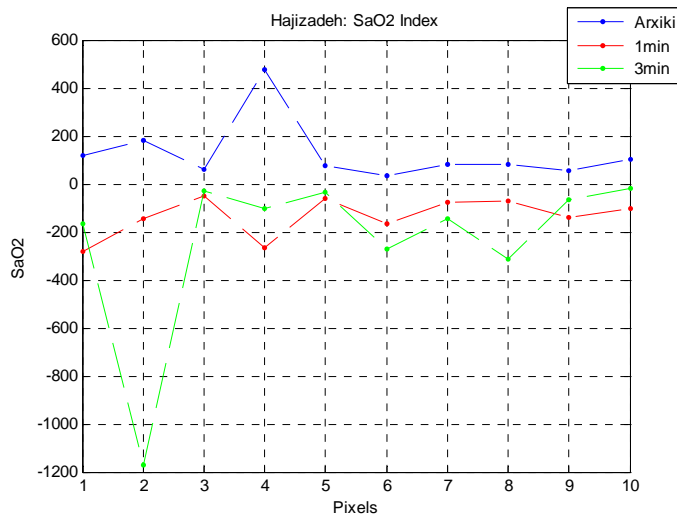
Διάγραμμα 23: MI- Coefficient Of Variation



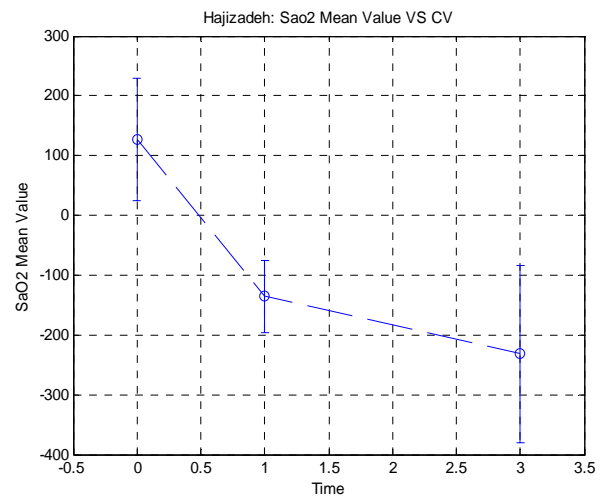
Διάγραμμα 24: Hb Index



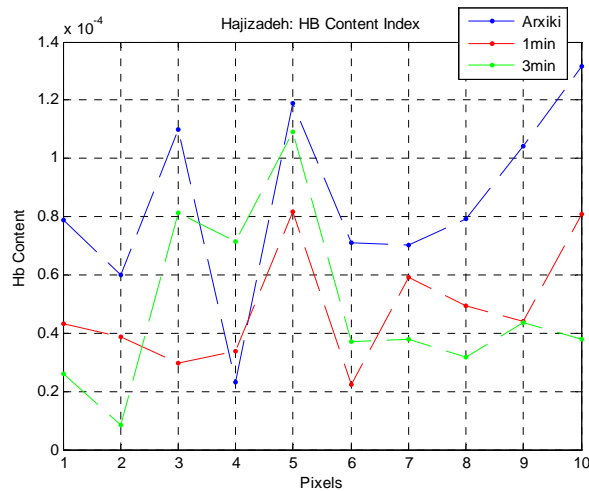
Διάγραμμα 25: HI- Coefficient Of Variation



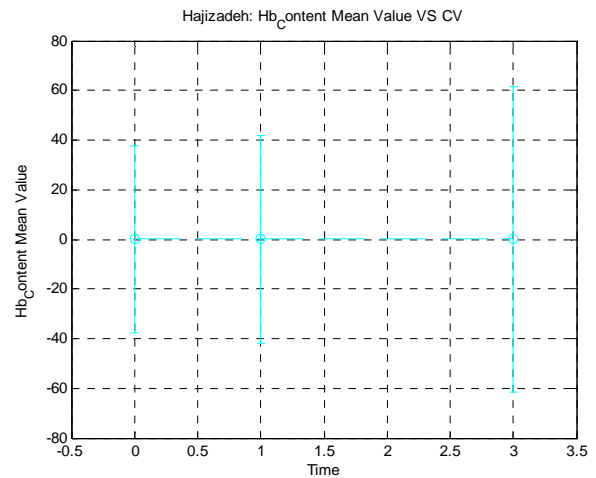
Διάγραμμα 26: SaO2 Index



Διάγραμμα 27: SaO2- Coefficient Of Variation



Διάγραμμα 28: Hb_Content Index



Διάγραμμα 29: Hb_C- Coefficient Of Variation

Παρατηρούμε ότι όλοι οι δείκτες παρουσιάζουν πολύ μεγάλες τιμές στο coefficient of variation. Ο δείκτης της αιμοσφαιρίνης από την αρχική κατάσταση μέχρι το 1^ο λεπτό μειώνεται σε όλα τα pixels και στο 3^ο λεπτό σε άλλα pixels αυξάνεται και σε άλλα μειώνεται. Ο oxygenation index, SaO₂, αν και έχει την αναμενόμενη συμπεριφορά ανιχνεύοντας την παρουσία deoxy-Hb, παρουσιάζει μεγάλη απόκλιση μεταξύ των τιμών του.

6^{ος} Αλγόριθμος Model: Υπολογίζει το δείκτη της μελανίνης από την παρακάτω σχέση:

$$MI = \log_{10}(R_{905nm}/R_{632nm}) \times 1000$$

Η αντιστοιχία των μηκών κύματος που επιλέχθηκαν φαίνεται παρακάτω:

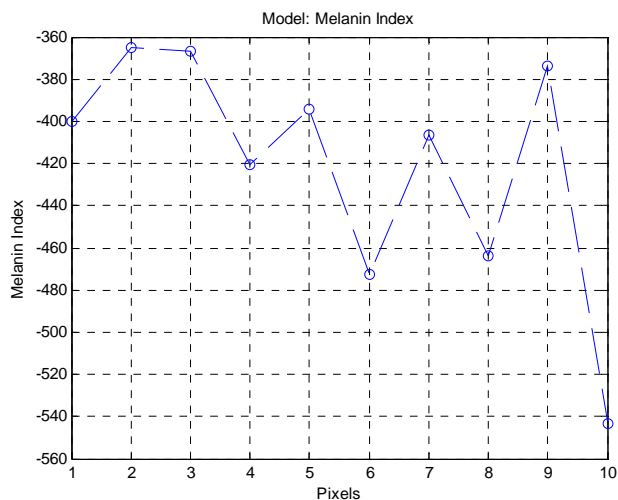
Μήκη Κύματος Αλγορίθμου(nm)	Επιλεγμένα Μήκη Κύματος (nm)
632	640
905	900

Αποτελέσματα 1^{ης} πειραματικής διαδικασίας

Οι συντελεστές standard deviation και coefficient of variation είναι:

STD	MI
σ	56.8706

CV	MI
CV	13.5229



Διάγραμμα 30: Melanin Index

Ομοίως και εδώ παρατηρείται απόκλιση μεταξύ των τιμών του δείκτη της μελανίνης.

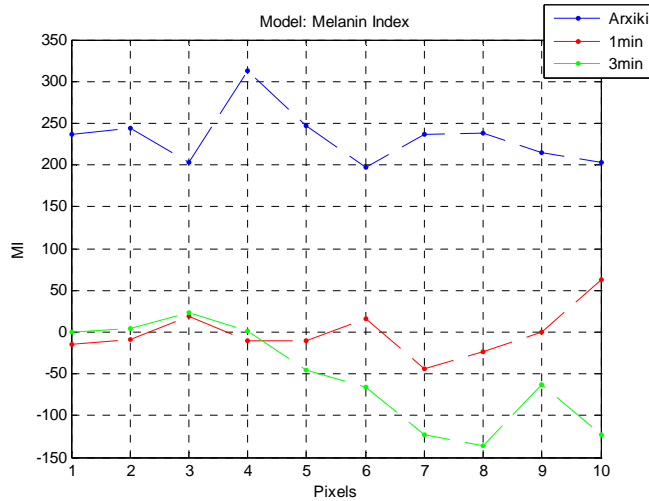
Αποτελέσματα 2^{ης} Πειραματικής Διαδικασίας

Οι συντελεστές στις τρεις καταστάσεις της πειραματικής διαδικασίας είναι:

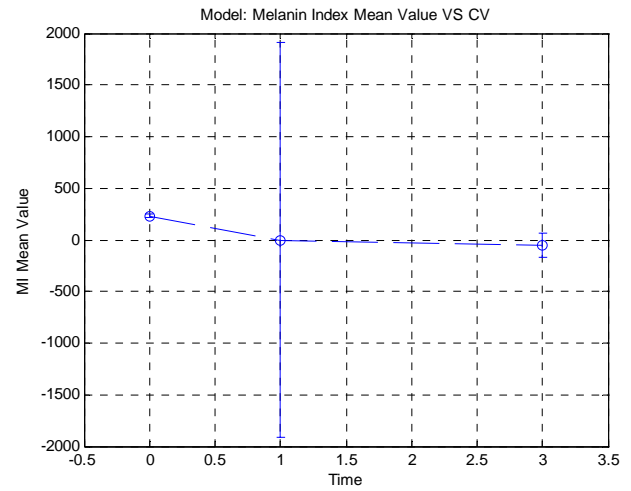
STD	Αρχική	1min	3min
σ	33.4850	28.7554	59.3699

CV	Αρχική	1min	3min
CV	14.3578	1.9126e+003	112.2875

Ομοίως και εδώ, παρατηρείται μεγάλη ανομοιογένεια στις τιμές του δείκτη της μελανίνης.



Διάγραμμα 31: Melanin Index



Διάγραμμα 32: MI-Coefficient Of Variation

7^{ος} Αλγόριθμος Shimada: Για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων, χρησιμοποιήσαμε τον διαχωρισμό του δέρματος που έκανε ο Meglinski (αιμοσφαιρίνη στο 3 και στο 6 στρώμα του δέρματος, μελανίνη στο 2 στρώμα) και τη σχέση που κατέληξε ο Shimada.

k	Layer	$d, \mu\text{m}$	μ_s, mm^{-1}	μ_a, mm^{-1}	g	n
1	Horny-tissue layer	20	100	0.8	0.9	1.5
2	Epidermis	80	60	0.15	0.85	1.34
3	Dermis with capillary loops	150	30	0.07	0.9	1.39
4	Dermis with surface plexus of vessels	80	35	0.1	0.95	1.4
5	Dermis	1500	25	0.05	0.76	1.39
6	Dermis with depth plexus of vessels	80	35	0.15	0.95	1.4
7	Hypodermic fat	6000	15	0.075	0.8	1.44

Πίνακας 4 : Διαχωρισμός Δέρματος κατά τον Meglinski

Από τους Shimada και Yamada χρησιμοποιήσαμε τη σχέση:

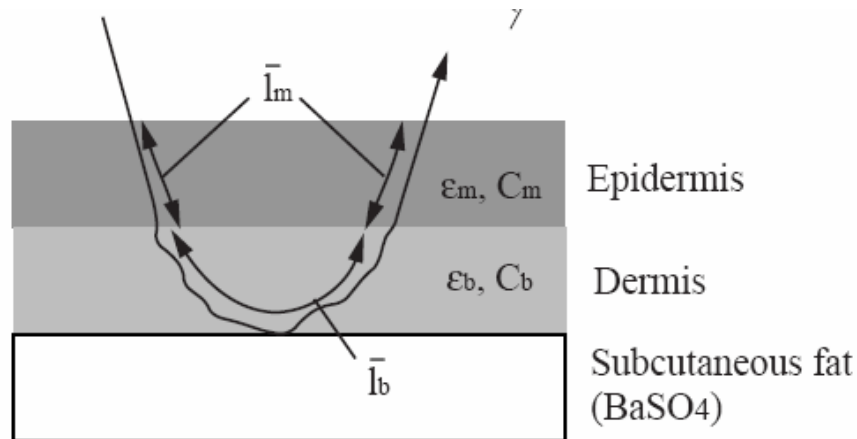
$$\Delta A_i(\lambda) = \varepsilon_i(\lambda) \Delta C_i \bar{l}_i(\lambda).$$

Βρίσκω τα ΔC_m , ΔC_{Hb} για την μελανίνη και την αιμοσφαιρίνη, αντίστοιχα, παίρνοντας τη διαφορά στη φασματική περιοχή 620-720 nm για την μελανίνη και 520-580 nm για την αιμοσφαιρίνη.

Θεωρήσαμε ότι:

- Melanin: $\epsilon_m(\lambda) = 1.7 \cdot 10^{12} \cdot \lambda^{3.33} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$ (Jacques)
 $I_m(\lambda) = 2 \cdot 80 \text{ (}\mu\text{m)}$ μιας και το living epidermis είναι 80 μm (Meglinski)

Θεωρούμε ότι η ακτινοβολία περνάει από το στρώμα, όπου περιέχεται η κάθε χρωμοφόρα, μία φορά όταν εισέρχεται στο δέρμα και μια φορά όταν εξέρχεται.



Εικόνα 32

Για το προσδιορισμό του αίματος υπολογίζουμε ξεχωριστά την ποσότητα που περιέχεται στο upper blood net dermis (80 μm) και στο deep blood net dermis (80 μm).

- Blood: $\epsilon_b(\lambda) = \epsilon_{Hb}(\lambda) + \epsilon_{Hb_2O}(\lambda)$ [31]
- $I_{b1}(\lambda) = 2 \cdot 80 \text{ (}\mu\text{m)}$
- $I_{b2}(\lambda) = 2 \cdot 80 \text{ (}\mu\text{m)}$

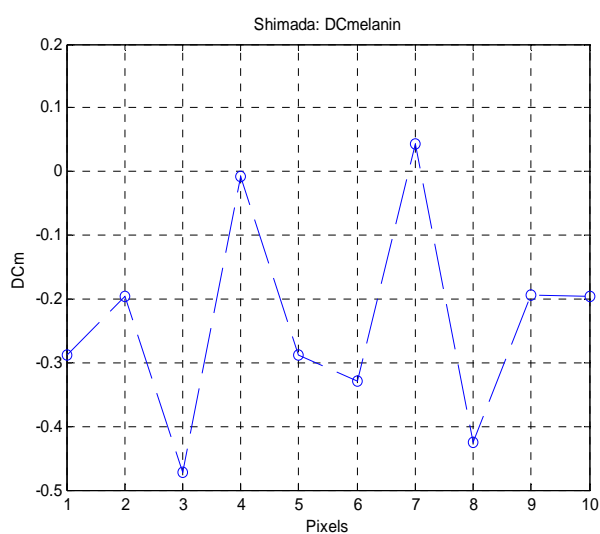
Θα τρέξουμε τον αλγόριθμο για το σπίλο, υπολογίζοντας συνολικά τη διαφορά που παρατηρείται στη συγκέντρωση της μελανίνης, στη συγκέντρωση του αίματος $\epsilon_b(\lambda) = \epsilon_{Hb}(\lambda) + \epsilon_{Hb_2O}(\lambda)$, αλλά και στην οξυγονωμένη και μη οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη.

Αποτελέσματα 1^{ης} πειραματικής διαδικασίας(Δ580-Δ520)

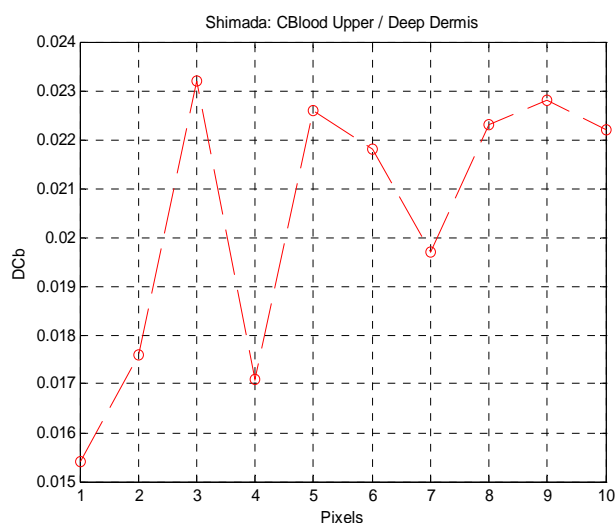
Οι συντελεστές απόκλισης και μεταβλητότητας για τις διαφορές των συγκεντρώσεων είναι:

STD	ΔC_m	ΔC_{b_upper}	ΔC_{b_deep}
σ	0.1638	0.0028	0.0028

CV (%)	ΔC_m	ΔC_{b_upper}	ΔC_{b_deep}
CV	69.5877	13.7618	13.7618



Διάγραμμα 33: DC_Melanin



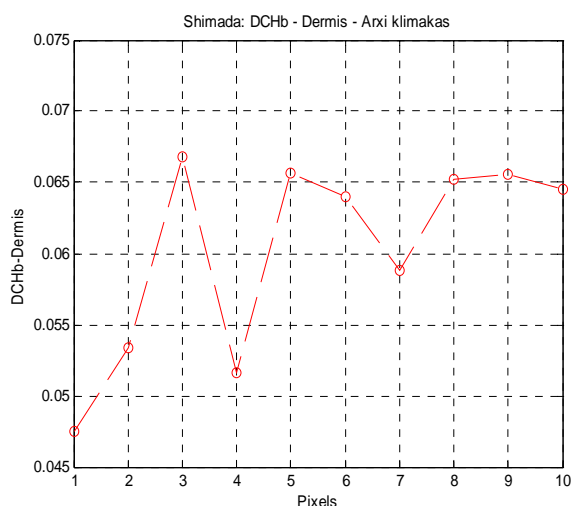
Διάγραμμα 34: DC_Blood Upper/Deep Dermis

Αναλυτικά οι διαφορές των συγκεντρώσεων όσο αφορά την oxy-Hb και την deoxy-Hb είναι:

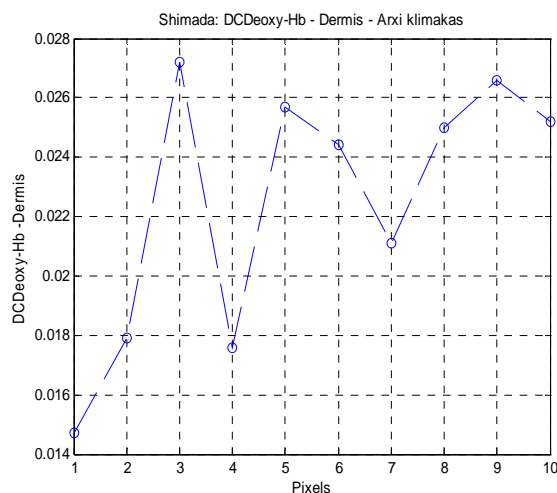
CV (%)	DC_Hb_upper	DC_Deoxy_upper	DC_Hb_deep	DC_Deoxy_deep
CV	11.6491	19.5211	11.6491	19.5211

STD	DC_Hb_upper	DC_Deoxy_upper	DC_Hb_deep	DC_Deoxy_deep
σ	0.0070	0.0044	0.0070	0.0044

Παρατηρούμε μεγάλη ανομοιογένεια στο σύνολο τιμών των δεικτών της μελανίνης και του αίματος.



Διάγραμμα 35: Αρχή Κλίμακας DCHb



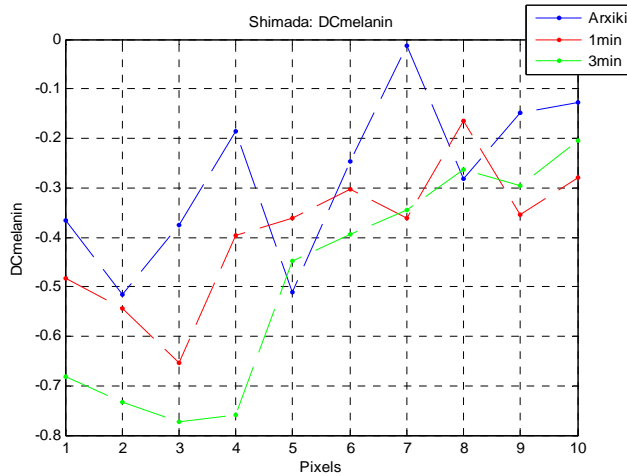
Διάγραμμα 36: Αρχή Κλίμακας DCDeoxyHb

Αποτελέσματα 2^{ης} Πειραματικής Διαδικασίας

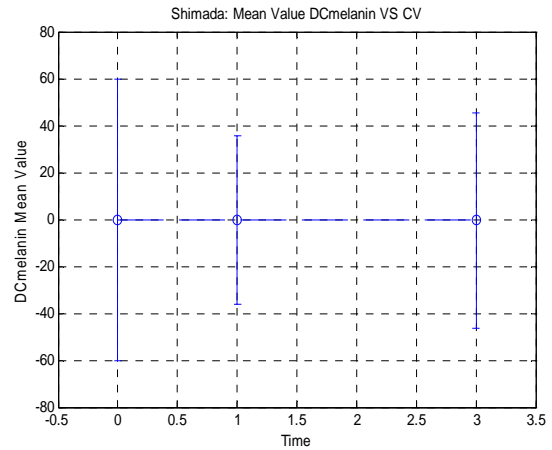
Τα standard deviation και coefficient of variation για τη δεύτερη πειραματική διαδικασία είναι:

STD	Αρχική		1min		3min	
σ	ΔC_m	0.1658	ΔC_m	0.1399	ΔC_m	0.2242
	ΔCb_upper	4.9933e-004	ΔCb_upper	7.6630e-004	ΔCb_upper	6.0516-004
	ΔCb_deep	4.9933e-004	ΔCb_deep	7.6630e-004	ΔCb_deep	6.0516-004

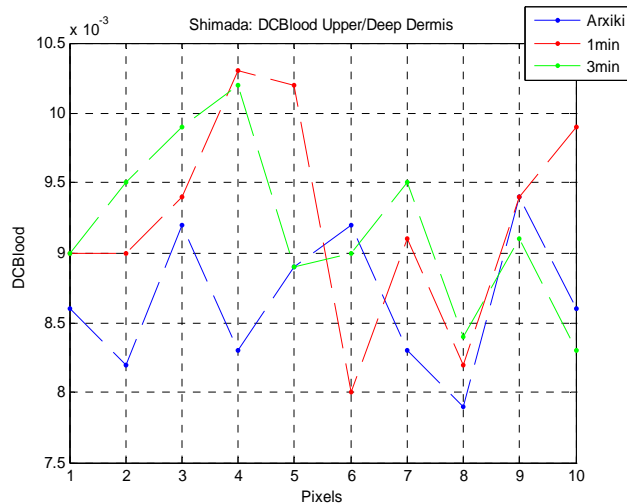
CV (%)	Αρχική		1min		3min	
CV	ΔC_m	59.8755	ΔC_m	35.8316	ΔC_m	45.7584
	ΔCb_upper	5.7660	ΔCb_upper	8.2844	ΔCb_upper	6.5922
	ΔCb_deep	5.7660	ΔCb_deep	8.2844	ΔCb_deep	6.5922



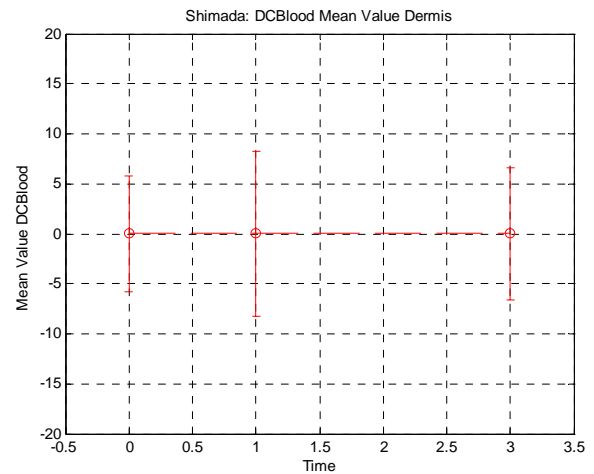
Διάγραμμα 37:DCMelanin



Διάγραμμα 38: DCMelanin – Coefficient Of Variation



Διάγραμμα 39: DCBLOOD Upper/Deep Dermis



Διάγραμμα 40: DCBLOOD- Coefficient Of Variation

Ο δείκτης της μελανίνης παρουσιάζει μεγάλη απόκλιση και στη 2^η πειραματική διαδικασία ενώ ο δείκτης του αίματος τόσο στο upper dermis όσο και στο deep dermis έχει μικρή τιμή στο coefficient of variation. Όσον αφορά την συμπεριφορά του δείκτη αίματος, παρατηρούμε πως στο 1^ο λεπτό παρουσιάζει μια αύξηση, η οποία ίσως οφείλεται στην αύξηση της τιμής της de-oxy Hb. Επειδή παίρνουμε τις διαφορές σε συνδυασμό με το δείκτη του αίματος, και όχι ξεχωριστά το δείκτη της oxy-deoxy Hb, δεν μπορούμε να βγάλουμε ασφαλή συμπεράσματα.

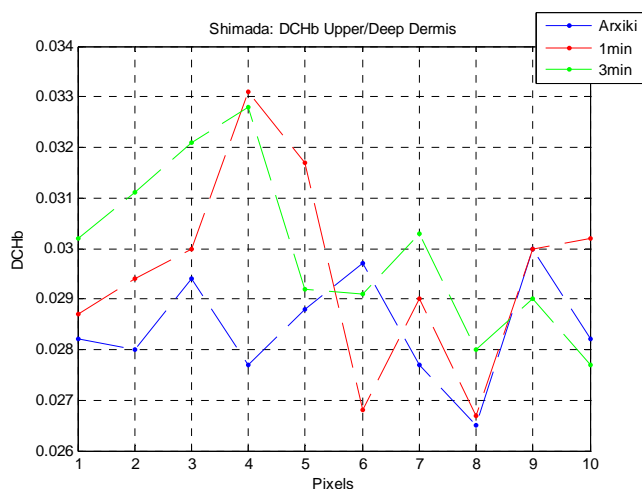
Για το λόγο αυτό, στη συνέχεια, θα υπολογίσουμε ξεχωριστά τις διαφορές στη συγκέντρωση για την οξυγονωμένη και μη οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη στο χόριο.

Οι συντελεστές απόκλισης και μεταβλητότητας για την οξυγονωμένη και μη οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη είναι:

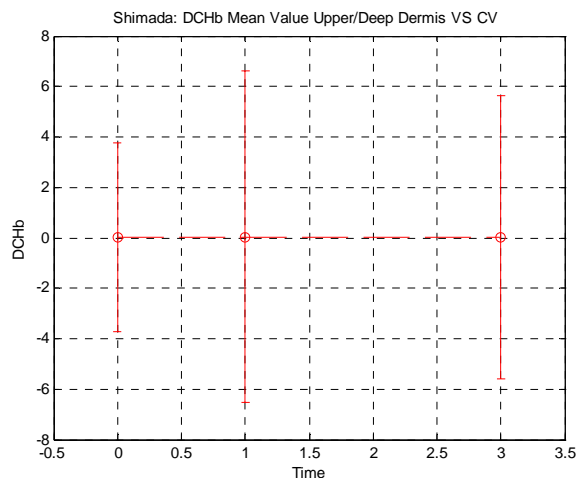
STD	Αρχική		1min		3min	
σ	ΔCHb	0.0011	ΔCHb	0.0019	ΔCHb	0.0017
	ΔCDeoxy	0.0010	ΔCDeoxy	0.0013	ΔCDeoxy	8.3964e-004

CV	Αρχική		1min		3min	
CV	ΔCHb	3.7525	ΔCHb	6.5706	ΔCHb	5.5987
	ΔCDeoxy	15.4160	ΔCDeoxy	17.1833	ΔCDeoxy	11.9098

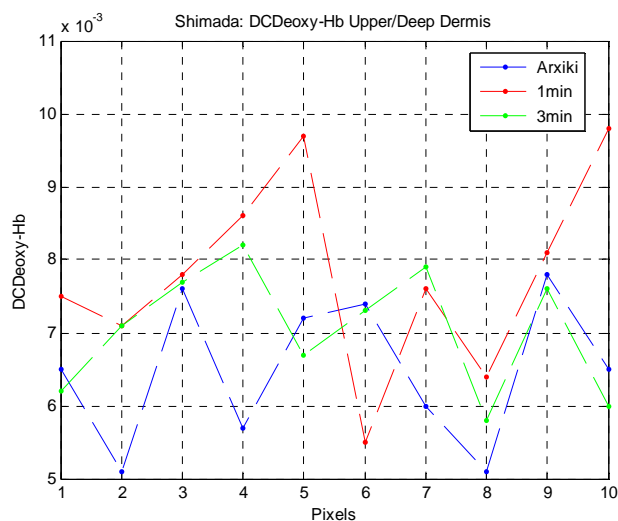
Η εξέλιξη των δεικτών φαίνεται στα ακόλουθα διαγράμματα.



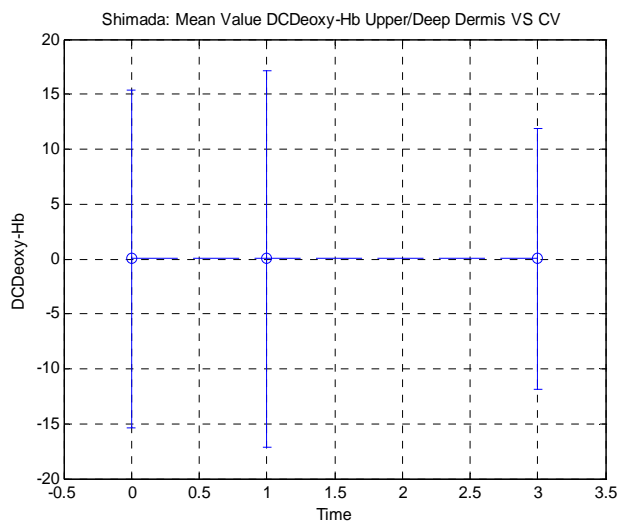
Διάγραμμα 41: DCHb



Διάγραμμα 42: DCHb-Coefficient Of Variation



Διάγραμμα 42: DCDeoxy-Hb



Διάγραμμα 43: DCDeoxy-Hb- Coefficient Of Variation

Παρατηρείται ομοιομορφία στο σύνολο τιμών της CHb σε αντίθεση με την Cdeoxy-Hb .

Αναλυτικά οι συντελεστές απόκλισης και μεταβλητότητας για κάθε μήκος κύματος παρατίθενται παρακάτω:

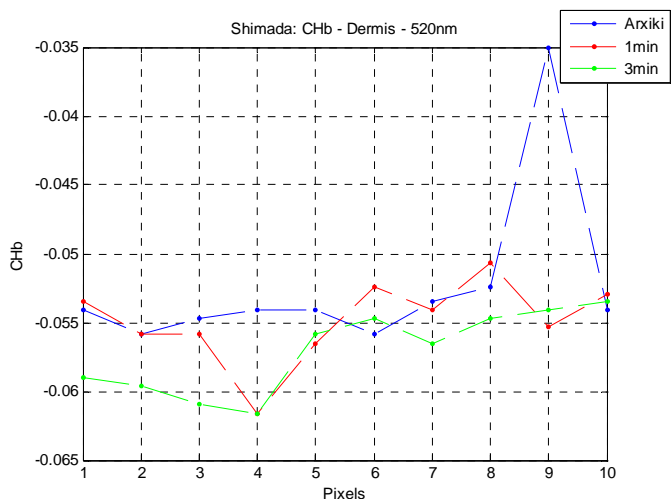
STD	Αρχική		1min		3min	
520nm σ	CHb	0.0062	CHb	0.0030	CHb	0.0030
	CDeoxy	8.8694e-004	CDeoxy	0.0023	CDeoxy	0.0023

CV (%)	Αρχική		1min		3min	
520nm CV	CHb	11.8062	CHb	5.4245	CHb	5.2283
	CDeoxy	2.1270	CDeoxy	5.4140	CDeoxy	5.2575

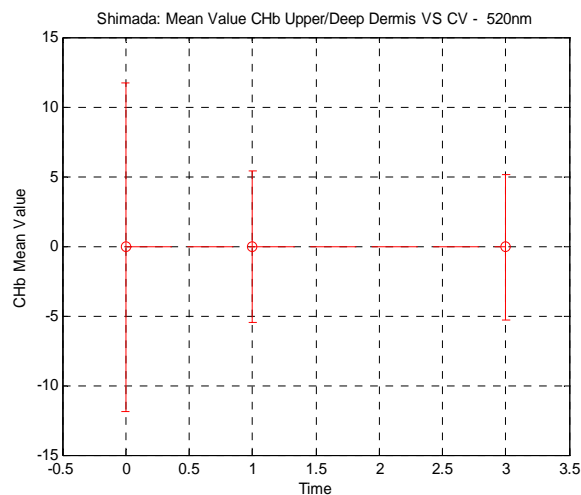
STD	Αρχική		1min		3min	
580nm σ	CHb	7.4237e-004	CHb	0.0015	CHb	0.0015
	CDeoxy	9.8522e-004	CDeoxy	0.0020	CDeoxy	0.0020

580nm CV	CHb	2.8553	CHb	6.0154	CHb	5.5454
	CDeoxy	2.7973	CDeoxy	5.9296	CDeoxy	5.5041

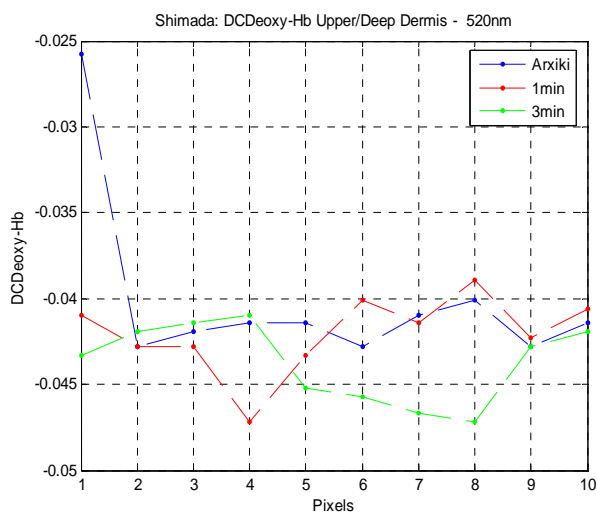
Οι γραφικές παραστάσεις των CHb και Cdeoxy – Hb φαίνονται παρακάτω κατά τη διάρκεια του πειράματος καθώς και οι coefficient of variation σε συνάρτηση με το χρόνο.



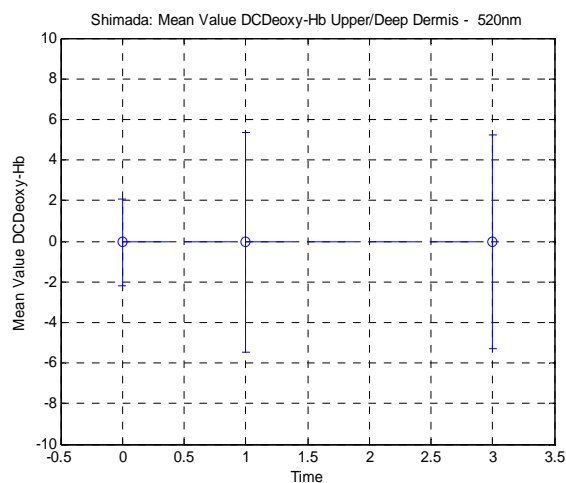
Διάγραμμα 44: CHb



Διάγραμμα 45: CHb- Coefficient Of Variation

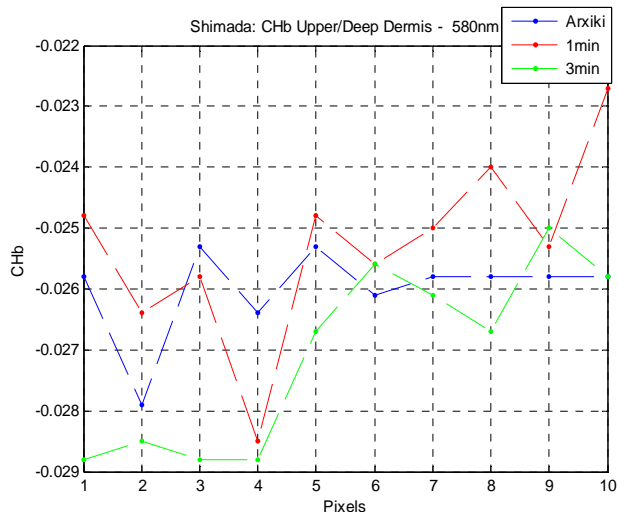


Διάγραμμα 46: Cdeoxy-Hb

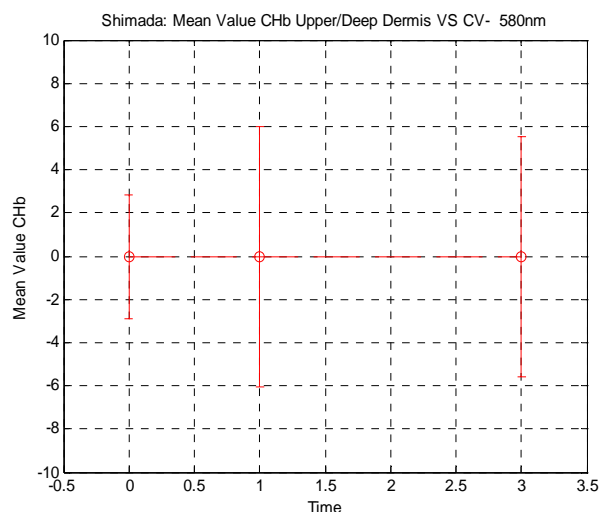


Διάγραμμα 47: Cdeoxy-Hb –Coefficient Of Variation

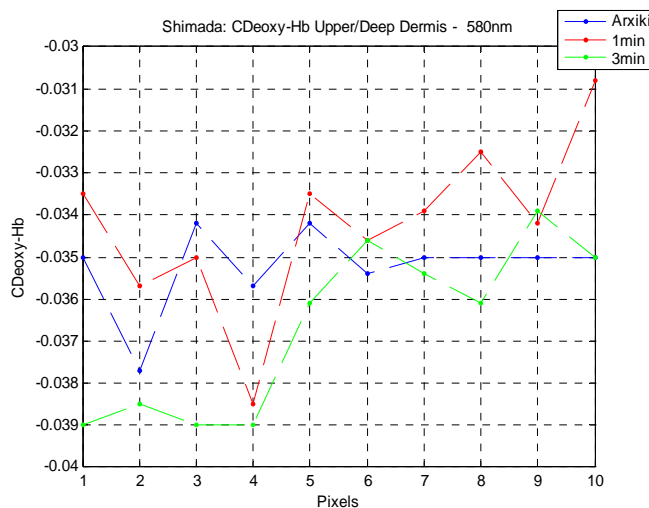
Στα 520 nm η Cdeoxy-Hb παρουσιάζει ομοιομορφία στο σύνολο των τιμών της σε αντίθεση με την CHb. Από την αρχική κατάσταση μέχρι το 1^ο λεπτό η Cdeoxy-Hb και η CHb σε άλλα pixel αυξάνεται και σε άλλα μειώνεται, όμοια συμπεριφορά έχουν και από το 1^ο λεπτό μέχρι το 3^ο.



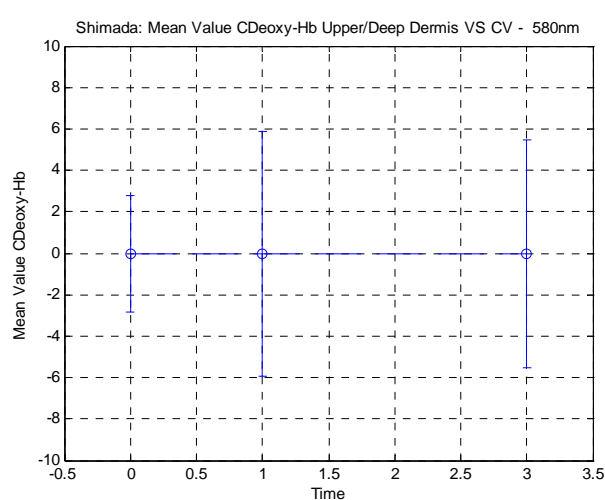
Διάγραμμα 48: CHb



Διάγραμμα 49: CHb- Coefficient Of Variation



Διάγραμμα 50: Cdeoxy-Hb

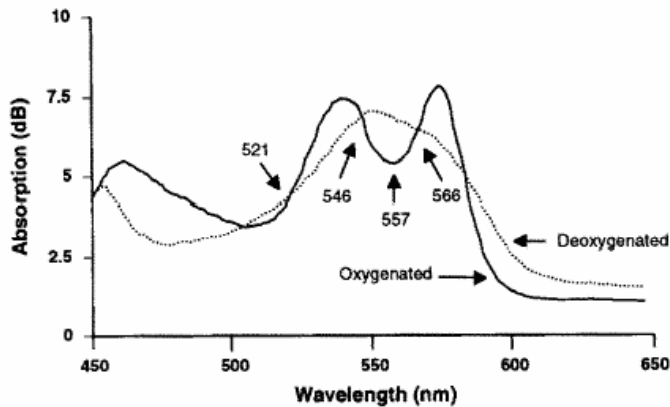


Διάγραμμα 51: Cdeoxy-Hb –Coefficient Of Variation

Στα 580nm τόσο η Cdeoxy-Hb όσο και η CHb παρουσιάζουν ομοιομορφία στο σύνολο των τιμών τους. Από την αρχική κατάσταση μέχρι το 1^ο λεπτό η Cdeoxy-Hb και η CHb σε όλα σχεδόν τα ριxel αυξάνονται, όμοια συμπεριφορά έχουν και από το 1^ο λεπτό μέχρι το 3^ο.

Με βάση τα παραπάνω, το μόνο που είμαστε σε θέση να πούμε είναι ότι στο τέλος του 3^{ου} min, στα 520 nm, οι τιμές της deoxy-Hb είναι μεγαλύτερες από αυτές της oxy-Hb κάτι το οποίο δεν

ισχύει για στα 580nm. Γενικά, για την εξέλιξη των τιμών της Oxy και Deoxy Hb, στη φασματική περιοχή που προτείνει ο Shimada, δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα. Αυτό οφείλεται στο ότι χρησιμοποιεί το μήκος κύματος 580 nm για τον υπολογισμό, και όπως φαίνεται παρακάτω, στη περιοχή αυτή παρατηρείται μεγάλη αλλαγή στο LIR και εισάγει μεγάλη αστάθεια στην τιμή στα 580 nm.



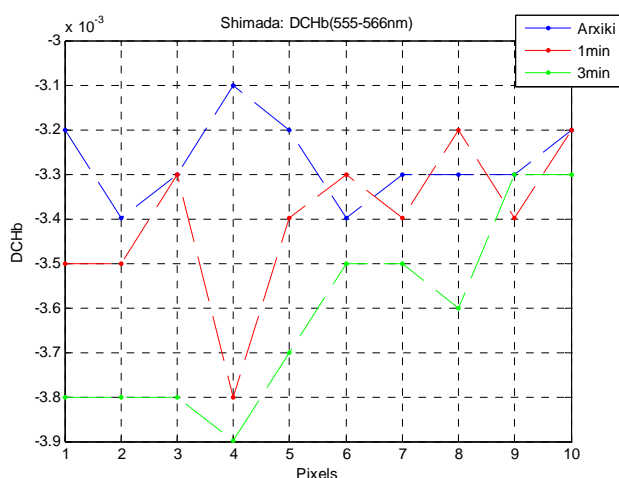
Εικόνα 33: Ισοβαστικά και ελάχιστο σημείο

Γνωρίζουμε πως όσο μεταβάλλεται ο βαθμός οξυγόνωσης της Hb τόσο μεταβάλλεται το σχήμα της καμπύλης της. Με την μείωση του βαθμού oxygenation το double peak της oxygenated Hb (542-577nm) μετατρέπεται σε single(555nm). Κατά τη διάρκεια της δεύτερης πειραματικής διαδικασίας, στις φασματικές μπάντες που επιλέξαμε, αναμένουμε με την πάροδο του χρόνου να:

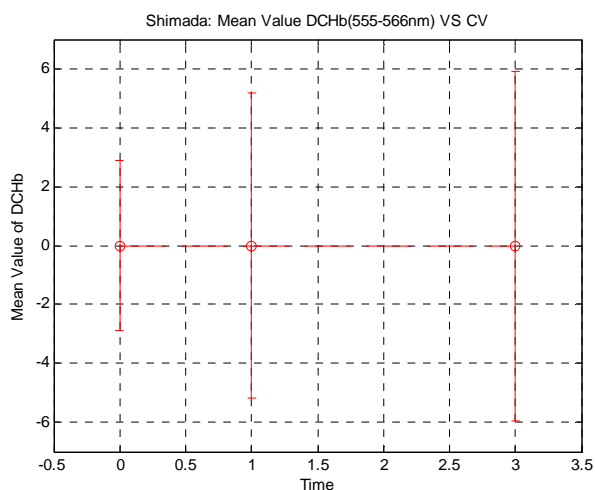
- αυξάνεται η ποσότητα της deoxy, η οποία υποδηλώνεται με την αύξηση το τοπικού της μέγιστου στα 555nm (single peak)
- μειώνεται η ποσότητα της oxy-Hb, με την μείωση της τιμής που αντιστοιχεί στα τοπικά μέγιστα της Hb, μιας διακόπτεται η ροή του αίματος.

OXY-Hb → Φασματική Περιοχή (555-566)

Το σημείο 566nm είναι isobestic point και με την πάροδο του χρόνου η τιμή του ανακλώμενης ακτινοβολίας στα 566 μειώνεται. Το σημείο 555nm αποτελεί τοπικό μέγιστο της deoxy-Hb και αυξάνεται όσο περνάει ο χρόνος. Άρα από τη διαφορά ΔCHb (555-566) περιμένουμε να μειώνεται όσο προχωρά η πειραματική διαδικασία, μιας και η τιμή στα 555 nm είναι μικρότερη από αυτή που αντιστοιχεί στα 566nm.



Διάγραμμα 52: DCHb



Διάγραμμα 53: DCHb-Coefficient Of Variation

Οι συντελεστές απόκλισης και μεταβλητότητας για τις διαφορές των συγκεντρώσεων είναι:

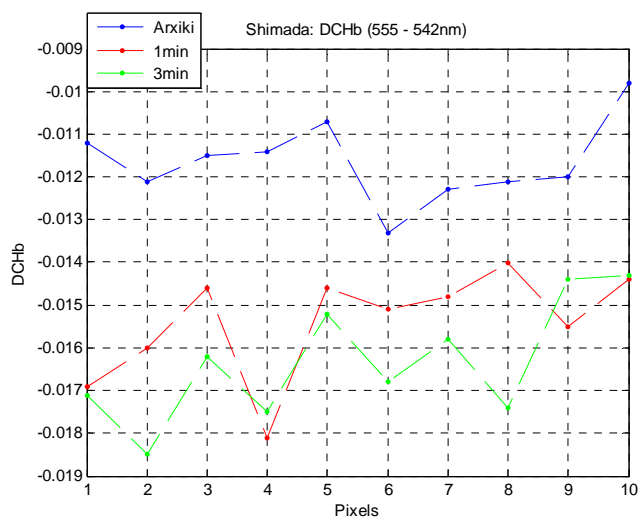
STD	Αρχική	1min	3min
σ	9.4868e-005	1.7638e-004	2.1499e-004

CV(%)	Αρχική	1min	3min
CV	2.9012	5.1877	5.9390

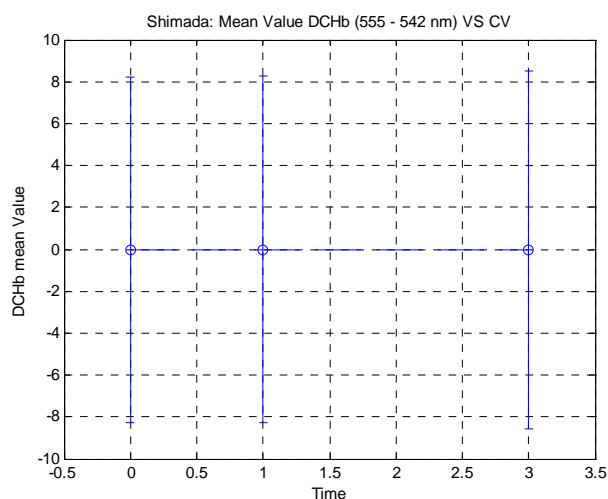
Από τις τιμές που προκύψανε, παρατηρούμε πως όσο περνάει η ώρα μικραίνει η διαφορά μεταξύ των σημείων του φάσματος που αντιστοιχούν στα 555 και 566nm (isobestic).

OXY-Hb→Φασματική Περιοχή (555-542)

Το μήκος κύματος 542nm αποτελεί τοπικό μέγιστο για την oxy-Hb. Με την εξέλιξη της πειραματικής διαδικασίας, η τιμή που αντιστοιχεί στο συγκεκριμένο μήκος κύματος θα πρέπει να μειώνεται ενώ η τιμή που αντιστοιχεί στα 555 nm θα πρέπει να αυξάνεται. Οπότε η διαφορά ΔCHb (555-542) αναμένουμε πως όσο περνάει ο χρόνος να μειώνεται, όπως φαίνεται και στη γραφική¹.



Διάγραμμα 54: DCHb



Διάγραμμα 55: DCHb-Coefficient Of Variation

Οι standard deviation και coefficient of variation για τις διαφορές των συγκεντρώσεων είναι:

CV(%)	Αρχική	1min	3min
CV	8.2423	8.2706	8.5336

STD	Αρχική	1min	3min
σ	9.5940e-004	0.0013	0.0014

Ομοίως και εδώ παρατηρείται μείωση της ΔCHb. Οι φασματικές μπάντες (555-566nm) και (555-542nm) ενδείκνυνται για τον προσδιορισμό, κατά προσέγγιση, της ΔCOxy-Hb.

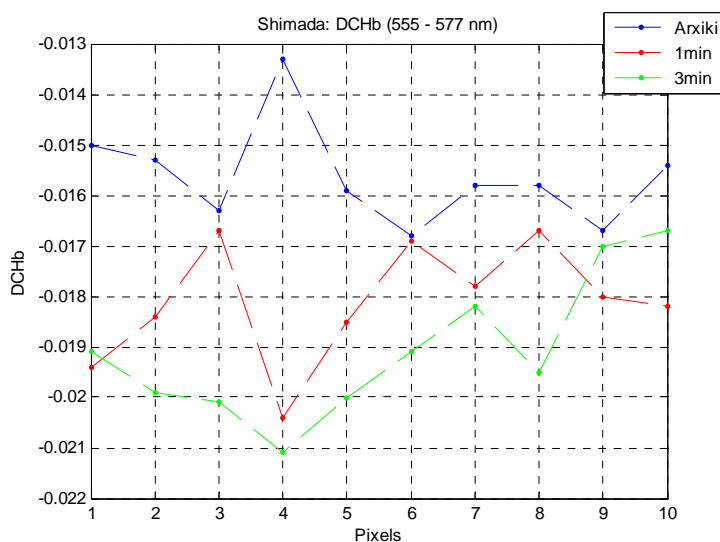
OXY-Hb→Φασματική Περιοχή (555-577)

Ομοίως, η διαφορά ΔCHb (555-577) αναμένουμε να μειώνεται μιας και στο σημείο 577nm είναι το δεύτερο τοπικό μέγιστο της oxy-Hb.

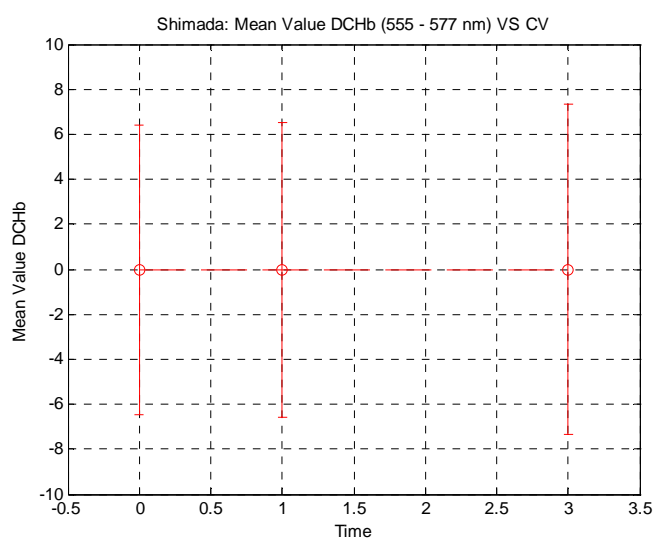
Οι συντελεστές απόκλισης και μεταβλητότητας είναι:

STD	Αρχική	1min	3min
σ	0.0010	0.0012	0.0014

CV(%)	Αρχική	1min	3min
CV	6.4267	6.5630	7.3291



Διάγραμμα 56: DCHb



Διάγραμμα 57: DCHb-Coefficient Of Variation

Παρατηρούμε μείωση στις διαφορές των συγκεντρώσεων από την αρχική κατάσταση μέχρι το 3^ο λεπτό και μεγάλη ομοιογένεια στο σύνολο των τιμών τους.

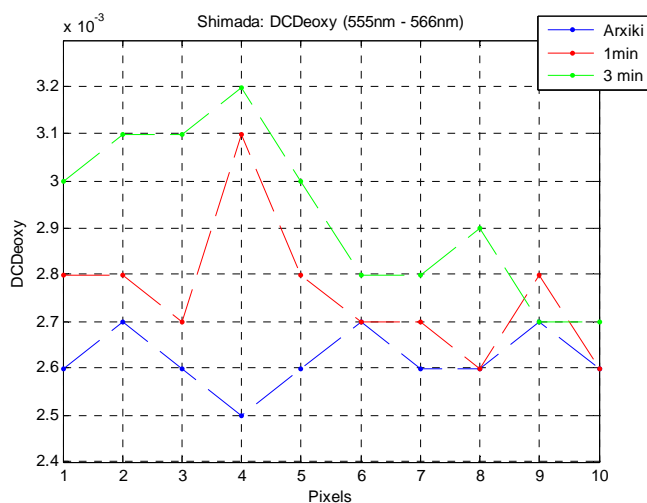
DEOXY-HB→Φασματική Περιοχή (555-566)

Στην περίπτωση της μη οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης, αυτό που αναμένουμε από τη ΔC είναι να αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου, μιας και έχουμε την μετατροπή του double peak της oxygenated Hb (542-577nm) σε single(555nm). Αν δούμε το φάσμα απορρόφησης της deoxy θα διαπιστώσουμε πως η C_{555} αυξάνεται ενώ η C_{566} μειώνεται (isobestic) και έτσι η διαφορά τους θα πρέπει να αυξάνεται.

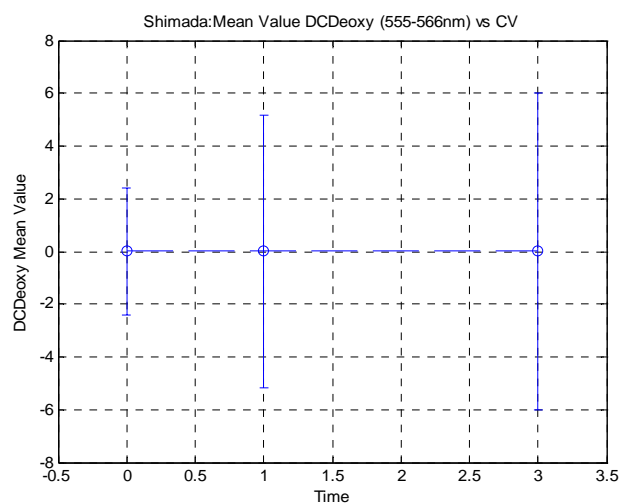
Οι συντελεστές απόκλισης και μεταβλητότητας για τις διαφορές των συγκεντρώσεων είναι:

STD	Αρχική	1min	3min
σ	6.3246e-005	1.4298e-004	1.7670e-004

CV(%)	Αρχική	1min	3min
CV	2.4140	5.1806	6.0307



Διάγραμμα 58: DCDeoxy-Hb



Διάγραμμα 59: DCDeoxyHb-Coefficient Of Variation

Παρατηρούμε ότι η ΔC αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου, ανιχνεύοντας έτσι την παρουσία της deoxy-Hb, και σε συνδυασμό με την μεγάλη ομοιομορφία στο σύνολο των τιμών της, καθιστά τη φασματική περιοχή 555-566nm κατάλληλη για τον προσδιορισμό της ΔCDeoxy-Hb.

Άρα, κατάλληλες φασματικές περιοχές για τον προσδιορισμό της:

- **Oxy-Hb: 555-566 nm, 555-542 nm, 555-577m**
- **Deoxy-Hb: 555-566 nm**

Ακολουθούν οι συμπερασματικοί πίνακες οι οποίοι παραθέτουν την εξέλιξη και την παρουσία ή όχι ομοιομορφίας των τιμών των δεικτών του κάθε αλγορίθμου.

Αλγόριθμοι	Μήκη Κύματος(nm)	Δείκτες	1 ^η Διαδικασία CV	2 ^η Διαδικασία CV
Dawson	640-660-700	MI	CV_MI =17.8%	CV_MI =9.3-21.4%
Feather	520-540-560-580	IHB-IOX	CV_IHB=105% CV_IOX=152%	CV_IHB=33%-71% CV_IOX=85%-205%
Ferguson	520-540-560-580	IHB-IOX	CV_IHB=92% CV_IOX=2.7*10 ³ %	CV_IHB=37%-61% CV_IOX=58%-145%
Wagner	640-660-680	MI	CV_MI=0.84%	CV_MI=0.9%-1.96%
Dolotov	640-660-680-700	MI	CV_MI=40.3%	CV_MI=11%-53%
Hajizadeh	520-540-560- 580-640-700	MI-HI- SaO2- Hb_Content	CV_MI=15% CV_HI=96% CV_SaO2=1.44*10 ³ % CV_Hb_Content=96%	CV_MI=16%-27% CV_HI=37%-41% CV_SaO2=60%-101% CV_Hb_Content=37%- 61%
Model	640-900	MI	CV_MI=13%	CV_MI=14%-1912%

Αλγόριθμοι	Συμπεριφορά: 1 ^η Διαδικασία	Συμπεριφορά: 2 ^η Διαδικασία	Κατάλληλος για τον προσδιορισμό της χρωμοφόρας
Dawson	MI: Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών του	MI: Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών του	OXI
Feather	IHB-IOX: Αρχή κλίμακας και για τους δύο δείκτες Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών τους	IHB: Μείωση στο 1ο min IOX: Αρνητικές τιμές στο 1ο-3ο min → Ανίχνευση Deoxy-Hb Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών τους	OXI
Ferguson	IHB-IOX: Αρχή κλίμακας και για τους δύο δείκτες Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών τους	IHB: Μείωση στο 1ο min IOX: Αρνητικές τιμές στο 1ο-3ο min → Ανίχνευση Deoxy-Hb Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών τους	OXI
Wagner	MI: Μεγάλη ομοιογένεια το σύνολο των τιμών του	MI: Μεγάλη ομοιογένεια το σύνολο των τιμών του	NAI
Dolotov	MI: Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών του	MI: Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών του	OXI
Hajizadeh	MI: Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών του HI-SaO2-Hb_Content: Αρχή κλίμακας δεικτών Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών τους	MI: Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών του HI-SaO2-Hb_Content: Αναμενόμενη συμπεριφορά → Ανίχνευση Deoxy-Hb Μεγάλες αποκλίσεις τιμών	OXI
Model	MI: Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών του	MI: Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών του	OXI

Αλγόριθμος Shimada	Μήκη Κύματος(nm)	Δείκτες	1 ^η Διαδικασία CV	2 ^η Διαδικασία CV
1 ^η επιλογή ΔC520-580	520-580	ΔCm-ΔCb- ΔCHb-ΔCdeoxy- CHb-Cdeoxy	CV_ ΔCm =69% CV_ ΔCb=13,7% CV_ ΔCHb= 11.6% CV_ ΔCdeoxy=19.5%	CV_ ΔCm=35-45% CV_ ΔCb=5.7%-8% CV_ ΔCHb=3.7%-6.5% CV_ ΔCdeoxy=11%-15%
2 ^η επιλογή ΔC555-566	560-560	ΔCHb-ΔCdeoxy		CV_ ΔCHb=2.9%-5.9% CV_ ΔCdeoxy=2.4%-6%
3 ^η επιλογή ΔC555-542	540-560	ΔCHb		CV_ ΔCHb=8.2%-8.5%
4 ^η επιλογή ΔC555-577	560-580	ΔCHb		CV_ ΔCHb=8.2%-8.5%

Αλγόριθμος Shimada	Συμπεριφορά: 1 ^η Διαδικασία	Συμπεριφορά: 2 ^η Διαδικασία	Καταλληλότητα
1 ^η Επιλογή ΔC520-580	ΔCm: Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών του ΔCb-ΔCHb-ΔCdeoxy: Αρχή κλίμακας συγκεντρώσεων Μεγάλη ανομοιογένεια το σύνολο των τιμών τους	ΔCm: Μεγάλη ανομοιογένεια στο σύνολο των τιμών του ΔCb-ΔCHb: Μεγάλη ομοιογένεια στο σύνολο των τιμών τους ΔCdeoxy: Ανομοιογένεια στο σύνολο των τιμών της CHb: 520nm- ανομοιογένεια 580nm- ομοιογένεια Cdeoxy: 520nm- ομοιογένεια 580nm- ομοιογένεια Δεν δύναται να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα	OXI
2 ^η Επιλογή ΔC555-566	-----	ΔCHb: Μεγάλη ομοιογένεια το σύνολο των τιμών της – Αναμενόμενη συμπεριφορά ΔCdeoxy: Μεγάλη ομοιογένεια το σύνολο των τιμών της – Αναμενόμενη συμπεριφορά	NAI
3 ^η Επιλογή ΔC555-542	-----	ΔCHb: Μεγάλη ομοιογένεια το σύνολο των τιμών της – Αναμενόμενη συμπεριφορά	NAI
4 ^η επιλογή ΔC555-577	-----	ΔCHb: Μεγάλη ομοιογένεια το σύνολο των τιμών της – Αναμενόμενη συμπεριφορά	NAI

Συμπερασματικά, λοιπόν καταλήγουμε ότι για τον υπολογισμό της μελανίνης κατάλληλος αλγόριθμος είναι αυτός της **Wagner**, ενώ για τον προσδιορισμό της αιμοσφαιρίνης (oxy-deoxy) είναι του **Shimada** παίρνοντας τις διαφορές των συγκεντρώσεων στις φασματικές περιοχές 555-566nm, 555-542nm και 555-577m.

Το γεγονός ότι μέσα από τις πειραματικές διαδικασίες που ακολουθήσαμε καταλήξαμε στο ότι είναι δυνατή η προσέγγιση των χρωμοφόρων αποτελεί σημαντικό επίτευγμα για την διάγνωση μιας σειράς ασθενειών.

Ο προσδιορισμός της οξυγονωμένης και μη οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης καθιστά δυνατή την ανίχνευση θρομβώσεων στο αίμα. Ο θρόμβος συμβάλλει στη στένωση των τοιχωμάτων των αρτηριών εμποδίζοντας την ομαλή ροή του αίματος και μειώνοντας το οξυγόνο αίματος (2^η πειραματική διαδικασία). Εάν στα ήδη στενευμένα αγγεία περάσει θρόμβος αίματος (πήγμα αίματος), τότε υπάρχει μεγάλος κίνδυνος θρόμβωσης, που οδηγεί σε έμφραγμα ή εγκεφαλικό επεισόδιο.

Τέλος, με τον προσδιορισμό της μελανίνης μπορεί να πραγματοποιηθεί ο χαρακτηρισμός του σπίλου σε συνδεσμικό, μεικτό, χοριακό και δυσπλαστικό, να ανιχνευτεί το ανατομικό επίπεδο διήθησης (Επίπεδα κατά Clark), δηλαδή σε ποια στρώματα του δέρματος περιέχεται η μελανίνη, και να διαγνωστεί αν πρόκειται για μελάνωμα ή όχι.

Βιβλιογραφία

- [1] GEORGIOS N. STAMATAS, BARBARA Z. ZMUDZKA, NIKIFOROS KOLLIAS and JANUSZ Z. BEER, Non-Invasive Measurements of Skin Pigmentation In Situ, PIGMENT CELL RES 17: 618–626. 2004
- [2] Ela Claridge, Symon Cotton, Per Hall, Marc Moncrieff: From colour to tissue histology: Physics-based interpretation of images of pigmented skin lesions, Medical Image Analysis 7 (2003) 489–502
- [3] J B Dawson, D J Barker, D J Ellis, E Grassamt, J A Cotterill, G W Fisher and J W Feather: A theoretical and experimental study of light absorption and scattering by in vivo skin, Phys. Med. Biol., 1980, Vol. 25. No. 4, 695-709. Printed in Great Britain
- [4] Brian Riordan, MEMBE; Stephen Sprigle, Phd, PT; Maureen Linden, MSBME: Testing the validity of erythema detection algorithms, Journal of Rehabilitation Research and Development Vol.38 No. 1, January/February 2001, Pages 13-22
- [5] J W Feather, M Hajizadeh -Saffar, G Leslie and J B Dawson: A portable scanning reflectance spectrophotometer using visible wavelengths for the rapid measurement of skin pigments, Phys. Med. Biol., 1989, Vol. 34, No 7, 807-820. Printed in the UK
- [6] M. Ferguson-Pell and S. Hagsiawa : An empirical technique to compensate for melanin when monitoring skin microcirculation using reflectance spectrophotometry, Med. Eng. Phys., 1995, Vol. 17, pp 104-110, March
- [7] M Hajizadeh-Saffar, J W Feather and J B Dawson: An investigation of factors affecting the accuracy of *in vivo* measurements of skin pigments by reflectance spectrophotometry, Phys. Med. Biol., 1990, Vol. 35, No 9, 1301-1315. Printed in the UK
- [8] B L Diffey and P M Fan: Quantitative aspects of ultraviolet erythema, Clin. Phys. Physiol. Meas., 1991, Vol. 12, No. 4, 311-325. Printed in the UK
- [9] Kollias N, Baqer A. Spectroscopic characteristics of human melanin in vivo. J Invest Dermatol 1985; 85: 38–42
- [10] Kollias N, Baqer A. On the assessment of melanin in human skin in vivo. Photochem Photobiol 1986; 43: 49–54
- [11] L.E. Dolotov, Yu.P. Sinichkin, V.V. Tuchin, S.R. Utz, G.B. Altshuler, and I.V. Yaroslavsky: Design and Evaluation of a Novel Portable Erythema-Melanin-Meter, Lasers in Surgery and Medicine 34:127 – 135 (2004)

- [12] Igor V Meglinski and Stephen J Matcher: Quantitative assessment of skin layers absorption and skin reflectance spectra simulation in the visible and near-infrared spectral regions, *Physiol. Meas.* 23 (2002) 741–753
- [13] M Shimada, Y Yamada, M Itoh⁴ and T Yataga⁴: Melanin and blood concentration in a human skin model studied by multiple regression analysis: assessment by Monte Carlo simulation, *Phys. Med. Biol.* 46 (2001) 2397–2406
- [14] M Shimada, Y Yamada, M Itoh and T Yatagai: Melanin and blood concentration in human skin studied by multiple regression analysis: experiments, *Phys. Med. Biol.* 46 (2001) 2385–2395
- [15] M. MONCRIEFF, S. COTTON, E. CLARIDGE AND P. HALL: Clinical Investigations: Spectrophotometric intracutaneous analysis: a new technique for imaging pigmented skin lesions, *British Journal of Dermatology* 2002; 146: 448–457.
- [16] I.V. Meglinski, S.J. Matcher: Computer simulation of the skin reflectance spectra, *Computer Methods and Programs in Biomedicine* 70 (2003) 179_ 186
- [17] JENNIFER K. WAGNER, CELINA JOVEL, HEATHER L. NORTON, ESTEBAN J. PARRA, MARK D. SHRIVER: Comparing Quantitative Measures of Erythema, Pigmentation and Skin Response using Reflectometry, *PIGMENT CELL RES* 15: 379–384. 2002
- [18] DANIEL L. FARKAS, DOROTHEA BECKER: Applications of Spectral Imaging: Detection and Analysis of Human Melanoma and Its Precursors, *PIGMENT CELL RES* 14: 2–8. 2001
- [19] Morton C A and MacKie R M (1998): Clinical accuracy in the diagnosis of cutaneous malignant melanoma *Br. J. Dermatol.* 138 283–7
- [20] Cascinelli N, Ferrario, M, Bufalino R, Zurrida S, Galimberti V, Maseroni L, Bartoli C, Clemente C.: Results obtained by using a computerized image analysis system designed as an aid to diagnosis of cutaneous melanoma. *Melanoma Res* (1992) , 2: 163-170
- [21] Takiwaki Hirotsuku: Measurement of Skin Color: practical application and theoretical considerations, *J. Med. Invest.* 44:121-126, 1998
- [22] Diffey BL, Oliver RJ, Farr PM: A portable instrument for the quantifying erythema induced by ultraviolet radiation, *Br J Dermatol* 111:663-672, 1984

- [23] Nagy I, Murphy GF, Mancianti ML, Whitaker D, Herlyn M. Phenotypes and interactions of human melanocytes and keratinocytes in an epidermal reconstruction model. *Lab Invest.* (1990); 62:314-23
- [24] Atmazoglou B, Giova D, and Ouzounoglou (2001): Development of spectral imaging fluorescence techniques for cancer detection
- [25] Anderson R and Parrish J (1981). The optics of human skin *J. Invest. Dermatol.* 77 13–19
- [26] Barlow R J (1987) *Statistics—A Guide to the Use of Statistical Methods in the Physical Sciences* (Chichester: Wiley)
- [27] *Atlas of Tumor Pathology. Melanocytic Tumors of the Skin*, D. Elder, G. Murphy
- [28] Sabine Van Huffel: *Total Least Squares and Errors-in-Variables Modeling: Problem formulation, Algorithms, and Applications*
- [29] Robertson AR: The CIE 1976 color difference formulae. *COLOR Res. Appl* 2:7-11,1977
- [30] David Polsky: *The ABCDEs of Melanoma: an Evolving Concept*
- [31] W. B. Gratzner, Med. Res. Council Labs, N. Kollias, Wellman Laboratories, Harvard Medical School, Boston

