

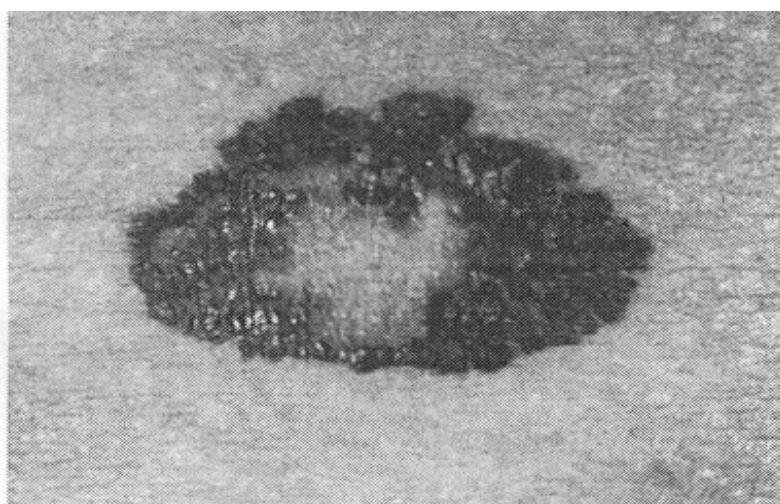
# ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ & ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ Η/Υ



## Μεταπτυχιακή Διατριβή

**‘Απεικονιστική φασματοσκοπία προκαρκινικών  
αλλοιώσεων του δέρματος’**



**Παπαδάκης Εμμανουήλ**

Εξεταστική Επιτροπή : Μπάλας Κωνσταντίνος (Επιβλέπων)

Καλαϊτζάκης Κωνσταντίνος

Ζερβάκης Μιχάλης

Χανιά, Οκτώβριος 2005

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

---

Με την ενασχόληση μου με την απεικονιστική φασματοσκοπία και τις εφαρμογές της στην ιατρική μια νέα «εκκολαπτόμενη» τεχνολογία, παρουσιάστηκαν διάφορα προβλήματα τα οποία δεν θα είχαν λυθεί χωρίς την αμέριστη συμπαράσταση και βοήθεια κάποιων ανθρώπων που νοιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω.

Καταρχήν θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου Κωνσταντίνο Μπάλα, που μου εμπιστεύτηκε ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα μεταπτυχιακής διατριβής, για την συνεχή υποστήριξη και συμπαράσταση που μου παρείχε σε όλες τις δυσκολίες που παρουσιάστηκαν (και που ήταν πολλές). Η ικανότητα επίλυσης προβλημάτων που ανέκυπταν καθώς και οι συνεχείς ιδέες που μοιραζόταν μαζί μου ήταν ο πιο σημαντικός οδηγός για την ολοκλήρωση της εργασίας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές Γεώργιο Σταυρακάκη και Μιχαήλ Ζερβάκη για την συμμετοχή τους στην επιτροπή της μεταπτυχιακής διατριβής.

Ειδικές ευχαριστίες θα πρέπει να δοθούν σε κάποιους ανθρώπους που με βοήθησαν σε διαφορετικές φάσεις της διατριβής. Το Πανεπιστήμιο Ηρακλείου για τον χώρο που πρόσφερε για την τέλεση των πειραμάτων την καθηγήτρια Ιατρικής κ.α Τόσκα και την παθολογοανατόμο κ.α Γιαννικάκη για τις ιατρικές πληροφορίες που μου παρείχαν.

Ακόμα θα ήθελα να ευχαριστήσω τους Αντώνιο Μακρή και Σωτήρη Καπράνο με τους οποίους συνεργάστηκα στο μοντέλο ανάπτυξης αλλοιώσεων στα ποντίκια, στις μεθοδολογίες που χρησιμοποιήθηκαν και στην βιολογική ανάλυση των αποτελεσμάτων που εξήχθησαν.

Πολλές ευχαριστίες θα πρέπει να δώσω στους μεταπτυχιακούς φοιτητές του εργαστηρίου Ηλεκτρονικής Αντώνιο Ποτηράκη, Τσάπρα Αθανάσιο, Τερζάκη Εμμανουήλ, Μιχαήλ Μακάκη καθώς και τον Διδάκτορα Ιωάννη Χατζάκη για την συμπαράσταση και την βοήθεια που μου παρείχαν κατά την διάρκεια της διατριβής.

Τέλος πρέπει να ευχαριστήσω ξεχωριστά τους στενούς μου φίλους και την οικογένεια μου για την υπομονή και την ηθική συμπαράσταση που επέδειξαν σε όλη την διάρκεια των σπουδών μου

## **ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ**

### **ΤΜΗΜΑ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ & ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ Η/Υ**

#### **Μεταπτυχιακή διατριβή**

#### **‘Απεικονιστική φασματοσκοπία προκαρκινικών αλλοιώσεων του δέρματος’**

Παπαδάκης Εμμανουήλ

Επιβλέπον Καθηγητής: Κωνσταντίνος Μπάλας

#### **Περίληψη**

Η διατριβή αυτή διαπραγματεύεται νέες τεχνολογίες φασματικής απεικόνισης για την διάγνωση και την διάκριση αλλοιώσεων του δέρματος. Τέτοιες μέθοδοι εκμεταλλεύονται τις οπτικές ιδιότητες των ιστών για να εξαχθούν συμπεράσματα όσον αφορά τα χαρακτηριστικά της εκάστοτε αλλοίωσης. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα που παρέχει η μέθοδος είναι ότι δίνει την δυνατότητα λήψης πληροφοριών μη παρεμβατικά σε αντίθεση με τις παραδοσιακές μεθόδους διάγνωσης (βιοψία)

Σκοπός της διατριβής είναι η διάκριση των προκαρκινικών αλλοιώσεων του δέρματος σε σχέση με τις απλές αλλοιώσεις. Χρησιμοποιήθηκε ένα νέο σύστημα υπερφασματικής απεικόνισης το οποίο δίνει την δυνατότητα παρατήρησης της εκάστοτε αλλοίωσης σε διαφορετικές φασματικές περιοχές και σε διάφορα στρώματα της αλλοίωσης, περιοχές ιδιαίτερα σημαντικές διαγνωστικά και με δυσκολία εκτίμησης από τους κλινικούς γιατρούς.

Η συγκεκριμένη μέθοδος εφαρμόστηκε σε ασθενείς αμέσως μετά την αφαίρεση της αλλοίωσης και τα αποτελέσματα που εξήγαμε συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες βιοψίες που τέθηκαν στην διάθεση μας. Ακόμα σε μια προσπάθεια παρακολούθησης της εξέλιξης της ασθένειας από τα αρχικά στάδια δημιουργίας της, μέχρι την τελική φάση όπου μετατρέπεται σε κακοήγη όγκο, χρησιμοποιήσαμε το ποντίκι, που είναι θηλαστικό με μεγάλη γενετική ομοιότητα με τον άνθρωπο, ως μοντέλο ανάπτυξης αλλοιώσεων

<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....</b>	<b>5</b>
<b>2. ΜΑΚΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ .....</b>	<b>7</b>
2.1 Εισαγωγή .....	7
2.2 Ανατομία του δέρματος .....	8
2.2.1 Επιδερμίδα-Στρώματα επιδερμίδας .....	8
2.2.2 Κυτταρικά συστατικά επιδερμίδας .....	9
2.2.3 Χόριο (Dermis) .....	12
2.3 Καλοήθεις νεοπλασίες (Σπίλοι) .....	13
2.3.1 Επίκτητοι σπίλοι .....	14
2.3.2 Φακές .....	15
2.3.3 Σπίλοι της χόριο-επιδερμικής συμβολής, Οριακοί ή Συνδεσμικοί Σπίλοι (Junctional nevus) .....	16
2.3.4 Σύνθετοι – Μεικτοί σπίλοι (Compound nevus) .....	18
2.3.5 Ενδοδερμικοί – Χοριακοί σπίλοι (Intradermal nevus) .....	21
2.3.6 Δυσπλαστικοί (Άτυποι) σπίλοι (Dysplastic nevus) .....	24
2.4 Κακοήθεις νεοπλασίες – Μελάνωμα .....	31
2.4.1 Αιτιολογία – Παθογένεση .....	31
2.4.2 Τρόπος ανάπτυξης μελανώματος-μορφολογία .....	34
2.4.3 Πρόγνωση μελανώματος με βάση την ιστοπαθολογία της βλάβης .....	38
<b>3. ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΟΠΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΜΕ ΙΣΤΟΥΣ.....</b>	<b>40</b>
3.1 Εισαγωγή .....	40
3.2 Οπτικές ιδιότητες ιστών .....	41
3.2.1 Εισαγωγή .....	41
3.2.2 Περιγραφή διάδοσης φωτός στους ιστούς .....	43
3.2.3 Θεωρία Μεταφοράς .....	43
3.2.4 Περιοχή στην οποία κυριαρχεί η απορρόφηση .....	44
3.2.5 Περιοχή στην οποία κυριαρχεί η σκέδαση .....	45
3.2.6 Περιοχή στην οποία και τα δύο φαινόμενα είναι συγκρίσιμα .....	46
3.3 Διαδικασίες που έπονται της απορρόφησης της ακτινοβολίας από τον ιστό .....	47
3.3.1 Επαγόμενη θέρμανση ιστού λόγω απορρόφησης φωτεινής ακτινοβολίας .....	47
3.3.2 Φωτοχημικές αντιδράσεις .....	48

3.4	Πολυφασματική και Υπερφασματική απεικόνιση .....	48
<b>4.</b>	<b>ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΕ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΚΡΙΣΗΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΩΝ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ .....</b>	<b>52</b>
<b>5.</b>	<b>ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΩΝ-ΑΠΛΩΝ ΣΠΙΛΩΝ.....</b>	<b>65</b>
5.1	Εισαγωγή .....	65
5.2	Πειραματική διαδικασία-Σύστημα που χρησιμοποιήθηκε.....	66
5.3	Μετρήσεις.....	69
5.3.1	Συνδεσμικός σπίλος .....	70
5.3.2	Μεικτοί σπίλοι.....	72
5.3.3	Δυσπλαστικοί σπίλοι .....	74
5.3.4	Μελάνωμα.....	77
5.4	Σύγκριση μεικτών-δυσπλαστικών σπίλων.....	83
5.5	Συζήτηση .....	95
<b>6.</b>	<b>ΤΟ ΠΟΝΤΙΚΙ ΣΑΝ ΜΟΝΤΕΛΟ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΜΕΛΑΝΩΜΑΤΟΣ.....</b>	<b>98</b>
6.1	Εισαγωγή .....	98
6.2	Φασματική απεικόνιση σε ποντίκια.....	99
6.2.1	Μεθοδολογία-Μετρήσεις.....	99
6.2.2	Αποτελέσματα .....	100
<b>7.</b>	<b>ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....</b>	<b>107</b>

# 1. Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια ο αριθμός ασθενών που εμφανίζουν κακοήθεις αλλοιώσεις του δέρματος (μελανώματα) αυξήθηκε δραματικά. Έτσι υπήρξε έντονο ενδιαφέρον για την έγκαιρη διάγνωση τέτοιων αλλοιώσεων και έγινε επιτακτική ανάγκη η εύρεση νέων μεθόδων πέρα από την παραδοσιακή ιατρική.

Πολλές επιστημονικές ομάδες κατευθύνθηκαν σε μη παρεμβατικές μεθόδους διάγνωσης μέσω φασματικής απεικόνισης. Τέτοιες μέθοδοι εκμεταλλεύονται τις οπτικές ιδιότητες των ιστών για να εξαχθούν συμπεράσματα όσον αφορά τα χαρακτηριστικά της εκάστοτε αλλοίωσης. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα που παρέχει η μέθοδος είναι ότι δίνει την δυνατότητα λήψης πληροφοριών για βαθύτερα στρώματα της αλλοίωσης, περιοχές ιδιαίτερα σημαντικές διαγνωστικά και με δυσκολία εκτίμησης από τους κλινικούς γιατρούς.

Στην συγκεκριμένη διατριβή έγινε προσπάθεια διάκρισης μεταξύ των αλλοιώσεων του δέρματος. Πολλές από τις αλλοιώσεις παρουσιάζουν κοινά οπτικά χαρακτηριστικά και η διάκριση τους είναι σχεδόν αδύνατη από τους κλινικούς γιατρούς. Πιο συγκεκριμένα γίνεται προσπάθεια διάκρισης των δυσπλαστικών σπίλων οι οποίοι θεωρούνται πρόδρομος μελανωμάτων, από τις υπόλοιπες αλλοιώσεις του δέρματος από ένα νέο απεικονιστικό σύστημα, το οποίο δίνει την δυνατότητα παρατήρησης της εκάστοτε αλλοίωσης σε διαφορετικές φασματικές περιοχές. Αυτή η δυνατότητα που παρέχεται είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς με αυτόν τον τρόπο εξάγονται πληροφορίες για διάφορα στρώματα του δέρματος, στοιχείο ιδιαίτερα σημαντικό για την διάκριση των αλλοιώσεων.

Στο Κεφάλαιο 2 παρουσιάζεται μια αναλυτική περιγραφή της δομής του δέρματος καθώς και τα κύρια είδη αλλοιώσεων που μπορούν να εμφανιστούν σε αυτό. Στο Κεφάλαιο 3 πραγματοποιείται μια περιγραφή των φαινόμενων που λαμβάνουν χώρα κατά την αλληλεπίδραση της οπτικής ακτινοβολίας με τους ιστούς καθώς και των εννοιών φασματική, πολυφασματική και υπερφασματική απεικόνιση. Στο Κεφάλαιο 4 επιχειρείται μια συνοπτική επισκόπηση στην ευρύτερη περιοχή της φασματικής απεικόνισης με την σκοπό την ανάπτυξη διαγνωστικών τεχνικών και συστημάτων, για τις αλλοιώσεις του δέρματος. Στο Κεφάλαιο 5 παρουσιάζεται η μεθοδολογία, το σύστημα που χρησιμοποιήθηκε, καθώς και τα αποτελέσματα που ελήφθησαν κατά την διάρκεια της διατριβής όσον αφορά την προσπάθεια

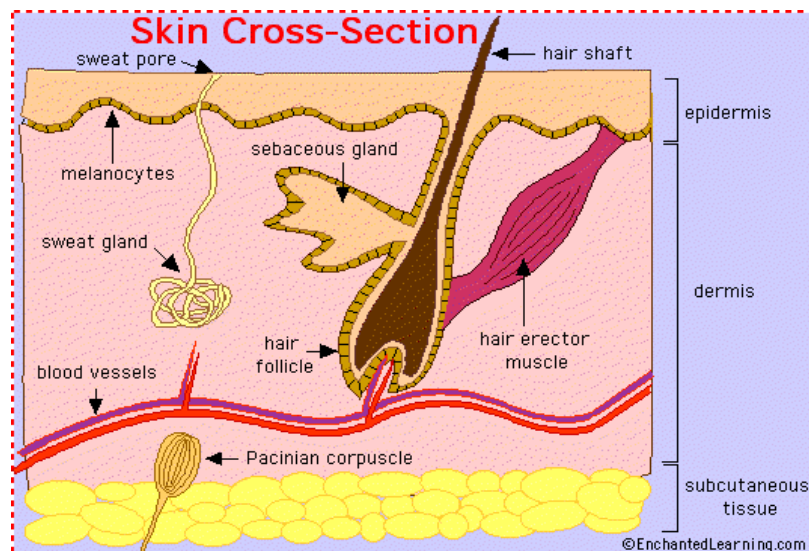
διάκρισης των αλλοιώσεων του δέρματος. Επιπρόσθετα, στο Κεφάλαιο 6 γίνεται περιγραφή ενός μοντέλου που αποτελείται από ποντίκια και που χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη αλλοιώσεων του δέρματος καθώς και τα πρώτα αποτελέσματα που εξάχθηκαν από αυτό. Τέλος στο Κεφάλαιο 7 καταγράφεται η βιβλιογραφία που χρησιμοποιήθηκε κατά την συγγραφή της διατριβής.

## 2. Μακροσκοπική δομή του δέρματος

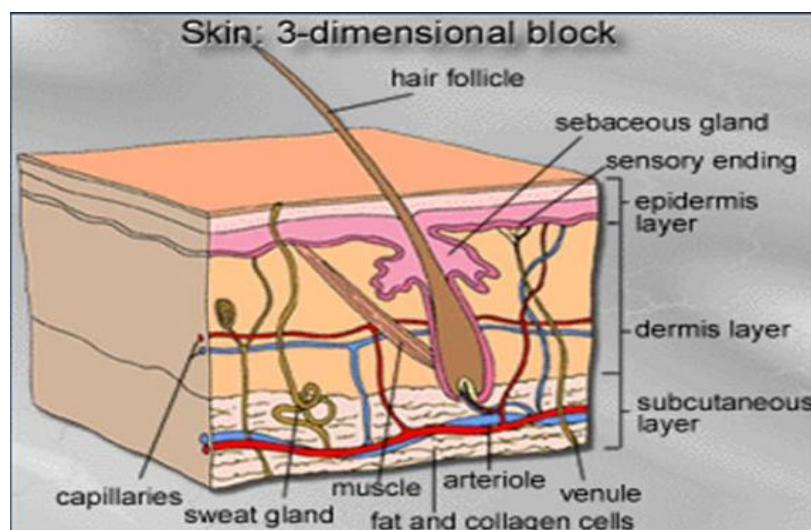
### 2.1 Εισαγωγή

Το δέρμα είναι το μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπινου σώματος. Αποτελείται από εξειδικευμένα επιθηλιακά και κύτταρα συνδετικού ιστού και έχει πολλές προστατευτικές και συνθετικές λειτουργίες. Διακρίνεται σε τρεις στιβάδες:

- α. επιδερμίδα (epidermis)
- β. χόριο (dermis)
- γ. υπόδερμα (subcutaneous tissue)



Εικόνα1.Μακροσκοπική δομή του δέρματος



Εικόνα2.Μακροσκοπική δομή του δέρματος II



## 2.2 Ανατομία του δέρματος

### 2.2.1 Επιδερμίδα-Στρώματα επιδερμίδας

Η επιδερμίδα είναι η εξωτερική επιφάνεια του δέρματος και αποτελείται κυρίως από κερατινοκύτταρα τα οποία διαφοροποιούνται για να σχηματίσουν τις τέσσερις στιβάδες, οι οποίες από κάτω προς τα πάνω είναι: α) βασική στιβάδα (basal cell layer), β) μαλπιγιανή ή ακανθωτή στιβάδα (malpighian layer, prickle cell layer), γ) κοκκώδης στιβάδα (granular layer) και δ) κερατίνη στιβάδα (surface layer). Επιπλέον στην επιδερμίδα ανευρίσκονται τα μελανοκύτταρα και τα κύτταρα του Langerhans.

#### 2.2.1.1. Βασική στιβάδα (basal cell layer)

Από αυτή τη στιβάδα σχηματίζεται όλος ο πληθυσμός των κερατινοκυττάρων. Αποτελείται από ένα στοίχο κυλινδρικών κυττάρων με τον επιμήκη άξονά τους κάθετα προς την επιφάνεια του χορίου. Τα βασικά κύτταρα έχουν βαθυχρωματικό ωοειδή ή επιμήκη πυρήνα και ένα βαθέως βασεόφιλο πρωτόπλασμα. Τα κύτταρα της βασικής στιβάδας συνδέονται μεταξύ τους με μεσοκυττάρια γέφυρες. Η κυτταρική διαίρεση των επιδερμικών κυττάρων συμβαίνει μόνο στη βασική στιβάδα προς αντικατάσταση των κυττάρων που χάνονται στην επιφάνεια του δέρματος με την απολέπιση. Την ικανότητα για μιτώσεις έχει και ο υπόλοιπος επιδερμικός πληθυσμός, όπως φαίνεται σε παθολογικές καταστάσεις της επιδερμίδας, χαρακτηριζόμενες από αυξημένο πολλαπλασιασμό ή κακοήθεια.

#### 2.2.1.2. Μαλπιγιανή ή ακανθωτή στιβάδα (malpighian layer, prickle cell layer)

Πάνω από τη βασική στιβάδα βρίσκεται η ακανθωτή στιβάδα. Τα ακανθωτά κύτταρα είναι πολυγωνικά και συνδέονται με μεσοκυττάρια γέφυρες οι οποίες προσδίδουν σημαντική σταθερότητα και αντοχή στην επιδερμίδα. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο οι περιοχές αυτές της σύνδεσης (δεσμοσωμάτια) φαίνονται σαν δύο πλάκες, οι οποίες περιλαμβάνουν τις κυτταρικές μεμβράνες των γειτονικών κυττάρων και στις οποίες τα τονοϊνίδια των κυττάρων έρχονται σε επαφή με την πλευρά του κυττάρου.

#### **2.2.1.3. Κοκκώδης στιβάδα (*granular layer*)**

Πάνω από την ακανθωτή στιβάδα βρίσκεται η κοκκώδης στιβάδα η οποία αποτελείται από 1-4 στίχους ρομβοειδών κυττάρων που έχουν βαθέως βασεόφιλα κοκκία.

#### **2.2.1.4. Κερατίνη στιβάδα (*horny layer, stratum corneum*)**

Αποτελείται από πυρήνα και αποπεπλατυσμένα κερατινοκύτταρα ενωμένα μεταξύ τους με λιπίδια που συνθέτονται στην κοκκώδη στιβάδα. Η πρωτεΐνη ινβολουκρίνη παράγεται στην κοκκώδη και στην κερατίνη στιβάδα και σχηματίζει ένα λεπτό πρωτεϊνικό στρώμα στην εσωτερική επιφάνεια της πλασματικής μεμβράνης. Η στιβάδα αυτή είναι σημαντική για την άμυνα του δέρματος καθώς διαθέτει ελαστικότητα, μηχανική αντοχή και ανθεκτικότητα στις χημικές αντιδράσεις του περιβάλλοντος λόγω της κερατίνης που περιέχουν τα αφυδατωμένα κερατινοκύτταρα. Από την επιφάνεια της κερατίνης συνεχώς απολεπίζονται κερατινοκύτταρα. Η ομαλή λειτουργία της απολέπισης συμβάλλει στην ανανέωση της στιβάδας της κερατίνης, καθώς και στην απομάκρυνση μικροβίων και ουσιών. Οι διαταραχές αντίθετα της απολέπισης συνδέονται με παθολογικές καταστάσεις.

Το πάχος της κερατίνης στιβάδας εξαρτάται από τη δερματική περιοχή. Στο όσχεο το πάχος της κερατίνης ανέρχεται σε 5-9μm, στις παλάμες και στα πέλματα σε 400-600μm και στην υπόλοιπη επιφάνεια του δέρματος σε 8-15μm.

Μεταξύ της κοκκώδους και της κερατίνης στιβάδας παρεμβάλλεται η διαυγής στιβάδα (*lucid layer*) μόνο στην περιοχή των πελμάτων και των παλαμών.

### **2.2.2 Κυτταρικά συστατικά επιδερμίδας**

#### **2.2.2.1. Κερατινοκύτταρα (*Keratinocytes*)**

Το κερατινοκύτταρο της βασικής στιβάδας είναι ένα μιτωτικά ενεργό κύτταρο το οποίο διαφοροποιείται βαθμιαία καθώς μεταναστεύει από τη βασική στιβάδα προς τα ανώτερα στρώματα με παράλληλη αύξηση στην παραγωγή πρωτεϊνών κερατίνης. Η διαδικασία της μετανάστευσης διαρκεί 28 μέρες κάτω από φυσιολογικές συνθήκες.

#### **2.2.2.2. Μελανοκύτταρα (Pigment cells)**

Στα πρώτα στάδια της ζωής του εμβρύου μελανοκύτταρα που προέρχονται από τη νευρική ακρολοφία μεταναστεύουν και εγκαθίστανται στο δέρμα, τον οφθαλμό και τη λεπτή μήνιγγα. Φαίνονται ως κύτταρα με σκούρο πυρήνα και καθαρό κυτταρόπλασμα. Στο δέρμα εγκαθίστανται ανάμεσα στα κύτταρα της βασικής στιβάδας σε μια αναλογία με αυτά 1/10 – 1/5 που εξαρτάται από την περιοχή. Ο αριθμός τους είναι σταθερός και ανεξάρτητος από το χρώμα ή τη φυλή. Η διαφορά του χρώματος οφείλεται στην παραγωγή της μελανίνης. Αν διαταραχθεί σε κάποια θέση η σχέση μελανοκυττάρων / κυττάρων βασικής στιβάδας τότε στη θέση αυτή τα μελανοκύτταρα αθροίζονται και σχηματίζουν ένα σπτίλο.



*Εικόνα 3.Μελανοκύτταρα*

Τα μελανοκύτταρα είναι δενδριτικά κύτταρα που περιορίζονται στη βασική στιβάδα της επιδερμίδας ανάμεσα στα κερατινοκύτταρα. Τα μελανοκύτταρα μπορεί να είναι σε επαφή μεταξύ τους μέσω των άκρων των δενδριτών τους. Ένα μόνο μελανοκύτταρο και τα περιβάλλοντά του κερατινοκύτταρα αποτελούν μια «επιδερμική μελανομονάδα». Αν και τα φυσιολογικά μελανοκύτταρα έχουν την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται, ιδιαίτερα με την επίδραση του υπεριώδους φωτός, είναι σπάνιο να βρεθούν σε επαφή δύο ή περισσότερα φυσιολογικά μελανοκύτταρα ίσως λόγω της ύπαρξης ενός μηχανισμού αμοιβαίας άπωσης. Τα μελανοκύτταρα έχουν την τάση να σχηματίζουν ένα «κάλυμμα» γύρω από τον πυρήνα των κερατινοκυττάρων για να τα προστατεύσουν από την υπεριώδη

ακτινοβολία. Οι διαταραχές τους προκαλούν αρκετές καλοήθεις και κακοήθεις βλάβες.

Τα μελανοκύτταρα διαθέτουν μελανοσώματα (οργανίδια με διάμετρο το πολύ 1μm που βρίσκονται μέσα στα μελανοκύτταρα και παράγουν χρωστική). Τα φυσιολογικά μελανοκύτταρα παράγουν και ταχέως μεταφέρουν χρωστική στα κερατινοκύτταρα, πιθανότατα μέσω φαγοκυττάρωσης των κερατινοκυττάρων από τμήματα των δενδριτών τους.

Τα μελανοκύτταρα δεν περιέχουν ενδοκυτταρικές συνδέσεις ή δεσμοσωμάτια αλλά περιέχουν διαφορετικό αριθμό μελανοσωμάτων σε ποικίλα στάδια της διαδικασίας παραγωγής μελανίνης. Η περιεκτικότητα των μελανοσωμάτων σε μελανίνη ποικίλει. Τα άωρα μελανοσώματα εμφανίζονται ως μικρά, μεμβρανώδη, ελλειπτικά, με σχεδόν άδειο κυτταρόπλασμα και συχνά με εσωτερικές φολίδες που εμφανίζουν εξαιρετική περιοδικότητα. Μετά τη διαδικασία της παραγωγής μελανίνης αυτές οι δομές γίνονται πυκνά αδιαφανείς. Αυτά τα ώριμα μελανοκύτταρα μεταφέρονται φυσιολογικά στα επιδερμικά κερατινοκύτταρα.

Τα μελανοσώματα του επιθηλίου του αμφιβληστροειδούς χιτώνα του ματιού έχουν μεγάλη συγκέντρωση μελανίνης. Τα μελανοσώματα που υπάρχουν στην επιδερμίδα έχουν συγκέντρωση μελανίνης ίση με το ένα τέταρτο έως το ένα δέκατο της συγκέντρωσής της που υπάρχει στον αμφιβληστροειδή. Υπάρχουν και ορισμένα μελανοσώματα χωρίς μελανίνη. Επίσης ποικίλει και η κατ' όγκο συγκέντρωση των μελανοσωμάτων στην επιδερμίδα ( $f_v$ ). Ο μέσος συντελεστής απορρόφησης της επιδερμίδας εξαρτάται τόσο από το συντελεστή απορρόφησης των μελανοσωμάτων  $\mu_a$  όσο και από την κατ' όγκον συγκέντρωση των μελανοσωμάτων στην επιδερμίδα. Στο δέρμα, η κατ' όγκον συγκέντρωση των μελανοσωμάτων υπολογίζεται να ποικίλει ως [2]:

- για ανοιχτόχρωμους καυκάσιους,  $f_v = 1-3\%$
- για περισσότερο σκουρόχρωμους καυκάσιους και μεσογειακούς,  $f_v = 11-16\%$
- για σκουρόχρωμους αφρικανούς,  $f_v = 18-43\%$

Η μελανίνη απορροφά τις υπεριώδεις ακτίνες (UV-B) μήκους κύματος 290-320nm, ασκώντας έτσι φωτοπροστατευτική λειτουργία για τα κύτταρα της επιδερμίδας.

Η παραγωγή της μελανίνης ελέγχεται από την ορμόνη MSH η οποία εκκρίνεται από τον αδένα της υπόφυσης.

### **2.2.2.3. Κύτταρα του Langerhans**

Τα κύτταρα του Langerhans βρίσκονται μεταξύ των επιδερμικών κυττάρων (το 3% του επιδερμικού πληθυσμού) και είναι δένδριτικά. Αυτά προέρχονται από το μυελό των οστών από πρόδρομα κύτταρα. Τα κύτταρα του Langerhans αποτελούν κύτταρα που παρουσιάζουν το αντιγόνο στα αρμόδια κύτταρα (T – λεμφοκύτταρα) κατά την αλλεργική δερματίτιδα.

### **2.2.3 Χόριο (Dermis)**

Το χόριο έχει πάχος 1-4 mm και διακρίνεται στο θηλώδες και στο δικτυωτό χόριο.

Το θηλώδες χόριο σχηματίζεται λόγω των αντίστοιχων καταδύσεων της επιδερμίδας. Στις παλάμες και στα πέλματα η διάταξη των θηλών είναι γραμμοειδής με αποτέλεσμα να παράγονται τα γνωστά δερματογλυφικά. Οι θηλές του χορίου περιέχουν αιμοφόρα αγγεία και ορισμένα νευρικά στοιχεία. Το δικτυωτό χόριο περιέχει δεσμίδες συνεκτικού ιστού κάτω από το οποίο εκτείνεται το υπόδερμα.

#### **2.2.3.1. Στρώματα του χορίου-Βασική μεμβράνη(basement membrane)**

Η επιδερμίδα χωρίζεται από το χόριο με τη βασική μεμβράνη. Το δερμοεπιδερμικό όριο σε κάθετη τομή είναι συνήθως κυματοειδές και μάλιστα ο κυματισμός αυτός είναι εντονότερος εκεί που το δέρμα είναι παχύτερο. Η κυματοειδής αυτή διαμόρφωση οφείλεται στις καταδύσεις της επιδερμίδας και τις αντίστοιχες αναδύσεις του θηλώδους χορίου. Η διαμόρφωση αυτή παρέχει σημαντικές εφεδρείες ιστού κατά τις εκτατικές ανάγκες της επιδερμίδας.

Η βασική μεμβράνη φαίνεται στη χρώση PAS ως μια ομοιογενής ζώνη πάχους 0,5-1,0μm κατά τη δερμοεπιδερμική συνένωση. Το είδος της χρώσης αυτής δείχνει ότι η βασική μεμβράνη περιέχει μεγάλα ποσά ουδέτερων βλεννοπολυσακχαριτών. Η ζώνη αυτή συμβάλλει στη συνοχή της επιδερμίδας με το χόριο.

#### **2.2.3.2. Συστατικά του χορίου**

Το φυσιολογικό χόριο έχει πολύ λίγα κυτταρικά στοιχεία, τα οποία είναι εμφανέστερα στο θηλώδες κυρίως μέρος.

Οι ινοβλάστες οι οποίοι σχηματίζουν ίνες είναι διεσπαρμένοι μεταξύ των κολλαγόνων δεσμίδων. Εντοπίζονται επίσης λίγα ιστιοκύτταρα - μακροφάγα (τα οποία θεωρούνται ότι σχηματίζουν τις δικτυωτές ίνες) κυρίως γύρω από τα αγγεία. Τα ιστιοκύτταρα – μακροφάγα, φαγοκυττώνουν μικροοργανισμούς, μελανίνη, μελάνη τατουάζ κ.λ.π. και ορισμένες φορές μετασχηματίζονται σε επιθηλιοειδή κύτταρα κάτω από ορισμένες συνθήκες. Τα μαστοκύτταρα τα οποία παράγουν και αποθηκεύουν ισταμίνη – ηπαρίνη βρίσκονται σε μικρό αριθμό και γύρω από τα αγγεία. Τέλος μερικές φορές εντοπίζονται λεμφοκύτταρα και άλλα λευκοκύτταρα παροδικά.

Εντοπίζονται επίσης αγγεία και λεμφαγγεία. Τα αγγεία ανευρίσκονται σε δύο επίπεδα δημιουργώντας έτσι αγγειακά πλέγματα. Το βαθύτερο «υποδερματικό πλέγμα» βρίσκεται κοντά στο όριο χορίου – υποδέρματος και επικοινωνεί με το επιπολής «υποθηλώδες πλέγμα». Τέλος στο χόριο εντοπίζονται νεύρα, μύες και τρίχες.

### **2.3 Καλοήθεις νεοπλασίες (Σπίλοι)**

Με τον όρο σπίλος χαρακτηρίζεται μια μελανή κηλίδα ή ένα μελανό έπαρμα της επιδερμίδας. Αρχικά υπάρχει πολλαπλασιασμός των μελανοκυττάρων και διαταραχή της σχέσης αναλογίας 1/10 – 1/5 μελανοκυττάρων / κυττάρων βασικής στιβάδας. Οι γνήσιοι σπίλοι διαθέτουν κύτταρα που αποτελούν εξέλιξη μελανοκυττάρων (σπιλοκύτταρα) και που σχηματίζουν αθροίσεις οι οποίες ονομάζονται σπιλωσώματα. Στο δέρμα κάθε ανθρώπου παρατηρούνται άφθονοι σπίλοι, που άλλοι υπάρχουν κατά τη γέννηση (συγγενείς), ενώ άλλοι εμφανίζονται μετά.

Οι πρώτες αθροίσεις των σπιλοκυττάρων γίνονται στη βασική στιβάδα στο όριο επιδερμίδας / χορίου (εμφάνιση δραστηριότητας στη συμβολή, συνδεσμικός σπίλος). Τα κύτταρα μεταφέρονται στη συνέχεια στο χόριο. Στη φάση αυτή υπάρχει δραστηριότητα τόσο στη συμβολή όσο και στο χόριο (σύνθετος σπίλος). Τέλος σταματά η δραστηριότητα στη συμβολή και παραμένουν μόνο τα κύτταρα του χορίου (ενδοδερμικός σπίλος – του χορίου).

### 2.3.1 Επίκτητοι σπίλοι

Οι τυπικοί επίκτητοι σπίλοι εμφανίζονται από την πρώιμη παιδική ηλικία μέχρι την τέταρτη δεκαετία της ζωής ως επίπεδοι, άτριχοι, καλά περιγεγραμμένοι σπίλοι. Οι επίκτητοι σπίλοι είναι συνήθως μικρής διαμέτρου (<5mm), στρογγυλοί και ομοιόμορφα μελαχρωματικοί (Swetter 1996). Σε προσεκτική παρατήρηση παρατηρούνται οι δερματικές γραμμές και αυτές τους κάνουν να ξεχωρίζουν από τα μελανώματα. Ο μέσος ενήλικος λευκής φυλής έχει 25 – 35 σπίλους. Στη μετέπειτα περίοδο της ωριμότητας του ατόμου οι σπίλοι μειώνονται προοδευτικά σε αριθμό. Υψηλότερος αριθμός σπίλων αυξάνει τον κίνδυνο αναπτύξεως μελανώματος μέχρι και 10 φορές για αριθμό σπίλων μεγαλύτερο του 100.

Οι μελανοκυτταρικοί σπίλοι είναι καλοήθεις βλάβες που προέρχονται από τον πολλαπλασιασμό των μελανοκυττάρων. Τουλάχιστον λίγα από αυτά τα μελανοκύτταρα είναι διατεταγμένα σε «φωλιές» (nests). Μια «φωλιά» μελανοκυττάρων που περιλαμβάνει πέντε ή περισσότερα μελανοκύτταρα αποτελεί μια μονή «συστάδα» (cluster). Τα «τροποποιημένα» αυτά μελανοκύτταρα ονομάζονται σπιλοκύτταρα και συνιστούν ένα μελανοκυτταρικό σπίλο. Έξι είναι κυρίως τα χαρακτηριστικά που διαφοροποιούν τα σπιλοκύτταρα από τα φυσιολογικά μελανοκύτταρα:

1. η απώλεια του φυσιολογικού δενδριτικού σχήματος και η εμφάνιση ενός πιο συμπαγούς, στρογγυλού περιγράμματος.
2. η μείωση της απόστασης ανάμεσα σε ομοειδείς δομές αφού τα σπιλοκύτταρα είναι σε επαφή μεταξύ τους, συχνά σε μικρά συμπλέγματα (clusters) ή «φωλιές», σε αντίθεση με τα φυσιολογικά μελανοκύτταρα που απέχουν και μεταξύ των οποίων παρεμβάλλονται κερατινοκύτταρα.
3. η τάση να διατηρούν τη χρωστική στο κυτταρόπλασμά τους
4. η τάση να μεταναστεύουν από τη βασική στιβάδα της επιδερμίδας στο θηλοειδές χόριο.
5. η μείωση του δικτύου Golgi και του ενδοπλασματικού δικτύου στα σπιλοκύτταρα σε σχέση με τα μελανοκύτταρα.
6. η δεσπόζουσα διάταξη των μελανοσωμάτων σε μορφή ομάδων (groups) στα σπιλοκύτταρα, σε αντίθεση με τα μελανοκύτταρα όπου τα μελανοσώματα εμφανίζονται είτε ως μεμονωμένα μελανοσώματα είτε ως προ-μελανοσώματα σε ποικίλα στάδια ωρίμανσης.

Οι επίκτητοι σπίλοι διαθέτουν όλα τα σημαντικά κριτήρια των καλοηθών νεοπλασμάτων, αφού τα συστατικά τους κύτταρα εμφανίζουν μια επιλεκτική, αν και παροδική, ανάπτυξη σε σχέση με τα γειτονικά φυσιολογικά μελανοκύτταρα και κερατινοκύτταρα. Η ανάπτυξη των σπύλων διαφέρει από εκείνη των μελανωμάτων αφού δεν είναι ανεξέλεγκτη, αλλά αυτό δεν πρέπει να θεωρείται ασύμφωνο με τη βασική νεοπλασματική φύση τους ή με την αντίληψη ότι μερικοί σπίλοι μπορούν να προκληθούν από τους ίδιους αιτιολογικούς παράγοντες που προκαλούν κάποια μελανώματα. Λόγω της διατήρησης της χρωστικής οι σπίλοι μπορούν κλινικά να αναγνωριστούν ως μικρές μελαχρωματικές βλάβες.

### 2.3.2 Φακές

Οι περισσότεροι σπίλοι έχουν ως αρχή της εμφάνισής τους το στάδιο της φακής. Έτσι όταν αρχικά αναπτύσσονται εμφανίζονται ως μελαχρωματικές κηλίδες με διάμετρο 1-3 mm.

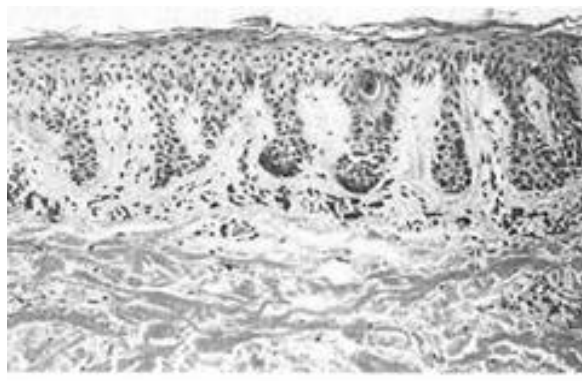
*Κλινικά χαρακτηριστικά:* Μια τυπική μελαχρωματική βλάβη, επίπεδη, με διάμετρο από 1-3 mm (το πολύ 4-5 mm), συχνά με ομαλά όρια, γενικά ανεπαίσθητη. Το χρώμα της (ανάλογα με το ανοιχτόχρωμο του δέρματος), ποικίλει από σκούρο καφέ έως μαύρο, το οποίο σε μια μεγαλύτερη βλάβη θα μπορούσε κλινικά να σημαίνει και μελάνωμα. Αν η μελάχρωση είναι ομοιογενής και οι βλάβες είναι συμμετρικές και επίπεδες είναι πιθανότατα καλοήθεις. Δεν έχουν την τάση να εξασθενούν με τη διακοπή της έκθεσης στον ήλιο. Συνήθως οι φακές συγχέονται κλινικά με τους μικρούς συνδεσμικούς σπύλους και τις εφηλίδες.

*Ιστολογικά χαρακτηριστικά:* Η φακή είναι μια βλάβη όπου τα μη δένδριτικά μελανοκύτταρα αυξάνονται σε αριθμό, κατά κάποιο τρόπο μεγαλώνουν και στρογγυλεύουν, και διατάσσονται γραμμικά στη βασική στιβάδα της επιδερμίδας και πολλά από αυτά παραμένουν σε επαφή μεταξύ τους. Εξ ορισμού δεν υπάρχει σχηματισμός από φωλιές και κατ' επέκταση σχηματισμός σπιλοκυττάρων. Τα μελανοκύτταρα της βλάβης και τα γειτονικά κερατινοκύτταρα συχνά περιέχουν άφθονη χρωστική, που συνήθως εκτείνεται μέχρι τα κερατινοκύτταρα της κερατίνης στιβάδας. Τα μελανοκύτταρα της βλάβης παραμένουν όμως περιορισμένα στη βασική στιβάδα. Το κερατινοκυτταρικό επιθήλιο παρουσιάζει χαρακτηριστικά επιμήκυνσης λόγω συχνού πολλαπλασιασμού των κερατινοκυττάρων, μοντέλο που εμφανίζεται και στους δυσπλαστικούς σπύλους.



Στο χόριο, υπάρχουν ανομοιογενείς συγκεντρώσεις λεμφοκυττάρων, συχνά με μελανοφάγα και κάποιες φορές με συμπιεσμένες δεσμίδες κολλαγόνου γύρω από τις επιμηκυμένες μεσοθήλαιες καταδύσεις κάτι που επίσης εμφανίζεται στην ιστολογική εικόνα των δυσπλαστικών σπίλων.

Οι φακές μπορεί να παραμείνουν σε αυτή τη φάση ανάπτυξης για μακρό χρονικό διάστημα ή μπορεί να υποπέσουν σε συνδεσμικούς και μετά σε μεικτούς σπίλους (Maize και Ackerman).



*Εικόνα 4. Φακές*

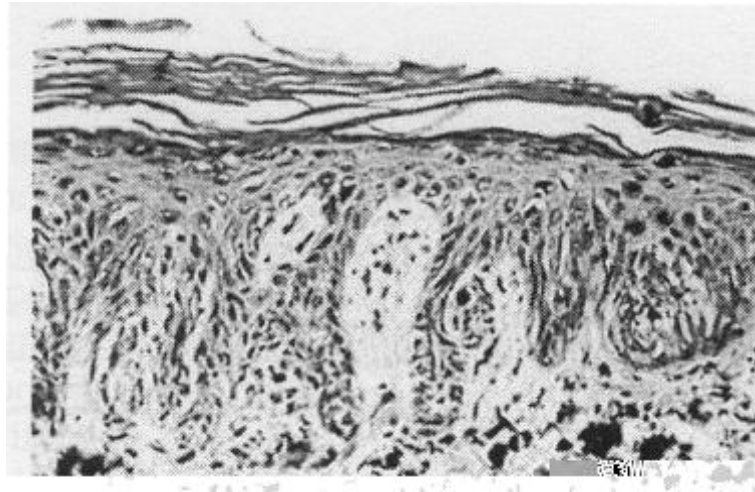
### 2.3.3 Σπίλοι της χόριο-επιδερμικής συμβολής, Οριακοί ή Συνδεσμικοί Σπίλοι (Junctional nevus)

Ένας συνδεσμικός μελανοκυτταρικός σπίλος είναι μια εστιακή μελαχρωματική βλάβη που χαρακτηρίζεται από ένα αυξημένο αριθμό σπιλοκυττάρων στην επιδερμίδα. Σε ένα συνδεσμικό σπίλο δεν υπάρχουν καθόλου σπιλοκύτταρα στο χόριο.

*Κλινικά χαρακτηριστικά :* Οι συνδεσμικοί σπίλοι είναι γενικά επίπεδες ή ελαφρώς υπερυψωμένες μικρές μελαχρωματικές βλάβες (1-4 mm, μεγαλύτερες βλάβες δεν διακρίνονται από άτυπους σπίλους). Είναι συμμετρικοί (στρογγυλοί ή ωοειδείς) με σαφή όρια και ομοιόμορφη χρώση (οι μικρότερες βλάβες έχουν σιλιπνό μαύρο χρώμα και οι μεγαλύτερες είναι σχεδόν καφέ). Έχουν λεία επιφάνεια και διατηρούνται οι γραμμές του δέρματος. Συνήθως κλινικά συγχέονται με τις φακές. Οι βλάβες είναι κλινικά σταθερές αλλά με την πάροδο του χρόνου μπορεί να εξελιχθούν σε μεικτούς σπίλους και κατόπιν σε χοριακούς.

*Ιστολογικά χαρακτηριστικά:* Τα ιστολογικά χαρακτηριστικά στις περισσότερες βλάβες, είναι ανάλογα με εκείνα που εντοπίζονται στις φακές εκτός ότι, εξ ορισμού, υπάρχει τουλάχιστον ένα σπιλοκύτταρο. Λίγες βλάβες αποτελούνται εξ ολοκλήρου από σπιλοκύτταρα. Ιστολογικώς χαρακτηρίζονται από την αύξηση των σπιλοκυττάρων εστιακώς στο όριο επιδερμίδας / χορίου, τα οποία παραμένουν σε επαφή μόνο με την επιδερμίδα (Εικόνα 6α). Συνήθως εξέχουν προς τα κάτω, προς το θηλώδες χόριο αλλά πάντα πάνω από μια απείραχτη βασική μεμβράνη. Εξ ορισμού δεν υπάρχουν καθόλου σπιλοκύτταρα στο χόριο.

Γενικά οι συνδεσμικοί σπίλοι είναι λιγότερο χρωματισμένοι από τις φακές και είναι λιγότερο πιθανό να συσχετιστούν με μια απότομη απόκριση λεμφοκυττάρων και μελανοφάγων.



*Εικόνα 5α. Συνδεσμικός σπίλος. Τα σπιλοκύτταρα είναι στην δέρμο-επιδερμική περιοχή*



*Εικόνα 5β. Συνδεσμικός σπίλος*

Τα σπιλοκύτταρα ή τα μεμονωμένα μελανοκύτταρα του σπίλου είναι κάπως μεγαλύτερα από τα φυσιολογικά μελανοκύτταρα. Έχουν πιο μεγάλο και διαυγές κυτταρόπλασμα το οποίο συνήθως περιέχει μετρημένες ποσότητες σχετικά χοντρόκκοκης χρωστικής. Στις περισσότερες έντονα μελαχρωματικές βλάβες η περισσότερη από τη χρωστική εντοπίζεται στα κερατινοκύτταρα. Το μαύρο χρώμα κάποιων έντονα χρωματισμένων συνδεσμικών σπύλων και φακών σχετίζεται ιστολογικά με χρωστική στην κερατίνη στιβάδα η οποία έχει μεταφερθεί με τη φυσιολογική διαδικασία ωρίμανσης και απόπτωσης των κερατινοκυττάρων.

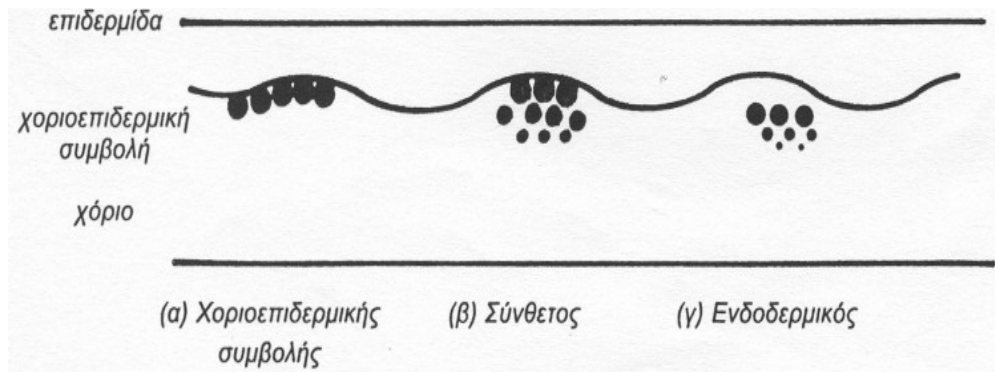
Τα κύτταρα στην επιδερμίδα των συνδεσμικών ή των μεικτών σπύλων έχουν την τάση να είναι κάπως μεγαλύτερα από τα αντίστοιχά τους χοριακά και είναι πολύ πιθανό να έχουν σχετικά μικρή, μπλε νουκλεοτίδη ή κεντρομερίδια. Μεγάλη ηωσινόφιλη νουκλεοτίδη απουσιάζει και σπάνια εντοπίζονται μιτωτικές μορφές στους επίκτητους σπύλους οποιουδήποτε είδους. Αν και υπάρχει σχετικά μικρή ποικιλία στο μέγεθος και το σχήμα του πυρήνα στους συνδεσμικούς σπύλους, δεν υπάρχει καθόλου ατυπία μεγάλου βαθμού.

#### 2.3.4 Σύνθετοι – Μεικτοί σπύλοι (Compound nevus)

Ένας μεικτός μελανοκυτταρικός σπύλος είναι μια μελαχρωματική βλάβη στην οποία τα σπιλοκύτταρα εντοπίζονται τόσο στην επιδερμίδα όσο και στο χόριο.

*Κλινικά χαρακτηριστικά* :Οι μεικτοί σπύλοι έχουν διάμετρο 1-7 mm. Υπάρχει μεγάλη ποικιλότητα στο μέγεθος, την έπαρση και την επιφανειακή τους υφή. Η διαμόρφωσή τους ποικίλει και μπορεί να είναι επηρμένοι ή οζώδεις (nodule). Η οζώδης εμφάνισή τους μπορεί να συγχύσει με μελάνωμα. Η επιφάνειά τους κυμαίνεται από λεία σε ανάγλυφη. Το χρώμα ποικίλει από καφέ σε ροζ. Οι συνηθισμένοι σπύλοι είναι σπάνια μαύροι και συνήθως τριχωτοί.

*Ιστολογικά χαρακτηριστικά*: Οι περισσότεροι μεικτοί σπύλοι είναι σχετικά μικρές, καλά περιγεγραμμένες, συμμετρικές βλάβες. Η ποσότητα της χρωστικής ποικίλει αρκετά και εντοπίζεται τόσο στα κερατινοκύτταρα όσο και στα επιφανειακά και ιδιαίτερα στα χοριακά σπιλοκύτταρα.



Εικόνα 6. Φυσική εξέλιξη επίκτητου σπίλου

Εξ ορισμού τα σπιλοκύτταρα είναι παρόντα τόσο στην επιδερμίδα όσο και στο χόριο. Όσο βαθύτερα κατεβαίνουν τα κύτταρα τόσο μικρότερα γίνονται (Εικόνα 6β). Η λειτουργία αυτή ονομάζεται ωρίμανση και είναι ισχυρό στοιχείο καλοήθειας του σπίλου. Το κερατινοκυτταρικό επιθήλιο εμφανίζει μια τυπική επιμήκυνση των μεσοθήλαιων καταδύσεων.



Εικόνα 7α. Μεικτός σπίλος. Εμφανίζονται σπιλοκύτταρα τόσο στην δέρμο-επιδερμική περιοχή όσο και μέσα στο δέρμα



Εικόνα 7β. Μεικτός σπίλος

Στους μεικτούς σπίλους απουσιάζουν τα στοιχεία που συνιστούν έστω και μικρή κυτταρική ατυπία: μεγάλη ιωσινόφιλη νουκλεοτίδη καθώς και μιτώσεις. Στους περισσότερους μεικτούς σπίλους τα κύτταρα της βλάβης έχουν μικρό πυρήνα ο οποίος είτε δεν περιέχει αρκετή νουκλεοτίδη είτε έχει μικρή έως μέτρια ποσότητα μπλε νουκλεοτίδης. Η πυρηνική μεμβράνη ίσως είναι κανονική ή κάπως συσπειρωμένη, ιδιαίτερα στα μεγαλύτερα επιφανειακά σπιλοκύτταρα και ίσως υπάρχει σημαντική διακύμανση στο μέγεθος και το σχήμα του πυρήνα σε κάποιες βλάβες. Αν και οι περισσότεροι σπίλοι εμφανίζονται να αποτελούνται από ένα μόνο είδος κυττάρων, υπάρχει ένα χαρακτηριστικό μοντέλο ωρίμανσης από τον επιφανειακό κυτταρικό τύπο Α (μεγάλα, στρογγυλά, κεχρωσμένα κύτταρα), σε ένα άλλο βαθύτερο τύπο κυττάρων Β (μικρότερα, στρογγυλά, αχρωστικά κύτταρα). Σε κάποιες παλιές βλάβες εντοπίζεται και ένας τρίτος τύπος κυττάρων, C, στη βάση της βλάβης. Λόγω μιας μικρής αύξησης της ηωσινόφιλης στρωματικής ουσίας, ανάμεσα στα μεμονωμένα σπιλοκύτταρα που ακολουθούν αυτή τη διαδικασία της ωρίμανσης, τα κύτταρα τύπου C ίσως εμφανιστούν σημαντικά απομακρυσμένα το ένα από το άλλο. Αυτά τα κύτταρα τύπου C είναι διατεταγμένα ως ανακατεμένες δεσμίδες σε ένα χαρακτηριστικό μοντέλο. Ο τύπος Α των κυττάρων αναδεικνύεται περισσότερο με την πρωτεΐνη S-100, σε αντίθεση με τα κύτταρα C. Από την άλλη τα κύτταρα C αντιδρούν με το αντιγόνο AHMY1.

*Διαφορική διάγνωση:* Οι περισσότεροι μεικτοί σπίλοι αποτελούνται από σχετικά μεγάλα επιθηλιοειδή κύτταρα τύπου Α, τα οποία έχουν επιφανειακά χοντρόκκοκη μελανίνη και από μικρότερα κύτταρα τύπου Β, τα οποία έχουν λίγη ή και καθόλου μελανίνη στη βάση της βλάβης κοντά στο όριο του θηλώδους και του δικτυωτού χορίου. Τα σπιλοκύτταρα που εντοπίζονται στο χόριο, δηλαδή στη βάση της βλάβης, είναι πιο παλιά από εκείνα της επιδερμίδας και επομένως πιο ώριμα. Η διαδικασία αυτή της ωρίμανσης από τα μεγαλύτερα με περισσότερη χρωστική κύτταρα στα μικρότερα με λιγότερη χρωστική κύτταρα αποτελεί ένα σημαντικότερο χαρακτηριστικό διάκρισης των κοινών σπύλων από το οζώδες κακήθες μελάνωμα. Στο μελάνωμα τα κύτταρα είναι λιγότερο πιθανό να μικρύνουν και να περισσότερο πιθανό να διατηρήσουν τη χρωστική τους με την κάθοδό τους στο χόριο. Αυτό συμβαίνει ίσως γιατί στο μελάνωμα γίνεται πολλαπλασιασμός μελανοκυττάρων και είναι σχεδόν απίθανο τα βαθύτερα κύτταρα να είναι πιο ώριμα από τα επιφανειακά.

Στην βιβλιογραφία [2] αναφέρεται ότι οι βλάβες είναι συνήθως καλοήθεις αν τα επιφανειακά αλλά όχι και τα βαθύτερα κύτταρα έχουν χρωστική, ενώ οι περισσότεροι όγκοι είναι κακοήθεις αν υπάρχουν σποραδικά και απομονωμένα με χρωστική κύτταρα ή αν υπάρχουν ακανόνιστα τοποθετημένες μικρές ομάδες κυττάρων με χρωστική μέσα στη βλάβη.

Αν και η γενικότερη ομολογία συμφωνεί ότι η παρουσία χρωστικής στο βαθύτερο τμήμα ενός όζου μελανοκυττάρων αποτελεί μια σημαντική ενδεικτική παράμετρο κακοήθειας, υπάρχουν σπίλοι στους οποίους εμφανίζεται ο επονομαζόμενος «αντίστροφος τύπος μοντέλου κυττάρων Α», με τη χρωστική να αυξάνεται στη βάση της βλάβης σε ένα παράδοξο αλλά καλοήθες μοντέλο. Κάποιοι από αυτούς τους σπίλους είναι δυσπλαστικοί σπίλοι.

Η χρωστική στους σπίλους είναι συνήθως χοντρόκκοκη, ενώ η ταυτόχρονη παρουσία λεπτής με τη μορφή σκόνης και χοντρόκκοκης χρωστικής είναι ενδεικτική μελανώματος. Επίσης η χοντρόκκοκη χρωστική σημαίνει συμπαγή μελανοσώματα, τα οποία είναι περισσότερο χαρακτηριστικά των σπύλων, αλλά μπορούν να εντοπιστούν και σε μελανώματα, ενώ η χρωστική με τη μορφή σκόνης των μελανοσωμάτων εντοπίζεται σε κάποιο πληθυσμό μεμονωμένων, ανεπαρκώς χρωματισμένων προ-μελανοσωμάτων.

Επίσης στους μεικτούς σπίλους δεν υπάρχει σχεδόν καθόλου ανοσολογική αντίδραση του περιβάλλοντα στη βλάβη υγιούς ιστού. Ακόμα, δεν υπάρχει καμία ένδειξη αυτόματης νέκρωσης του εκτός από κάποιες εξαιρετικές περιπτώσεις πολυποειδών σπύλων. Οι περισσότεροι μεικτοί σπίλοι περιέχουν πολύ λίγα λεμφοκύτταρα ενώ ο εντοπισμός πολυάριθμων λεμφοκυττάρων είναι ενδεικτικός της ύπαρξης δυσπλαστικού σπύλου ή και μελανώματος.

### 2.3.5 Ενδοδερμικοί – Χοριακοί σπίλοι (Intradermal nevus)

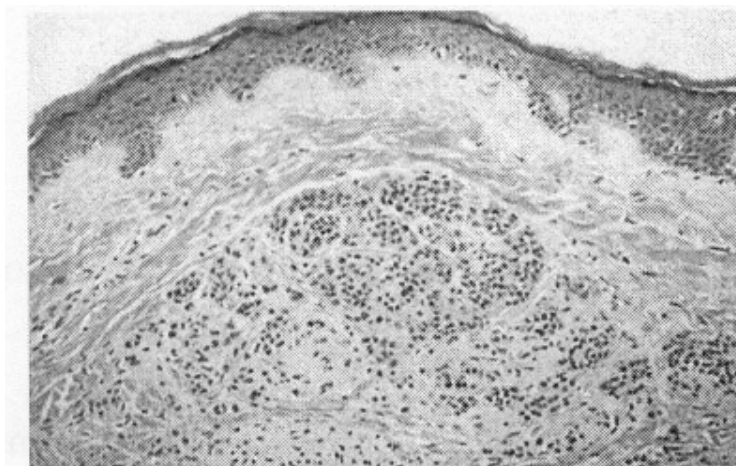
Ένας χοριακός μελανοκυτταρικός σπίλος είναι μια μελαχρωματική βλάβη στην οποία τα σπιλοκύτταρα περιορίζονται στο χόριο.

*Κλινικά χαρακτηριστικά:* Οι χοριακοί σπίλοι είναι καλά περιγεγραμμένοι και συμμετρικοί με χρώμα ροζ ή στις αποχρώσεις του δέρματος, αλλά κάποιες φορές έχουν απαλό σοκολατί ή ανοιχτό καφέ χρώμα και οι περισσότεροι έχουν διάμετρο 2-7 mm. Στην πλειοψηφία τους είναι τουλάχιστον ελαφρά επηρμένους (μπορεί όμως να είναι και επίπεδοι ή οζώδεις) αλλά με την πάροδο του χρόνου και με την

ωρίμανση του ατόμου γίνονται επίπεδοι και τελικά χάνονται. Τα όρια του χοριακού σπίλου είναι ομαλά και κυκλικά ενώ η χρωστική, αν υπάρχει, είναι εντελώς ομοιόμορφη στην υφή και στην κατανομή.

*Ιστολογικά χαρακτηριστικά:* Οι περισσότεροι μεικτοί σπίλοι είναι σχετικά μικρές, καλά περιγεγραμμένες, συμμετρικές βλάβες (Εικόνα 6γ) . Η επιδερμίδα είναι φυσιολογική ή επιπεδωμένη με εξαλειμμένες μεσοθήλαιες δερματικές καταδύσεις. Το επιφανειακό θηλώδες χόριο και η περιοχή της βασικής στιβάδας είναι ασήμαντη. Εξ ορισμού δεν υπάρχουν σπιλοκύτταρα στην επιδερμίδα.

Στο χόριο τα σπιλοκύτταρα είναι τοποθετημένα σε συμπλέγματα (clusters) είτε εξολοκλήρου μέσα σε ένα διαπλατυσμένο χόριο (σ' αυτή την περίπτωση το κατώτατο όριο του cluster είναι σχετικά επίπεδο), ή εκτείνονται από το θηλώδες χόριο στο δικτυωτό χόριο με ένα πιο ακανόνιστο, τυχαίο όριο. Έχουν είτε κυβοειδές (επιθηλιοειδές) είτε ατρακτοειδές σχήμα. Είναι χαρακτηριστικό για τα σπιλοκύτταρα να λεπταίνουν προοδευτικά καθώς εισέρχονται στο δικτυωτό χόριο με τα βαθύτερα κύτταρα να είναι μεμονωμένα και όχι με τη μορφή φωλεών και να γίνεται προοδευτικά δυσκολότερη η διάκρισή τους από τους ινοβλάστες. Αντίθετα τα σπιλοκύτταρα που εντοπίζονται στο θηλώδες χόριο συχνά εμφανίζουν ένα πιο τραχύ χαραγμένο κατώτατο όριο στη συμβολή με το φυσιολογικό ιστό. Η επέκταση των σπιλοκυττάρων στο τρίτο κατώτατο τμήμα του δικτυωτού χορίου, δίνει την υποψία συγγενή σπίλου ιδιαίτερα αν η βλάβη είναι μεγαλύτερη από 1.5 cm.



*Εικόνα 8α. Χοριακός σπίλος. Τα μελανοκύτταρα είναι κατανεμημένα στο εσωτερικό του δέρματος*





*Εικόνα 8β. Χοριακός σπίλος*

Στο χόριο τα σπιλοκύτταρα είναι τοποθετημένα σε συμπλέγματα (clusters) είτε εξολοκλήρου μέσα σε ένα διαπλατυσμένο χόριο (σ' αυτή την περίπτωση το κατώτατο όριο του cluster είναι σχετικά επίπεδο), ή εκτείνονται από το θηλώδες χόριο στο δικτυωτό χόριο με ένα πιο ακανόνιστο, τυχαίο όριο. Έχουν είτε κυβοειδές (επιθηλιοειδές) είτε ατρακτοειδές σχήμα. Είναι χαρακτηριστικό για τα σπιλοκύτταρα να λεπταίνουν προοδευτικά καθώς εισέρχονται στο δικτυωτό χόριο με τα βαθύτερα κύτταρα να είναι μεμονωμένα και όχι με τη μορφή φωλεών και να γίνεται προοδευτικά δυσκολότερη η διάκρισή τους από τους ινοβλάστες. Αντίθετα τα σπιλοκύτταρα που εντοπίζονται στο θηλώδες χόριο συχνά εμφανίζουν ένα πιο τραχύ χαραγμένο κατώτατο όριο στη συμβολή με το φυσιολογικό ιστό. Η επέκταση των σπιλοκυττάρων στο τρίτο κατώτατο τμήμα του δικτυωτού χορίου, δίνει την υποψία συγγενή σπίλου ιδιαίτερα αν η βλάβη είναι μεγαλύτερη από 1.5 cm.

Αν ένας σπίλος που λόγω ηλικίας θα έπρεπε να είναι χοριακός εμφανιστεί να επεκτείνεται και προς το όριο επιδερμίδας – χορίου, τότε χαρακτηρίζεται ότι έχει συνδεσμική ή οριακή δραστηριότητα.

Τα σπιλοκύτταρα του χορίου είναι συνήθως σχετικά μικρά στρογγυλά με λιγοστή χρωστική κύτταρα τύπου B, ή επιμηκυμένα κύτταρα χωρίς καθόλου χρωστική.

Στην πλειοψηφία τους στα κύτταρα των περισσότερων χοριακών σπύλων οι πυρήνες είναι μικροί και κάποιες φορές έχουν λίγη μπλε συμπυκνωμένη χρωματίνη αλλά δεν έχουν τη μεγάλη ηωσινοφιλική νουκλεοτίδη που εντοπίζεται στα μελανώματα. Η μίτωση και η αυθόρμητη νέκρωση απουσιάζει από τους χοριακούς σπύλους. Υπάρχει μικρή ή και καθόλου φλεγμονή της γύρω φυσιολογικής περιοχής. Αντίθετα η παρουσία αξιόλογου αριθμού λεμφοκυττάρων, η μιτωτική δραστηριότητα, η νέκρωση και η εστιακή διασταλτική ανάπτυξη επιβάλλει μια πιο προσεκτική θεώρηση για περίπτωση μελανώματος.



Διαφορική διάγνωση: Καθώς οι χοριακοί σπίλοι χάνουν τη χρώση τους και υποστρέφουν, έχουν χάσει το γνώρισμα της μελανοκυτταρικής διαφοροποίησης. Για το λόγο αυτό γίνεται χρήση ανοσοϊστοχημικών χρωστικών. Έτσι ο χρωματισμός με την πρωτεΐνη S-100 και με/ή με το αντιγόνο HMB-45 αποσκοπεί στην επιβεβαίωση της μελανοκυτταρικής διαφοροποίησης.

### 2.3.6 Δυσπλαστικοί (Άτυποι) σπίλοι (Dysplastic nevus)

Ένας σπίλος που αναπτύσσεται ενδοεπιδερμικά μπορεί να παρουσιάζει στοιχεία κυτταρικής ατυπίας οπότε και η διαφορική του διάγνωση από ένα κακόηθες μελάνωμα που αναπτύσσεται επίσης ενδοεπιδερμικά είναι πολύ δύσκολη. Οι σπίλοι αυτοί ονομάζονται άτυποι (παλιότερα δυσπλαστικοί) και θεωρείται ότι σε ποσοστό 30% αποτελούν προστάδιο κακοήθων μελανωμάτων. Οι δυσπλαστικοί σπίλοι αποτελούν παρέκκλιση των επίκτητων σπύλων που περιγράφηκαν αρχικά το 1978 σε οικογένειες με μεγάλο αριθμό κλινικώς άτυπων σπύλων και αυξημένη επίπτωση μελανώματος (τουλάχιστον δύο μέλη της οικογένειας είχαν εμφανίσει μελάνωμα). Σε αντίθεση με τους συνηθεις επίκτητους σπύλους, οι δυσπλαστικοί σπίλοι μπορούν να εμφανιστούν σε οποιαδήποτε ηλικία και έχουν κλινικά χαρακτηριστικά ανάλογα του μελανώματος. Προφανώς οι δυσπλαστικοί σπίλοι ταξινομήθηκαν κλινικώς ως άτυποι σπίλοι με την καθιέρωση δύο κύριων και τεσσάρων δευτερευόντων ιστολογικών χαρακτηριστικών για την ακριβή και αναπαραγώγιμη διάγνυσή τους (US Dept of Health 1992).

Ασθενείς με το σύνδρομο του οικογενούς άτυπου σπύλου – μελανώματος (FAMM – familial atypical mole – melanoma), γνωστού μέχρι πρότινος ως σύνδρομο των οικογενώς δυσπλαστικών σπύλων, βρίσκονται σε σημαντικά αυξημένο κίνδυνο αναπτύξης τόσο μελανώματος όσο και πολλαπλών πρωτοπαθών μελανωμάτων και σε νεαρότερη ηλικία. Ο συνολικός κίνδυνος μέχρι την ηλικία των 70 ετών στα μέλη οικογενειών με FAMM, [1], [2] ανέρχεται σχεδόν στο 100%. Πρόσφατα, ανακαλύφθηκε ότι αυτό το σύνδρομο σχετίζεται με το γονίδιο που βρίσκεται στο μικρό κομμάτι του χρωμοσώματος 1 και κληρονομείται κατά τον επικρατούντα τρόπο. Υπάρχουν όμως και άτομα με μη οικογενείς, δυσπλαστικούς (άτυπους) σπύλους. Οι σπίλοι αυτοί μπορεί να συνυπάρχουν με κοινούς σπύλους. Σποραδικώς άτυποι σπίλοι απαντούν στο 10% του γενικού πληθυσμού. Ο κίνδυνος εξαλλαγής τους σε μελάνωμα δεν μπορεί να καθοριστεί.

*Κλινικά χαρακτηριστικά:* Οι άτυποι σπίλοι (συνδεσμικοί και μικτοί) εμφανίζουν κλινικά χαρακτηριστικά ανάλογα του μελανώματος όπως διάμετρο μεγαλύτερη των 6-8mm, ανώμαλο όριο (περίμετρο), τοπογραφική ασυμμετρία, ακανόνιστη χρώση (καφεδοειδείς, ερυθροί και σαρκώδεις τόνοι) και συχνά η χρωστική φαίνεται να διεισδύει στο φυσιολογικό τριγύρω δέρμα. Η φυσική διαμόρφωση επίσης μπορεί να είναι ακανόνιστη, π.χ. σε ορισμένα σημεία υπερυψωμένη και σε άλλα επίπεδη. Επίσης είναι πιθανό οι βλάβες να είναι επίπεδες και να έχουν μια λεπτή στρώση που περιβάλλει μια κεντρική επηρμένη περιοχή. Ιστολογικά ένας ώριμος χοριακός ή μεικτός σπίλος συχνά εντοπίζεται σε αυτή την κεντρικά επηρμένη περιοχή, πράγμα που δημιουργεί την εντύπωση ότι οι ατυπία έχει ξεκινήσει από την περιφέρεια ενός προϋπάρχοντος καλοήθους σπίλου. Οι εντελώς επίπεδες βλάβες πιθανότατα ξεκίνησαν χωρίς την ύπαρξη κάποιου προηγούμενου σπίλου.

Οι βλάβες που εμφανίζουν προοδευτικά αλλαγές στο μέγεθος, στο σχήμα και στο χρώμα πρέπει να εξαιρεθούν ως ύποπτες για μελάνωμα. Οι δυσπλαστικοί σπίλοι με μέγεθος μικρότερο από 3-4mm είναι δύσκολο να διακριθούν από τους κοινούς σπίλους.

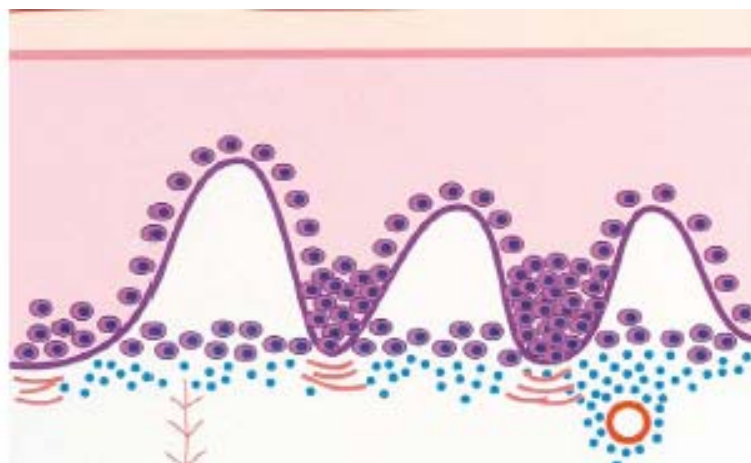
*Ιστολογικά χαρακτηριστικά:* Ιστολογικά οι δυσπλαστικοί σπίλοι διαφέρουν από τους κοινούς σπίλους στα αρχιτεκτονικά χαρακτηριστικά τους, στην παρουσία κυτταρικής ατυπίας και στην παρουσία φλεγμονής της γύρω περιοχής η οποία περιλαμβάνει χαρακτηριστικά ίνωσης και ανομοιογενή λεμφοκυτταρική διήθηση.

Η αρχιτεκτονική διαφοροποίηση αναγνωρίζεται από την εμφάνιση ενός μοτίβου επιμηκυμένου στις δερματικές πτυχές και με ένα αυξημένο αριθμό μεμονωμένων ή ομαδικών σπιλοκυττάρων στη βασική επιδερμίδα. Τυπικά, τα σπιλοκύτταρα ποικίλουν στο μέγεθος και στο σχήμα, είναι συνήθως τοποθετημένα με το μεγάλο τους άξονα παράλληλο προς την επιφάνεια του δέρματος. Υπάρχουν κάποιες φωλιές σπιλοκυττάρων που εμφανίζονται να ξεπερνούν ή να ενώνονται με τις γειτονικές δερματικές καταδύσεις ή να περιορίζονται ανάμεσα στις πτυχές των μεσοθήλαιων δερματικών καταδύσεων.

*Ιστολογικά* οι δυσπλαστικοί σπίλοι ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες: τους Φακοειδείς και τους Επιθηλιοειδείς. Οι πρώτοι και συχνότεροι παρουσιάζουν αυξημένα μελανοκύτταρα στη βασική στιβάδα με ποικίλο βαθμό ατυπίας δηλαδή πυρηνικό πολεομορφισμό, υπερχρωμία και σαφή κυτταρική άλω. Ένα χαρακτηριστικό είναι η δεσμοπλασία στο θηλώδες χόριο (φυλλώδης ινοπλασία). Οι

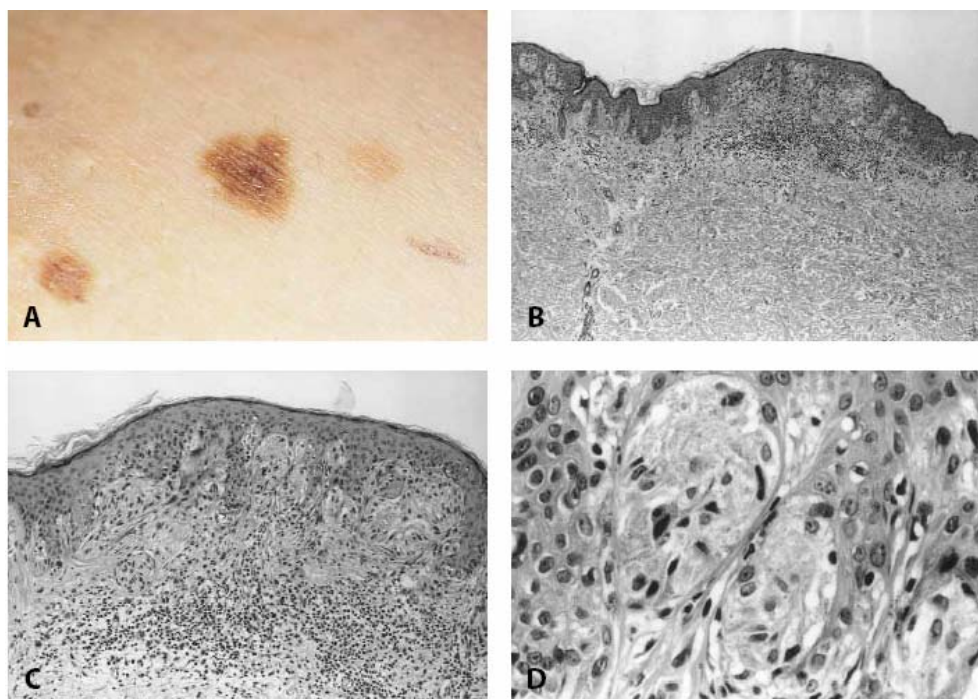
επιθηλιοειδείς συνίστανται από μεγαλύτερα κύτταρα με ηωσινόφιλο πρωτόπλασμα και κοκκώδη εναπόθεση μελανίνης, φουσαλιδώδης πυρήνες και μερικές φορές εμφανείς πυρηνίσκους. Και στους δύο τύπους παρατηρείται λεμφοκυτταρική διήθηση στο άνω χόριο.

Τόσο η ιστολογική όσο και η αρχιτεκτονική ατυπία είναι αναγκαίες για μια περισσότερο ειδική διάγνωση. Αν δεν εμφανίζεται ατυπία σε μια βλάβη που έχει λίγα ή περισσότερα χαρακτηριστικά που συνιστούν το μοντέλο του δυσπλαστικού σπίλου, πιθανότατα η βλάβη να πρέπει να ταξινομηθεί ως φακοειδής σπίλος (μη δυσπλαστικός, συνδεσμικός ή μεικτός). Αυτές οι βλάβες με αρχιτεκτονική αλλά όχι κυτταρική ατυπία είναι γενικά μικρότερες και με μικρή παρουσία κυττάρων σε σχέση με τους κλασικούς δυσπλαστικούς σπίλους.



*Εικόνα 9. Σχηματισμός σπίλου με αρχιτεκτονική ατυπία. Παρατηρείται η δημιουργία «φωλιών» παρουσία σπιλοκυττάρων, και η διήθηση λεμφοκυττάρων [3]*

Άσχετα με την παρουσία χοριακής συνιστώσας οι αρχικές διαγνωστικές αλλαγές της μελανοκυτταρικής δυσπλασίας εντοπίζονται στη φακοειδή συνδεσμική συνιστώσα της βλάβης (δηλαδή η δυσπλασία μπορεί να ξεκινήσει από το όριο της βασικής μεμβράνης και να επεκταθεί προς τα κάτω). Η δυσπλασία μπορεί να επεκταθεί στην επιδερμίδα πάνω από το θηλώδες χόριο, αλλά περισσότερο χαρακτηριστικά, εντοπίζεται στην επιδερμίδα με επέκταση σε μια μεικτή βλάβη με δύο ή και τρεις δερματικές καταδύσεις και συνήθως πολύ πιο κάτω από το πιο τελευταίο χοριακό σπιλοκύτταρο.



*Εικόνα 10. Δυσπλαστικός σπίλος. Κλινική ατυπία με ιστολογική δυσπλασία [3].*

Σε ένα συνδεσμικό δυσπλαστικό σπίλο, οι αλλαγές είναι εντελώς ενδοεπιδερμικές. Ο προϋπάρχοντας κυρίαρχος κυτταρικός τύπος στις περισσότερες βλάβες είναι ίδιος με αυτόν του κοινού σπίλου, με σχετικά αραιό αλλά αναγνωρίσιμο κυτταρόπλασμα, λιγοστή χοντρόκκοκη μελανίνη και συχνά με ένα βαθμό κυτταροπλασματικής συστολής συγκρίσιμο με αυτόν που παρατηρείται στα φυσιολογικά μελανοκύτταρα. Επίσης στους δυσπλαστικούς σπίλους παρατηρείται και ένας ακόμα τύπος κυτάρων εκτός από τα φυσιολογικά σπιλοκύτταρα. Αυτά τα κύτταρα που συνήθως αποτελούν μειοψηφία και κάποιες φορές επικρατούσα μορφή του ολικού πληθυσμού είναι μεγαλύτερα από τα πιο πολλά κοινά σπιλοκύτταρα και έχουν πιο άφθονο κυτταρόπλασμα (π.χ. είναι επιθηλιοειδή κύτταρα). Το κυτταρόπλασμα μπορεί να περιέχει σχετικά αραιή, με «λεπτό» τρόπο κατανεμημένη, κονιορτοποιημένη μελανίνη (οι δυσπλαστικοί σπίλοι δεν είναι τόσο πολύ μελαχρωματικοί όσο οι κοινόι σπίλοι). Οι πυρήνες αυτών των επιθηλιοειδών κυτάρων ποικίλουν περισσότερο από των κοινών σπιλοκυττάρων. Κάποιοι είναι μεγαλύτεροι με κάπως ακανόνιστες και μη στρογγυλές πυρηνικές μεμβράνες, ενώ κάποιοι άλλοι έχουν εμφανώς μεγάλη ιωσινόφιλη ή αμφίφιλη νουκλεοτίδη. Αυτός ο τύπος κυτάρων των δυσπλαστικών σπίλων εμφανίζουν τόσο πυρηνική όσο και κυτταροπλασματική ατυπία.

Η εμφάνιση ανωμαλιών στο DNA σε συνδυασμό με άτυπα μοντέλα ανάπτυξης είναι συμβατά με το μοντέλο ανάπτυξης του όγκου που ξεκινά από ένα απλό μελανοκύτταρο και εξελίσσεται σε ένα κακόηθες μελάνωμα με ενδιάμεσο στάδιο εκείνο του δυσπλαστικού σπίλου. Αυτό επιβεβαιώνεται από την ιστολογική εξέταση των μελανωμάτων, όπου ένας θεωρούμενος πρόδρομος δυσπλαστικός σπίλος είναι εμφανής γειτονικά (εφαπτομενικά) με το μελάνωμα σε περίπου 30% των περιπτώσεων.

Τα κύτταρα του δυσπλαστικού σπίλου μπορούν να διαφοροποιηθούν ανοσοϊστοχημικά από εκείνα του απλού σπίλου και του μελανώματος. Πρόσφατα βρέθηκε δραστικότητα του αντιγόνου HMB-45 στα σπιλοκύτταρα του χορίου δυσπλαστικών σπύλων με μέτρια και σημαντική μορφή ατυπίας. Αυτό το αντιγόνο δε δρα με τα κύτταρα που βρίσκονται στο χόριο ενός φυσιολογικού σπίλου. Επίσης με χρήση ενός συνόλου από 16 μονόκλωνων αντισωμάτων επιτεύχθηκε διάκριση ανάμεσα στην ακτινική και κατακόρυφη φάση ανάπτυξης των μελανωμάτων, πράγμα που απέτυχε ανάμεσα στους δυσπλαστικούς σπύλους και στα μελάνωματα με ακτινική φάση ανάπτυξης. Αυτά τα αποτελέσματα ενισχύουν τη θεωρία ότι οι δυσπλαστικοί σπύλοι αποτελούν μια ενδιάμεση κατάσταση στην ανάπτυξη μελανοκυτταρικού όγκου ανάμεσα στους κοινούς σπύλους και στην ακτινική φάση ανάπτυξης του μελανώματος.

Η ατυπία στους δυσπλαστικούς σπύλους μπορεί να διαβαθμιστεί από ήπια έως σοβαρή για παραστατικούς λόγους. Η ήπια ατυπία συνίσταται σε ένα αυξημένο σε μέγεθος πυρήνα και κάποιες φορές εντυπωσιακή υπερχρωμία. Η μέτρια και η σοβαρή ατυπία σχετίζεται με την προοδευτική μεγέθυνση του πυρήνα ο οποίος αποκτά ακανόνιστο και μη στρογγυλό σχήμα, τον περισσότερο έντονο πολεομορφισμό, και με την ηωνοσινοφιλική νουκλεοτίδη σε κάποιες σοβαρές μορφές ατυπίας. Τα κύτταρα έχουν περισσότερο ευδιάκριτο κυτταρόπλασμα το οποίο είναι γεμάτο μελανοκύτταρα.

Οι μιτώσεις οι οποίες σε ποσοστό 30% γίνονται στην επιδερμίδα στα μελάνωματα, είναι πολύ σπάνιες στους δυσπλαστικούς σπύλους. Στο μελάνωμα αυτά τα άτυπα κύτταρα κυριαρχούν σε ένα διαρκή σχεδόν πανομοιότυπο πολλαπλασιασμό στην επιδερμίδα και στο θηλώδες χόριο (ομοιόμορφη κυτταρική ατυπία). Όταν η σοβαρή πυρηνική ατυπία σχετίζεται με την τάση για ενδοεπιδερμική διάχυση η οποία δεν εκτείνεται πιο πέρα από τα κατώτερα 2/3 της επιδερμίδας (και δεν

υπάρχουν κάποια άλλα στοιχεία που να υποδεικνύουν κακοήθεια), τότε χρησιμοποιείται ο όρος «σοβαρή μελανοκυτταρική ατυπία» ως ένδειξη ότι η βλάβη έχει κάποια χαρακτηριστικά που υποθέτουν ξεκίνημα μελανώματος. Όταν αυτές οι ομαδικές αλλαγές εκτείνονται μέχρι την κοκκώδη και κερατίνη στιβάδα τότε η πιθανή διάγνωση είναι ένα in situ μελάνωμα.

#### **2.3.6.1. Ιστολογικά κριτήρια για διάγνωση δυσπλαστικών σπύλων**

- **Αρχιτεκτονική:**

*Μέγεθος συνήθως μεγαλύτερο από 4mm (κλινικά 5mm)*

*Επιφανειακή μόνο πλάκα (συνδεσμικός) ή πλάκα που περιβάλλει το θηλώδες χόριο (μεικτός)*

*Δικτυωτές γέφυρες*

*Φωλιές στις άκρες της δερματικής κατάδυσης*

*Μεμονωμένα κύτταρα ανάμεσα στις φωλιές οι οποίες υπερέχουν*

*Φακοειδής ανάπτυξη της δερματικής κατάδυσης*

*Συνένωση των δερματικών καταδύσεων*

- **Κυτταρολογία:**

*Ελαφριά έως μέτρια ατυπία*

*Μεγαλονουκλεοτίδη (κάποιες φορές)*

*Σκεδασμένα επιθηλιοειδή σπιλοκύτταρα*

*Σκεδασμένα κύτταρα με κονιορτοποιημένη μελανίνη*

- *Καθόλου εντυπωσιακή ατυπία, λίγες μιτώσεις, μικρή ή καθόλου ομαδική Διάχυση*
- *Η εμφάνιση λεμφοκυτταρικής απόκρισης σε μια συγκεκριμένη περιοχή (band – like) υποθέτει μελάνωμα*
- *Οι δυσπλαστικοί σπύλοι δεν μπορούν να αναγνωριστούν αξιόπιστα όταν είναι μικρότεροι από 2mm*

<b>Μεικτοί – Δυσπλαστικοί σπίλοι</b> <b>(Compound vs Dysplastic Nevus)</b> <b>Αρχιτεκτονικά χαρακτηριστικά</b>	
Διάμετρος 4mm ή και λιγότερο	Διάμετρος συνήθως μεγαλύτερη από 4mm και σπάνια μεγαλύτερη από 10 mm
Εξολοκλήρου θηλωματώδης βλάβη	Είτε εξολοκλήρου macular είτε η macular συνιστώσα περιβάλλει το θηλώδες χόριο
Αρκετά συμμετρική	Ελαφρώς συμμετρική
Ανυπαρξία φακοειδούς συνδεσμικού τμήματος	Εξολοκλήρου φακοειδής ή φακοειδές κομμάτι στα άκρα του θηλώδους χορίου
Απουσία επιμήκυνσης, συμπίεσης ή κάποιας δικτυωτής γέφυρας στα άκρα του χοριακού τμήματος	Ομοιόμορφη ελαφριά επιμήκυνση της δερματικής πτυχής στο φακοειδές τμήμα με συμπιεσμένες φωλιές.
<b>Ανοσολογική Αντίδραση</b>	
Απουσία λεμφοκυττάρων	Ανομοιογενή λεμφοκύτταρα στο χόριο
Απουσία ηωσινοφιλικής και διάχυτης ινοπλασίας	Συνήθως υπάρχει ηωσινοφιλική ινοπλασία ενώ σπάνια συναντάται διάχυτη ινοπλασία
Μικρός ή ανύπαρκτος αγγειακός πολλαπλασιασμός ή ενδοθηλιακή υπερτροφία στο θηλώδες χόριο	Πιθανή ύπαρξη μέτριας υπερτροφίας των ενδοθηλιακών κυττάρων και ελαφριά αύξηση στα αγγεία

<b>Κυτταρικά χαρακτηριστικά</b>	
Ανυπαρξία άτυπων σπιλοκυττάρων στην επιδερμίδα	Μέτρια και σποραδική κυτταρική ατυπία στην επιδερμίδα
Απουσία μακρονουκλεοτίδης (ή πολύ σπάνια)	Συχνότατη παρουσία μακρονουκλεοτίδης στη μειοψηφία των κυττάρων της βλάβης στην επιδερμίδα
Επιθηλιοειδή κύτταρα συνήθως χωρίς ομοιόμορφα κατανεμημένη κυτταροπλασματική χρωστική	Σκεδασμένα άτυπα επιθηλιοειδή κύτταρα με κονιορτοποιημένη χρωστική, νουκλεοτίδη ανισοκαρύωση
Ύπαρξη χρωστικής επιφανειακά κυρίως	Η χρωστική μπορεί να εντοπίζεται επιφανειακά αλλά και βαθύτερα στα χοριακά σπιλοκύτταρα

## 2.4 Κακοήθεις νεοπλασίες – Μελάνωμα

Το μελάνωμα είναι κακοήθης όγκος των μελανοκυττάρων. Αποτελεί το 1% - 3% όλων των κακοήθων 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.

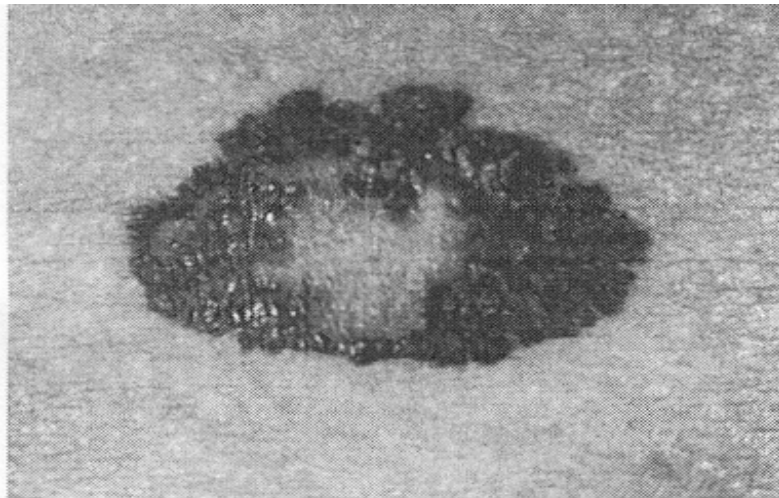
### 2.4.1 Αιτιολογία – Παθογένεση

Αρκετοί παράγοντες έχουν ενοχοποιηθεί στην αιτιολογία και παθογένεση. Οι σημαντικότεροι από αυτούς είναι η υπεριώδης ακτινοβολία και η γενετική προδιάθεση του ατόμου για την ανάπτυξη μελάνωματος 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 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 σε βόρειους 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 οικογενές 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 11. Μελάνωμα*

Το μελάνωμα μπορεί να αναπτυχθεί de novo, σε έδαφος προϋπάρχοντος σπύλου ή σε έδαφος κακοήθους φακής. Όταν προϋπάρχει σπίλος το μελάνωμα αναπτύσσεται από το συνδεσμικό συντελεστή του μελανοχρωματικού σπύλου (συνδεσμικός και μεικτός σπίλος) με εξαίρεση τους γιγαντιαίους συγγενείς μελανοχρωματικούς σπύλους όπου αναπτύσσεται και από ενδοδερμικά στοιχεία [3].

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

Τα χαρακτηριστικά ενός σπίλου που τον κάνουν 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 μνημονοτεχνικώς ως ABCD (A=asymmetry, B=border irregularity, C=color variation, D=diameter enlargement) [2].

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 λεμφοαγγλίων 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. Τα παραπάνω δεν παίζουν προγνωστικό ρόλο.

## 2.4.2 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 εξαλλασσονται σε κακόηθες 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 διηθεί προς το χόριο οπότε και μετατρέπεται σε αμιγές κακόηθες 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 κακόηθες μελάνωμα είναι πολύ δύσκολη και υποκειμενική.

Το κακόηθες μελάνωμα ιστογενετικώς διακρίνεται σε τέσσερις τύπους επί τη βάση ιστολογικών αλλά και κλινικών χαρακτηριστικών [4]: Επιπολής εξαπλούμενο μελάνωμα (superficial spreading melanoma), Οζώδες μελάνωμα (Nodular malignant melanoma), Φακιδοειδές μελάνωμα (Lentigo malignant melanoma) και Μελάνωμα των άκρων (Acral lentiginous melanoma).

### ***Επιπολής εξαπλούμενο μελάνωμα (superficial spreading melanoma).***

Είναι ο συνηθέστερος τύπος μελανώματος (70%). Ο τύπος αυτός του μελανώματος είναι μια βλάβη διαμέτρου 2,5cm ή μικρότερη. Η περιφέρεια της πλάκας παρουσιάζει γωνιακές ή άλλου σχήματος προεξοχές. Αυτό μπορεί να επαίρεται ελαφρώς ή πολύ. Οι επηρμένες βλάβες μπορεί να αποτελούνται από μικρά ή πολυάριθμα ογκίδια. Το χρώμα της ίδιας βλάβης παρουσιάζει ποικιλίες

ευρέως λ.χ. καφεδοειδές, μαύρο, ερυθρό, ροζ και ακόμα γκριζωπό ή λευκό (θέσεις αποχρωματισμού). Η κατανομή των χρωμάτων είναι τυχαία.

Η βλάβη μπορεί να ελκωθεί ή να αιμορραγεί και να υπάρχει απώλεια της γράμμωσης. Ο κνησμός είναι συχνό σύμπτωμα. Ο όγκος εντοπίζεται στις ηλιοεκτεθειμένες περιοχές αλλά μπορεί να συμβεί και οπουδήποτε αλλού.

Η επέκτασή του για κάποιο χρονικό διάστημα γίνεται στις επιπολείς στιβάδες του δέρματος. Όταν η βλάβη δείχνει οριζόντια μόνο φάση ανάπτυξης τότε πρόκειται για *in situ* επιπολής εξαπλούμενο μελάνωμα. Αργά ή γρήγορα περνά στη φάση της διηθητικής – κάθετης ανάπτυξης. Επάρματα στην επιφάνεια αποτελούν ένδειξη ότι ο όγκος έχει περάσει στην επιθετική διηθητική (κάθετη) φάση. Όταν αρχίσει να αναπτύσσεται προς κάθετη κατεύθυνση, προς τις βαθύτερες στιβάδες του δέρματος, τότε αρχίζουν και οι μεταστάσεις.

Στη διάρκεια της οριζόντιας ανάπτυξής του (που μπορεί να κρατήσει χρόνια), δημιουργούνται συγκεντρώσεις άτυπων μελανοκυττάρων στη χόριο-επιδερμική συμβολή καθώς και σε περισσότερο επιφανειακές θέσεις της επιδερμίδας. Ιστολογικά τα μελανοκύτταρα παρουσιάζονται ομοιόμορφα κακοήγη. Τα μεγάλα κύτταρα μπορεί να είναι μεμονωμένα ή σε φωλιές και είναι ομοιόμορφα άτυπα. Τα κακοήγη κύτταρα καταλαμβάνουν και τις ανώτερες επιδερμικές στιβάδες και είναι συνήθως επιθηλιοειδούς τύπου (κυβοειδή).



*Εικόνα 12. Επιφανειακά εξαπλούμενο μελάνωμα*

Σε περιοχές διήθησης παρατηρούνται επίσης μεγάλα μελανοκύτταρα. Τα άτυπα κύτταρα έχουν άφθονο πρωτόπλασμα και πλειόμορφους, φουσαλιδώδεις πυρήνες με εμφανείς ηωσινόφιλους πυρηνίσκους. Από οζώδεις βλάβες παρατηρείται πυκνή συγκέντρωση των κακοήγων κυττάρων στο χόριο δηλαδή επεκτείνονται από τις

επιδερμικές μεσοθήλαιες καταδύσεις στις θηλές κατά συνέχεια. Οι καλοήθεις μελαχρωματικές βλάβες αντίθετα χαρακτηρίζονται από το ότι τα άτυπα μελανοκύτταρα προσβάλουν μόνο τις μεσοθήλειες καταδύσεις.

### ***Οζώδες μελάνωμα (Nodular malignant melanoma)***

Αποτελεί το 15% όλων των μελανωμάτων. Είναι ο περισσότερο κακοήθης τύπος, επιθετικός από την εμφάνισή του. Η διήθησή του – κάθετη ανάπτυξη προς τους υποδερμικούς ιστούς γίνεται από την αρχή ενώ η οριζόντια επέκτασή του είναι εξαιρετικώς βραχεία και έτσι δεν υπάρχει στο ιστορικό του ασθενούς το στοιχείο της μεγεθύνσεως της βλάβης. Το οζώδες μελάνωμα παρουσιάζει τη μεγαλύτερη τάση να μετατίσεται στους λεμφαδένες και να αποτελεί την πιο θανατηφόρα μορφή μελανώματος.



*Εικόνα 13. Οζώδες μελάνωμα*

Μπορεί να αναπτυχθεί σε κάθε θέση, σε κλινικά υγιές δέρμα ή σε συνδυασμό με ένα μελανοκυτταρικό σπτίλο. Αρχικά η βλάβη μπορεί να είναι μια μικρή μαύρη κηλίδα η οποία γίνεται αντιληπτή ως ένα βαθυχρωματικό σφαιρικό οζίδιο ή ως μια επηρμένη πλάκα με απολύτως ομοιόμορφο βαθύ σκοτεινό χρωματισμό. Το χρώμα είναι συνήθως μαύρο ή μπλε – γκρι, αλλά μπορεί να είναι καφεδοειδές ή λαμπερό ερυθρό. Το ογκίδιο μπορεί να παρουσιάζει κεντρική ωχρότητα ή να είναι ανωμάλως μελανοχρωματικό.

Η εξέλκωση της βλάβης και η αιμορραγία φανερώνει επιδερμική διείσδυση. Η επιδερμική προσβολή συνοδεύεται και από χοριακή διείσδυση. Η τοπική διήθηση των λεμφαγγείων μπορεί να δημιουργεί κυκλικές ή γραμμοειδείς δορυφόρες βλάβες.

Το οζώδες μελάνωμα χαρακτηρίζεται από ταχεία ανάπτυξη και από γρήγορη λεμφαγγειακή και αιματογενή διασπορά.

Στο οζώδες μελάνωμα η διήθηση αρχίζει από τη δερμοεπιδερμидική συνένωση και επεκτείνεται προς το χόριο. Η ενδοεπιδερμидική ανάπτυξη παρουσιάζεται μόνο ως αποτέλεσμα της επέκτασης του όγκου και προσβολής προς τα πάνω της επιδερμίδας από μια ομάδα καρκινικών κυττάρων. Το οζώδες μελάνωμα μπορεί να παρουσιάζει μεγάλα επιθηλιοειδή κύτταρα ή ατρακτοειδή κύτταρα ή μικρά κύτταρα ή μίγμα διαφόρων κυττάρων. Τα κύτταρα μπορεί να έχουν άφθονο πρωτόπλασμα και μεγάλους πυρήνες με ηωσινοφιλικούς πυρηνίσκους.

**Φακιδοειδές μελάνωμα (*Lentigo malignant melanoma*).** Αποτελεί το 5% των διαφόρων μορφών του μελανώματος και αναπτύσσεται σε έδαφος κακοήθους φακής. Η συνήθης κλινική εμφάνιση της βλάβης πριν γίνει διηθητική είναι επίπεδη, με ποικίλη χρώση (κυανή ή μαύρη), και με ανωμάλως κατανεμημένα μαύρα οζίδια. Σε αυτή άτυπα μελανοκύτταρα αναπτύσσονται ακτινωτά και οριζόντια, παράλληλα προς την επιφάνεια της επιδερμίδας στο όριο επιδερμίδας – χορίου. Η οριζόντια ανάπτυξη της μορφής αυτής εκτείνεται μερικές φορές για 2 – 3cm ή περισσότερο. Σε ποσοστό άγνωστο θα εξελιχθεί σε διηθητικό μελάνωμα. *Μακροσκοπικώς* η διηθητικότητα της βλάβης εμφανίζεται ως αύξηση της ανωμαλίας του περιγράμματος και οζώδης επιφάνεια. Η παρουσία ανασηκωμένης επιφάνειας σε μια τέτοια βλάβη με μικρούς όζους είναι ένδειξη της κάθετης ανάπτυξης των μελανοκυττάρων, αφ' ενός προς την επιφάνεια της επιδερμίδας και αφ' ετέρου προς το χόριο δηλαδή διήθησης. Τότε πρόκειται για κακόηθες μελάνωμα που αναπτύσσεται σε έδαφος κακοήθους φακής.

*Ιστολογικά* στο επίπεδο μέρος της βλάβης και στις καφεδοειδείς περιοχές παρατηρείται αύξηση των μελανοκυττάρων, ορισμένα είναι φυσιολογικά, ενώ άλλα είναι μεγαλύτερα και άλλα άτυπα με περίεργα σχήματα, κατανεμημένα κατά βάθος της βασικής στιβάδας. Έχουν ακανόνιστο υπερχρωματικό πυρήνα και κοινοτοπία στο πρωτόπλασμα. Συνήθως υπάρχει υπερχρωμάτωση και αφορά και τα γειτονικά κερατινοκύτταρα και τα ενδοδερμικά μακροφάγα (μελανοφάγα). Στις μαύρες περιοχές του επίπεδου μέρους παρατηρούνται πολυάριθμα μελανοκύτταρα με ποικίλους μορφολογικούς χαρακτήρες τα οποία αντικαθιστούν τα κύτταρα της βασικής στιβάδας σχηματίζοντας μια δική τους στιβάδα. Αυτό συνοδεύεται από υπερμελάγχρωση και από ατροφία των ακανθωτών κυττάρων. Οι θηλές του χορίου

παρουσιάζουν έντονη και πυκνή διήθηση από λεμφοκύτταρα και μακροφάγα με μελανίνη. Σε ορισμένες θέσεις στο χόριο βρίσκονται φωλιές από κακοήγη μελανοκύτταρα τα οποία το προσβάλλουν. Οι φωλιές αντιστοιχούν στις οζιδιακές βλάβες.

**Μελάνωμα των άκρων (*Acral lentiginous melanoma*).** Εμφανίζεται συνήθως στις περιοχές που το δέρμα είναι παχύ και σκληρό. Χαρακτηρίζεται κλινικά από μία κηλίδα με ανώμαλη περιφέρεια και ποικιλία στο χρωματισμό και στην οποία υπάρχουν βλατίδες ή οζίδια. Στη φάση της οριζόντιας ανάπτυξής του έχει τους χαρακτήρες τόσο του φακοειδούς όσο και του επιπολής εξαπλωμένου μελανώματος. Η βασική στιβάδα της επιδερμίδας αντικαθίσταται από μεγάλα άτυπα μελανοκύτταρα τα οποία τείνουν να εξαπλωθούν τόσο προς την επιφάνεια όσο και προς το χόριο.

#### 2.4.3 Πρόγνωση μελανώματος με βάση την ιστοπαθολογία της βλάβης

Η πρόγνωση του μελανώματος εκτιμάται [1], [2] 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)

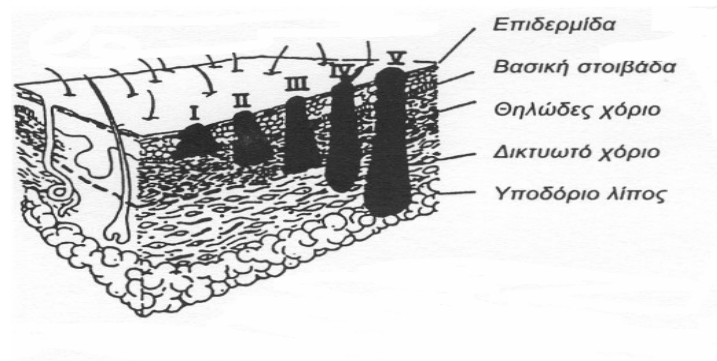
*Επίπεδο 1:* τα άτυπα κύτταρα βρίσκονται στην επιδερμίδα (melanoma in situ)

*Επίπεδο 2:* διήθηση του θηλώδους χορίου, χωρίς όμως να πληρούται. Είναι η πλέον επιπολής διήθηση του μελανώματος

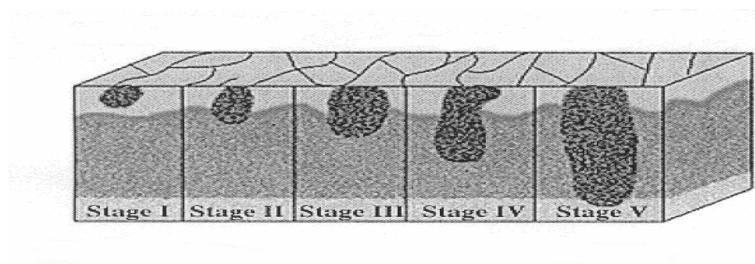
*Επίπεδο 3:* πλήρωση του θηλώδους χορίου

*Επίπεδο 4:* είσοδος στο δικτυωτό χόριο

*Επίπεδο 5:* διείσδυση στο υποδερματικό λίπος

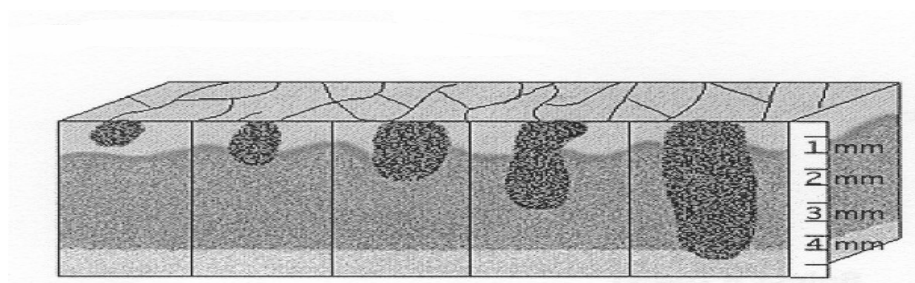


α)



β)

Εικόνα 14 α) και β). Η κατά Clark μικροσκοπική σταδιοποίηση του μελανώματος



Εικόνα 15. 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 λ.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.



### 3. Αλληλεπίδραση οπτικής ακτινοβολίας με ιστούς

#### 3.1 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  $\lambda$  και μία συχνότητα  $\nu$  που συνδέονται με τη σχέση,

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

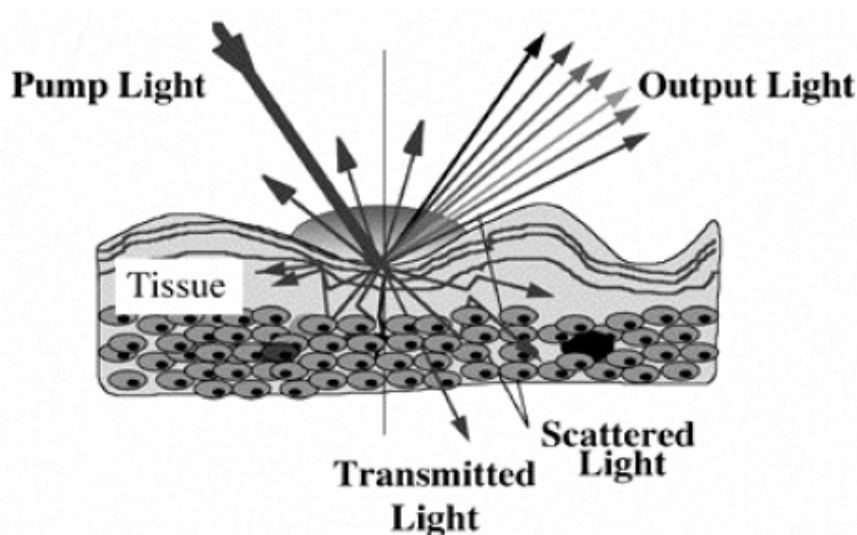
όπου  $c$  είναι η ταχύτητα του φωτός ( $3 \cdot 10^8 \text{ m/sec}$ ).

Η πρόσπτωση της φωτεινής ακτινοβολίας σε ύλη μπορεί να συνοδευτεί είτε από διάδοση του φωτός χωρίς να συμβεί απορρόφηση είτε από εξ' ολοκλήρου 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.

Κατά τη βιοψία που είναι ο συνηθέστερος τρόπος διάγνωσης του καρκίνου, γίνεται αφαίρεση του υπό εξέταση ιστού, κάτι που έχει ως αποτέλεσμα την 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. Βασίζονται στην βιοϊατρική ανάλυση του δείγματος μέσω των χαρακτηριστικών οπτικών ιδιοτήτων των ιστών [6]. 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.



Εικόνα16. Αρχή λειτουργίας οπτικής βιοψίας[6]

## 3.2 Οπτικές ιδιότητες ιστών

### 3.2.1 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 [10] και όχι μοντέλα διακριτών κέντρων σκέδασης και απορρόφησης καταμετρημένα 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  $\mu_a$ , ο συντελεστής σκέδασης  $\mu_s$  και ο βαθμός ανισοτροπίας  $g$ .

Ο συντελεστής απορρόφησης  $\mu_a$  έχει διαστάσεις αντιστρόφου μήκους και η αντίστροφη ποσότητα  $1/\mu_a$  εκφράζει τη μέση ελεύθερη διαδρομή μέχρι να συμβεί

απορρόφηση. Ο συντελεστής σκέδασης  $\mu_s$  έχει επίσης διαστάσεις αντιστρόφου 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 εξασθένισης,  $\mu_t$ . Ο λόγος του συντελεστή σκέδασης προς τον ολικό συντελεστή εξασθένισης προσδιορίζει μια αδιάστατη ποσότητα  $\alpha$ , 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  $\mu_s$  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 αντιστρόφου μήκους και η αντίστροφη ποσότητα  $1/\mu_s'$  εκφράζει τη μέση ελεύθερη διαδρομή έως η τροχιά του φωτονίου γίνει τυχαία.

### 3.2.2 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 [10]. Η θεωρία μεταφοράς έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς και εφαρμόζεται σε μεγάλο αριθμό πρακτικών προβλημάτων.

### 3.2.3 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  $L(\mathbf{r}, \mathbf{s})$  ( $W m^{-2} sr^{-1}$ ). 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 [10].

### 3.2.4 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  $\mu\text{m}$ .

Για την επιλογή της περιοχής όπου η απορρόφηση υπερτερεί έναντι της σκέδασης εφαρμόζεται το κριτήριο  $\mu_a > 10\mu_s(1-g)$ , [9]. 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 ακτινοβόληση διατηρεί την εμπρόσθια διεύθυνση κατά τη διάδοση της μέσα στον ιστό και με πολύ αργό ρυθμό γίνεται πιο ισότροπη λόγω σκέδασης. Επίσης και πιο σύνθετες γεωμετρίες ακτινοβόλησης και μοντελοποίησης ιστού μπορούν εύκολα να μελετηθούν στην περίπτωση που κυριαρχεί το φαινόμενο της απορρόφησης.

### 3.2.5 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 εμφανίζεται αύξηση της ενεργειακής ροής στην περιοχή κοντά στην επιφάνεια του ιστού, λόγω 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 πολυωνύμων Legendre. Στην προσέγγιση της θεωρίας διάχυσης διατηρούνται οι δύο πρώτοι όροι του αθροίσματος (ισότροπης σκέδασης και σκέδασης προς την εμπρόσθια

διεύθυνση). 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 το προφίλ της προσπίπτουσας ακτινοβολίας 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 γεωμετριών ιστού και ακτινοβολήσης ελαττώνουν το πεδίο εφαρμογής της θεωρίας διάχυσης.

### 3.2.6 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 [10]. Στο πρόβλημα της οπτικής μεταφοράς η μέθοδος Monte Carlo καταγράφει τη διαδρομή των φωτονίων καθώς αυτά σκεδάζονται ή απορροφούνται. 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 [13].

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.

### **3.3 Διαδικασίες που έπονται της απορρόφησης της ακτινοβολίας από τον ιστό**

#### **3.3.1 Επαγόμενη θέρμανση ιστού λόγω απορρόφησης φωτεινής ακτινοβολίας**

Οι θερμικές ιδιότητες των ιστών καθορίζονται από τρεις διαφορετικούς μηχανισμούς: την ικανότητα μεταφοράς θερμότητας με θερμική αγωγιμότητα, την ικανότητα αποθήκευσης θερμότητας και το ρυθμό αιματικής ροής. Η εκκίνηση της θερμικής αγωγιμότητας καθορίζεται από τις χωρικές διακυμάνσεις θερμοκρασίας και πραγματοποιείται ροή θερμότητας από περιοχές υψηλής θερμοκρασίας σε χαμηλότερες θερμοκρασιακά περιοχές. Η παράμετρος που περιγράφει το μηχανισμό της αποθήκευσης θερμότητας είναι η ειδική θερμότητα, η οποία εκφράζει την αλλαγή στην αποθηκευόμενη θερμότητα ανά μονάδα μάζας ιστού για αύξηση της θερμοκρασίας κατά ένα βαθμό Κελσίου.

Η θέρμανση του ιστού πραγματοποιείται με τη μετατροπή της ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας σε θερμική. Η φωτοθερμική αυτή διαδικασία συμβαίνει όταν βιομόρια που έχουν απορροφήσει κβάντα φωτός και έχουν μεταβεί σε διεγερμένη κατάσταση επιστρέφουν στη βασική κατάσταση με μη ακτινοβολητικό τρόπο, μεταφέροντας την ενέργεια στον ιστό.

Στο θερμικό τρόπο αλληλεπίδρασης η επιλογή του μήκους κύματος και του είδους του ιστού καθορίζουν το βάθος διείσδυσης της φωτεινής ακτινοβολίας. Η θερμική δράση επηρεάζεται από τη διατομή της προσπίπτουσας δέσμης, το χρόνο έκθεσης καθώς και το οπτικό βάθος διείσδυσης.

Υπάρχουν οι εξής τύποι θερμικών αποτελεσμάτων:

*Υπερθερμία (Hyperthermia)*: αύξηση ορισμένων βαθμών της θερμοκρασίας του ιστού (γύρω στους 41 °C). Μπορεί να αξιοποιηθεί λόγω της διαφορετικής θερμοευαισθησίας που παρουσιάζουν υγιή και καρκινικά κύτταρα.

*Θερμοπηξία (Photocoagulation)*: αντιστοιχεί σε αύξηση θερμοκρασίας από 50 - 100 °C διάρκειας ορισμένων δευτερολέπτων. Μπορεί να επάγει αποξήρανση του



ιστού, συνοδευόμενη από αναδιάταξη πρωτεϊνών και κολλαγόνου. Κυρίως χρησιμοποιείται για αιμόσταση.

*Εξάτμιση (Vaporization)*: αντιστοιχεί σε απώλεια της ουσίας. Τα διάφορα συστατικά του ιστού εξαχνώνονται σε θερμοκρασία ανώτερη των 100 °C, σε σύντομο χρονικό διάστημα (δέκατα του δευτερολέπτου).

### 3.3.2 Φωτοχημικές αντιδράσεις

Φωτόνια στην περιοχή του υπεριώδους και φωτόνια με μικρό μήκος κύματος (μεγάλη ενέργεια) στην περιοχή του ορατού μπορούν να προκαλέσουν φωτοχημικές αντιδράσεις ως αποτέλεσμα της απορρόφησης τους από ενδογενή χρωμοφόρα μόρια του ιστού. Όταν ένα φωτόνιο απορροφηθεί από ένα χρωμοφόρο μόριο και προκαλέσει μετάβαση του μορίου σε μια διεγερμένη ενεργειακή κατάσταση, η ενέργεια του φωτονίου έχει αποθηκευτεί ως χημική ενέργεια. Η διεγερμένη κατάσταση του μορίου μπορεί να συμμετάσχει στη συνέχεια σε μια χημική αντίδραση. Μια ποικιλία φωτοχημικών αντιδράσεων μπορούν να λάβουν χώρα, όπως σπάσιμο δεσμών, σχηματισμός ελεύθερων ριζών ή φωτοκαταστροφή του χρωμοφόρου.

Μια ειδικού τύπου φωτοχημική αντίδραση είναι η φωτοδυναμική θεραπεία. Μια φωτοευαίσθητοποιός ουσία εισάγεται στο σώμα και συγκεντρώνεται επιλεκτικά σε καρκινικά κύτταρα. Ακτινοβολήση με κατάλληλου μήκους κύματος φωτεινή πηγή προκαλεί διέγερση της ουσίας.

Μάλιστα η ενεργοποίηση των εξωγενών αυτών χρωμοφόρων γίνεται συνήθως από λιγότερο ενεργητικά φωτόνια με μεγαλύτερα μήκη κύματα στην περιοχή του ορατού. Η διεγερμένη κατάσταση αντιδρά με το οξυγόνο, παράγοντας τοξικά προϊόντα όπως είναι το μονήρες οξυγόνο που καταστρέφουν τα καρκινικά κύτταρα.

## 3.4 Πολυφασματική και Υπερφασματική απεικόνιση

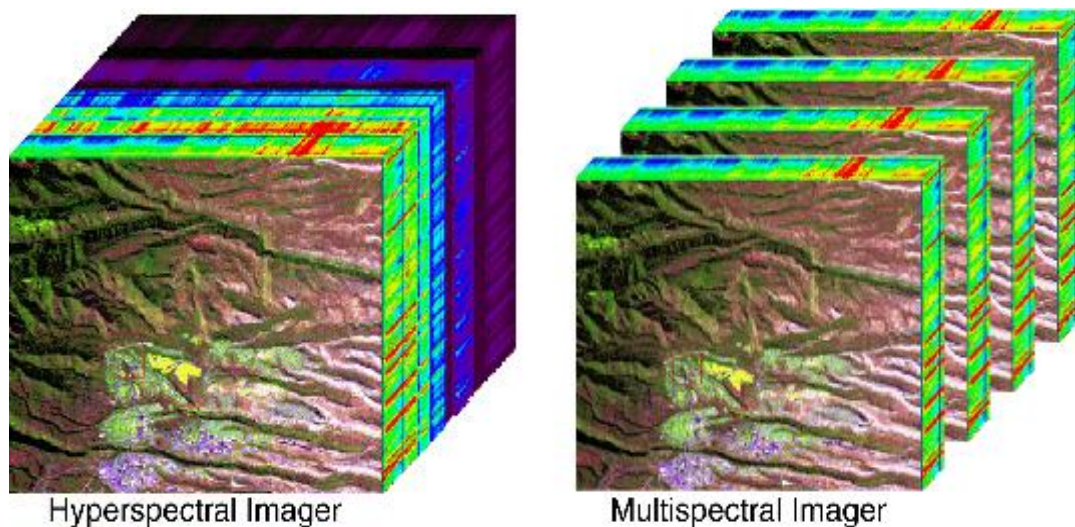
Η ανάλυση δομικά ανομοιογενών φυσικών αντικειμένων, όπως είναι οι ανθρώπινοι ιστοί, απαιτεί την ανάπτυξη απεικονιστικών συστημάτων ικανών να παράσχουν πληροφορίες για την σύσταση και την δομή τους σε κάθε χωρικό σημείο της υπό ανάλυση περιοχής. Ουσιαστικά το ζητούμενο στις εφαρμογές αυτές είναι η ανάπτυξη μιας νέας τεχνολογίας μέσω της οποίας θα

καθίσταται δυνατή η μέτρηση των φασματικών χαρακτηριστικών ενός μεγάλου αριθμού σημείων του υπό εξέτασιν ανομοιογενούς πεδίου, ταυτόχρονα και εξ αποστάσεως. Αντίστοιχο αποτέλεσμα με την συμβατική τεχνολογία θα μπορούσε να επιτευχθεί με την χρήση ενός μεγάλου αριθμού φασματόμετρων (πάνω από 500.000) σε παράλληλη διάταξη, όπου κάθε ένα από αυτά καταγράφει φασματική πληροφορία από ένα επιμέρους χωρικό σημείο [11]. Είναι προφανές ότι η προσέγγιση αυτή είναι ασύμφορη και πρακτικά μη υλοποιήσιμη.

Η προσπάθεια συνδυασμένης καταγραφής χωρικής και φασματικής πληροφορίας ξεκίνησε εδώ και αρκετά χρόνια με κύριο πεδίο εφαρμογής τις επιστήμες περιβάλλοντος και της δορυφορικής παρατήρησης. Οι πρώτες προσεγγίσεις βασίζονταν στην χρήση δέσμης οπτικών ινών σε γραμμική διάταξη η οποία μετέφερε το ανακλώμενο φως από μια διαμήκη περιοχή του εξεταζόμενου πεδίου σε έναν μονοχρωμάτορα. Η διάταξη αυτή επιτρέπει την καταγραφή φασματικής πληροφορίας κατά μήκος της μίας χωρικής διάστασης. Η καταγραφή 2-διάστατης πληροφορίας απαιτεί σάρωση του πεδίου κατά μήκος της άλλης διάστασής του, η οποία στις προαναφερθείσες εφαρμογές εξασφαλίζεται με την κίνηση της φέρουσας το σύστημα πλατφόρμας (π.χ. δορυφόρος).

Είναι προφανές ότι η τεχνολογία αυτή απαιτεί απόλυτη σταθερότητα σχετικής θέσης της μετρητικής διάταξης, σε σχέση με την μετρούμενη περιοχή. Ένας άλλος περιορισμός είναι ότι δεν είναι δυνατή η σε πραγματικό χρόνο παρατήρηση και η καταγραφή της εικόνας του αντικειμένου μια και αυτή μπορεί να κατασκευαστεί από την χωρική κατανομή των φασματικών εντάσεων και μόνο μετά την ολοκλήρωση της χωρικής σάρωσης. Πέραν του κόστους και της απαιτούμενης υπολογιστικής ισχύος τα προαναφερθέντα τεχνικά χαρακτηριστικά δεν ικανοποιούν τις απαιτήσεις ενός μεγάλου αριθμού δυνητικών εφαρμογών. Για το λόγο αυτό τα τελευταία χρόνια άρχισε να διερευνάται η δυνατότητα χρήσης 2-διάστατων απεικονιστικών ανιχνευτών για την καταγραφή διακεκριμένων φασμάτων σε κάθε εικονοστοιχείο τους. Αυτό οδήγησε στην ανάπτυξη απεικονιστικών μονοχρωμάτορων οριοθετώντας την σύνθεση διαφόρων μεθόδων και τεχνολογιών απεικόνισης και φασματοσκοπίας και την ανάπτυξη συστημάτων Πολυφασματικής και Υπερφασματικής Απεικόνισης με σαφώς αναβαθμισμένες

διαγνωστικές δυνατότητες [11]. Στα συστήματα Πολυφασματικής απεικόνισης, οι απεικονιστικοί μονοχρωμάτορες, οι σχετικά απλές διατάξεις και επιτρέπουν την λήψη εικόνων σε δέκα ή λιγότερες διαφορετικές περιοχές του οπτικού φάσματος. Αντίθετα στην περίπτωση της Υπερφασματικής απεικόνισης οι μονοχρωμάτορες επιτρέπουν την λήψη διαδοχικών εικόνων σε 30-100 διαφορετικές περιοχές του οπτικού φάσματος και ως εν τούτου η τεχνολογία τους είναι πολύ υψηλού επιπέδου και σε αρκετές περιπτώσεις εμπιστευτική.



*Εικόνα17.Υπερφασματική και πολυφασματική απεικόνιση*

Η υπάρχουσα τεχνολογία συστημάτων Υπερφασματικής Απεικόνισης συνίσταται ουσιαστικά σε ειδικά φίλτρα τα οποία συζευγνύονται οπτικά με απεικονιστικούς ανιχνευτές οι οποίοι καταγράφουν τις διερχόμενες από το φίλτρο στενές φασματικά εικόνες. Τα εν λόγω φίλτρα έχουν την ιδιότητα να αλλάζουν την φασματική περιοχή στα οποία αυτά είναι διαπερατά, κάτω από την επίδραση μεταβαλλόμενου ηλεκτρικού πεδίου [11]. Έτσι, αντί της χωρικής σάρωσης η τεχνολογία αυτή βασίζεται στην φασματική σάρωση, η οποία επιτρέπει την παρατήρηση σε πραγματικό χρόνο και την καταγραφή στενών φασματικά εικόνων με την δυνατότητα άμεσης επιλογής του μήκους κύματος απεικόνισης. Ακόμη, παρέχεται η δυνατότητα αποθήκευσης διαδοχικών εικόνων κατά μήκος του φάσματος με αρκετά μεγάλη ταχύτητα και δυνητικά ο μετέπειτα υπολογισμός των φασμάτων σε διάφορα χωρικά σημεία από τις καταχωρημένες εικόνες .

Οι μονοχρωμάτορες είναι ταξινομημένοι βάση της τεχνολογίας που εφαρμόζουν. Πιο συγκεκριμένα, υπάρχουν τρεις κύριες κατηγορίες μονοχρωμάτορων απεικόνισης: τα *ακουστικοοπτικά* μεταβλητά φίλτρα (AOTF), τα μεταβλητά φίλτρα *υγρών κρυστάλλων* (LCTF) και τα μετασχηματισμένα *Fourier παρεμβολόμετρα* (FTI) [11].

Η ολοκλήρωση των υπερφασματικών τεχνολογιών στα κοινά οπτικά μικροσκόπια, οδηγούν στην ανάπτυξη ενός πολύτιμου διαγνωστικού εργαλείου και τα πρόσφατα ερευνητικά αποτελέσματα έχουν καταδείξει τη μεγάλη δυνατότητα της φασματικής απεικόνισης στη μικροσκοπία. Αφ' ετέρου διάφοροι περιορισμοί αυτών των συσκευών έχουν αναφερθεί όπως η περιορισμένη φασματική έκταση (AOTFs, LCTFs), χαμηλή ρυθμοαπόδοση (AOTFs, LCTFs), εικόνα που μετατοπίζεται κατά τη διάρκεια ρύθμισης του μήκους κύματος (AOTFs), μη-πραγματική χρονική φασματική απεικόνιση (FTI), χρονοβόρα απόκτηση (FTI).

Επιπλέον τα σχετικά εξαρτήματα-όργανα είναι σε όλες τις περιπτώσεις ακριβά, λεπτά και περίπλοκα. Αυτοί οι τεχνολογικοί περιορισμοί αποτρέπουν τη δυνατότητα εφαρμογής αυτών των συστημάτων στην *in vivo* (εντός του οργανισμού), μη καταστρεπτική ανάλυση των ζωντανών ιστών. Σε αυτόν τον τομέα εφαρμογής, οι απαιτήσεις για την απόδοση συστημάτων είναι υψηλές, επειδή, σε αντίθεση με αυτό που συμβαίνει στη μικροσκοπία, η γεωμετρία φωτισμός-απεικόνισης δεν μπορεί να ελεγχθεί με μεγάλη ακρίβεια.

Η φασματική ανάλυση των ζωντανών ιστών απαιτεί την ανάπτυξη προηγμένων μονοχρωμάτορων απεικόνισης που πρέπει να συνδυάζουν τα ακόλουθα τεχνικά χαρακτηριστικά γνωρίσματα: α) φασματική απεικόνιση σε πραγματικό χρόνο για την επιθεώρηση και την εστίαση, β) υψηλή φασματική ανάλυση και ευρεία φασματική έκταση, γ) υψηλή ρυθμοαπόδοση προκειμένου να αποφευχθούν η μακροχρόνια έκθεση και έντονη διέγερση από το φως, δ) γρήγορη σύλληψη των ακολουθιών εικόνας έτσι ώστε να ελαχιστοποιηθεί η επιρροή των μικροκινήσεων στην εγγραφή της εικόνας.

#### 4. Ανασκόπηση βιβλιογραφίας σε μεθόδους διάγνωσης και διάκρισης αλλοιώσεων του δέρματος

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.

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].

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 μέθοδο διάκρισης, με σημαντικές βελτιώσεις ως προς την διαγνωστική ακρίβεια, χρησιμοποιήθηκε ευρέως( *Friedman et al 1985, Steiner et al 1987, Binder et al 1995*) . 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 (1992), [26]* 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 κακοήθων μελανωμάτων από απλές αλλοιώσεις χωρίς όμως μεγάλη επιτυχία λόγω του μεγάλου αριθμού παραμέτρων που απαιτούνταν .

*Cotton et. Al (2002), [24]* προσπάθησαν να ερευνήσουν τα χαρακτηριστικά που συσχετίζονται με τις μελαγχρωματικές αλλοιώσεις του δέρματος μέσω ενός ειδικά ανεπτυγμένου συστήματος φασματοφωτομετρικής ενδοεπιδερμικής ανάλυσης (spectrophotometric intracutaneous analysis scope (SIAscope)) (Astron Clinica, Cambridge, UK).

Το σύστημα (Εικόνα 18) εξετάζει μια 24x24mm περιοχή και αντλεί πληροφορίες για τα συστατικά του δέρματος. Περιλαμβάνει 8 φασματικές περιοχές (στο ορατό και στο κοντινό υπέρυθρο σε μήκη κύματος 400-1000nm) όπου θεωρητικά μπορεί να προσδιορίσει την κατανομή του κολλαγόνου, του αίματος και της μελανίνης στο επιθηλιακό δέρμα.

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

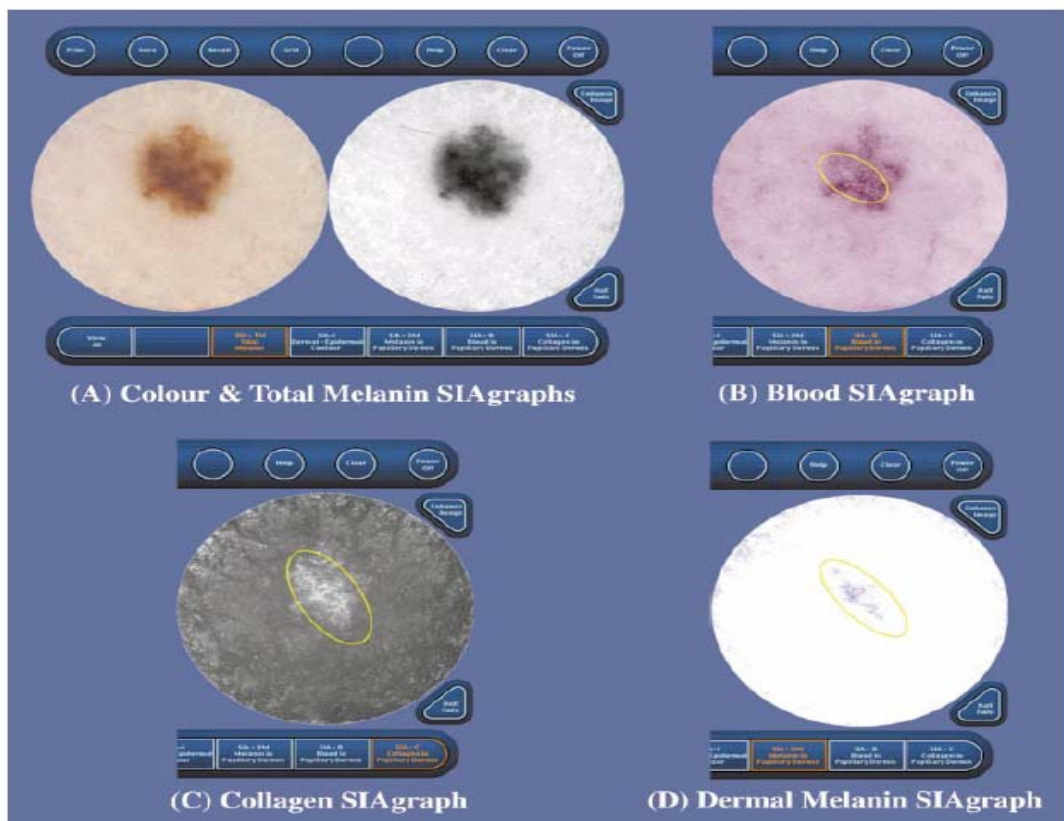


*Εικόνα18.SIAscope*

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 έχει αναφερθεί (Κεφάλαιο 2), το βάθος διείσδυσης της μελανίνης σχετίζεται με τον βαθμό κακοήθειας μιας αλλοίωσης.

Στην Εικόνα 18 αναπαρίσταται ένα επιφανειακό μελάνωμα (Clark's level II). Στα σχήματα απεικονίζεται η αλλοίωση ενώ παράλληλα πραγματοποιείται απομόνωση

διαφόρων παραμέτρων, όπως η συνολική ποσότητα μελανίνης, το αίμα, το κολλαγόνο και η επιδερμική μελανίνη, που υπάρχουν σε αυτήν.



*Εικόνα 19.Γραφήματα που ελήφθησαν από το SIAscope που απεικονίζει: Α)RGB απεικόνιση και συνολική μελανίνη στην αλλοίωση, Β) Γράφημα αίματος στην αλλοίωση, C)Ποσότητα κολλαγόνου και, D) Επιδερμική μελανίνη.*

Η συγκεκριμένη έρευνα προσπαθεί να αξιοποιήσει τις πληροφορίες που εξάγονται μέσω της πυκνότητας και της θέσης της μελανίνης, της αιμοσφαιρίνης και του κολλαγόνου. Η έρευνα παρουσιάζει ικανοποιητικά αποτελέσματα όσον αφορά την διάκριση μεταξύ μελανωμάτων και σπύλων. Ειδικότερα, στους μεικτούς και στους χοριακούς σπύλους τα μελανοκύτταρα του δέρματος περνούν σε φάση «ωρίμανσης», ενώ παράλληλα διακόπτεται η παραγωγή μελανίνης, στοιχείο που βοηθάει στην διάκριση τους από τα μελανώματα όπου η παραπάνω διαδικασία δεν ακολουθείται.

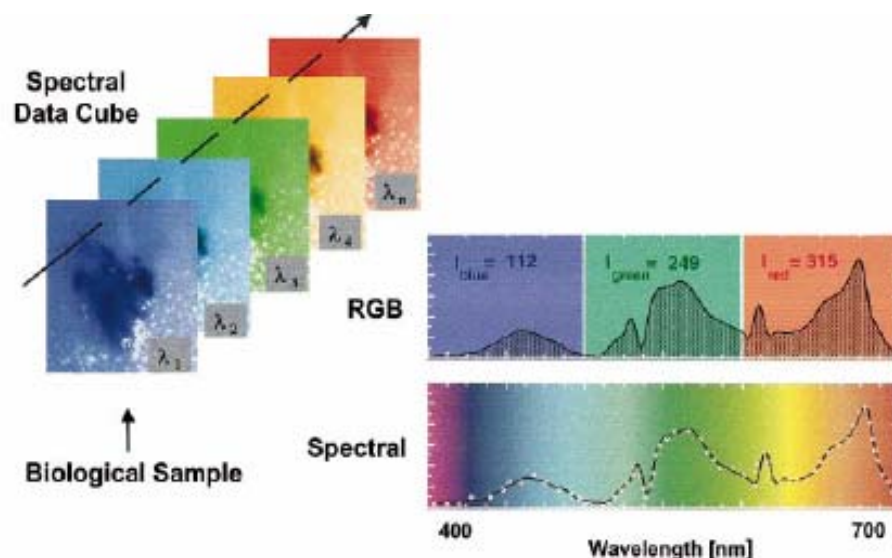
Τα τελευταία χρόνια διάφορες ερευνητικές ομάδες εφάρμοσαν διάφορες τεχνικές έτσι ώστε να ξεπεραστεί το πρόβλημα της διάγνωσης τέτοιων αλλοιώσεων, οι οποίες βασίζονται σε απεικονιστική ανάλυση σε ηλεκτρονικό υπολογιστή



(Computer Image Analysis) επιχειρώντας να προβάλλει τις ληφθείσες ποσοτικές μετρήσεις μέσω ενός αντικειμενικού και εύκολο να αναπαραχθεί τρόπου.

Πολλές ερευνητικές ομάδες ακολούθησαν μεθόδους διάγνωσης καρκινικών και προκαρκινικών αλλοιώσεων μέσω φασματικής απεικόνισης (Spectral imaging) μεθόδου που αναλύθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο. Η φασματική απεικόνιση επιτρέπει την φασματική και χωρική ανάλυση μακροσκοπικών και μικροσκοπικών δειγμάτων και επιτρέπει την λήψη ενός υψηλής ανάλυσης φάσματος της έντασης σε σχέση με το μήκος κύματος [25]. Το αποτέλεσμα είναι ένας «κύβος» εικόνας που περιέχει τόσο φασματικές όσο και χωρικές πληροφορίες.

Οι φασματικές πληροφορίες μπορούν να αξιοποιηθούν, συγκρινόμενα με τα φασματικά χαρακτηριστικά κάποιων βιολογικών ουσιών που είναι ήδη γνωστά. Έτσι θεωρητικά είναι δυνατόν να βρεθεί το ποσοστό συνεισφοράς της κάθε ουσίας στο συνολικό φάσμα που λαμβάνεται.



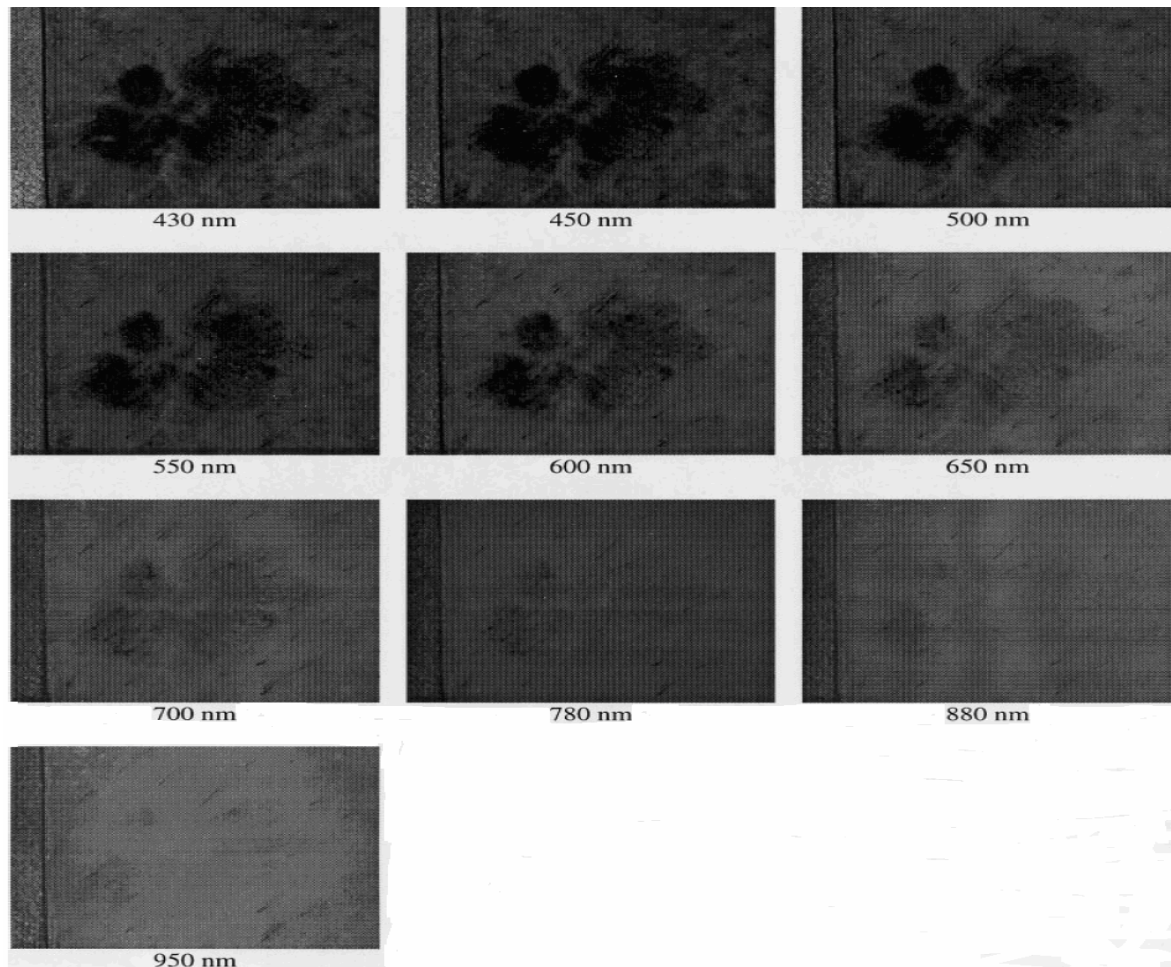
*Εικόνα 20. Φασματική απεικόνιση. Το βιολογικό δείγμα απεικονίζεται σε διαφορετικά μήκη κύματος είτε στο ορατό είτε και σε μεγαλύτερες φασματικές περιοχές ( hyper-spectral)*

Gutkowitz-Krusin et al [27] προσπάθησαν μέσω του προσδιορισμού διάφορων παραμέτρων απεικόνισης να διαφοροποιήσουν τις κακοήθεις βλάβες (μελανώματα) από απλούς σπίλους. Το σύστημα έκανε συλλογή εικόνων, με την βοήθεια 10 στενών παρεμβατικών φίλτρων που ήταν τοποθετημένα σε ένα «τροχό» στην φασματική περιοχή (430-950nm), με ένα πολυφασματικό δερμοσκόπιο (MelaFind).



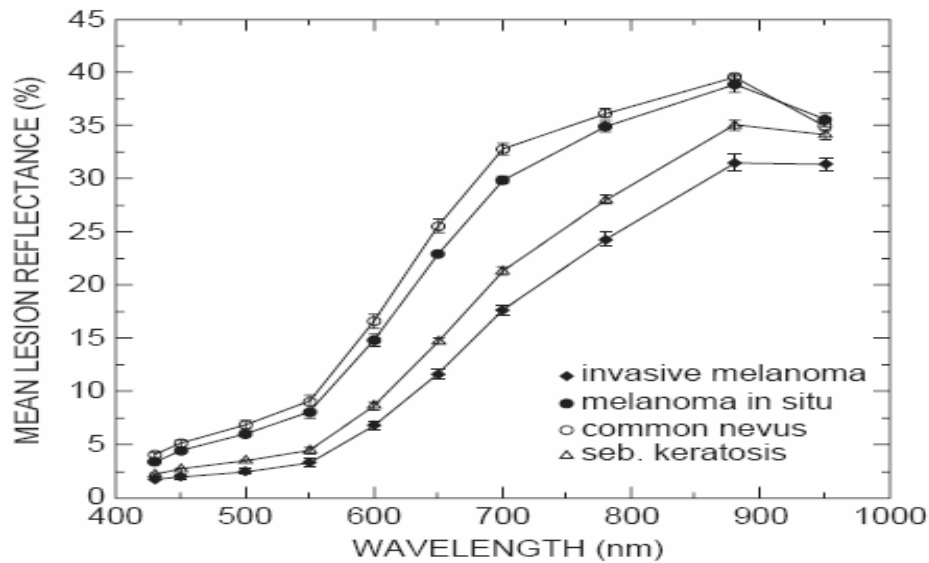
Οι παράμετροι που εκτιμήθηκαν στην περιοχή της αλλοίωσης ήταν, η μέγιστη διάμετρος της αλλοίωσης, η περίμετρος της, η ολική φασματική ανάκλαση, η χρωματική ποικιλότητα, και η ασυμμετρία της αλλοίωσης.

Στην Εικόνα 21 φαίνεται μια σειρά απεικονίσεων σε διάφορα μήκη κύματος ενός μελανώματος *in situ* που ελήφθησαν μέσω του συστήματος που χρησιμοποίησαν οι προαναφερθέντες ερευνητές.



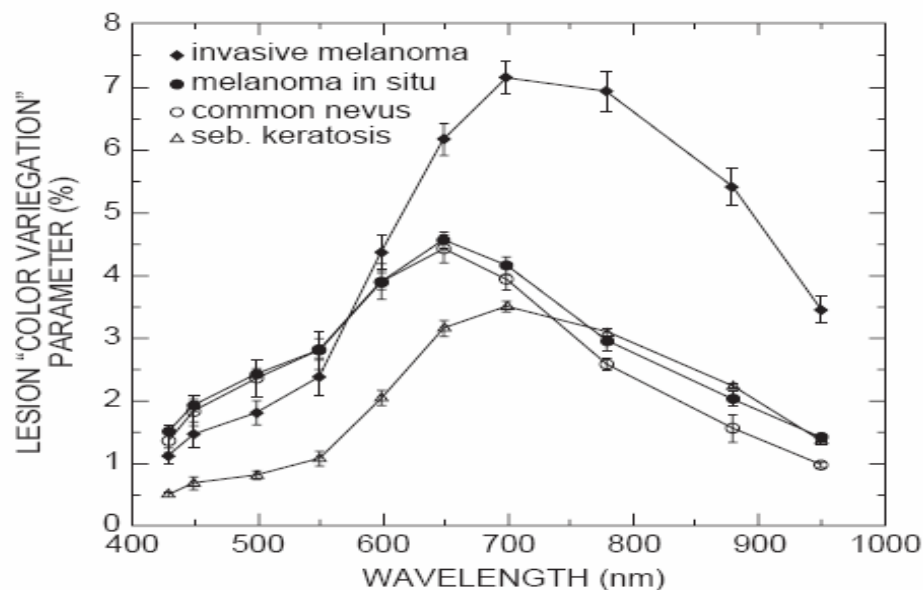
*Εικόνα 21. Μελάνωμα in situ*

Στην Εικόνα 22 απεικονίζεται η μέση ανάκλαση σε συνάρτηση με το μήκος κύματος για τέσσερις δερματικές αλλοιώσεις (εξαπλούμενο μελάνωμα, μελάνωμα *in situ*, κοινός σπίλος, και κερατινώδης αλλοίωση)



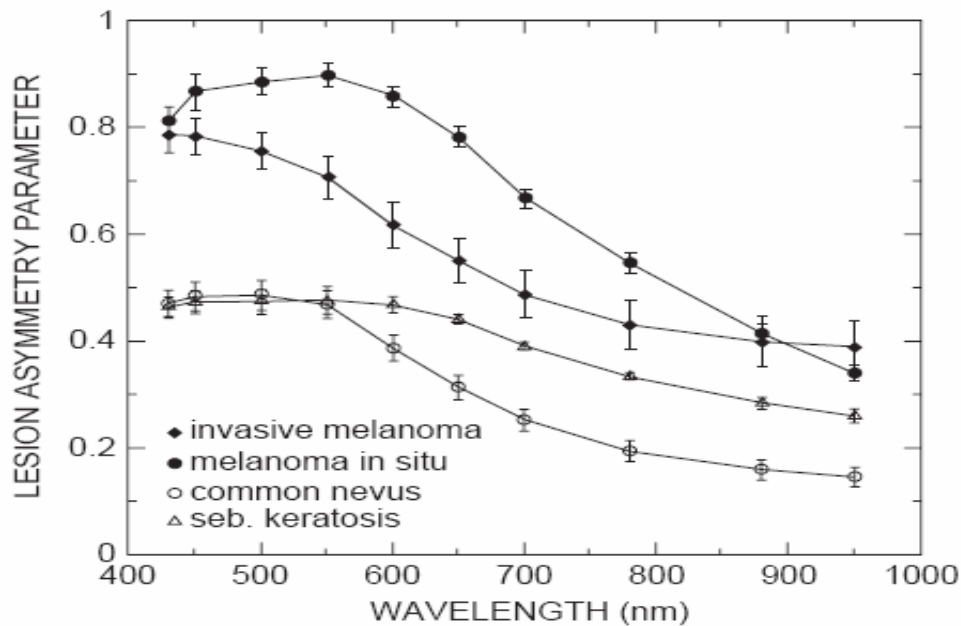
Εικόνα 22. Μέση ανάκλαση από 4 διαφορετικά είδη αλλοιώσεων

Στην Εικόνα 23 αναπαρίστανται η χρωματική ποικιλότητα των προαναφερθείς αλλοιώσεων. Παρατηρήθηκε ότι για όλες τις αλλοιώσεις η παράμετρος «ποικιλοχρωμίας» ήταν μέγιστη στην «κόκκινη» φασματική περιοχή (650-700nm) .



Εικόνα 23. Ποικιλοχρωμία τεσσάρων διαφορετικών δερματικών αλλοιώσεων

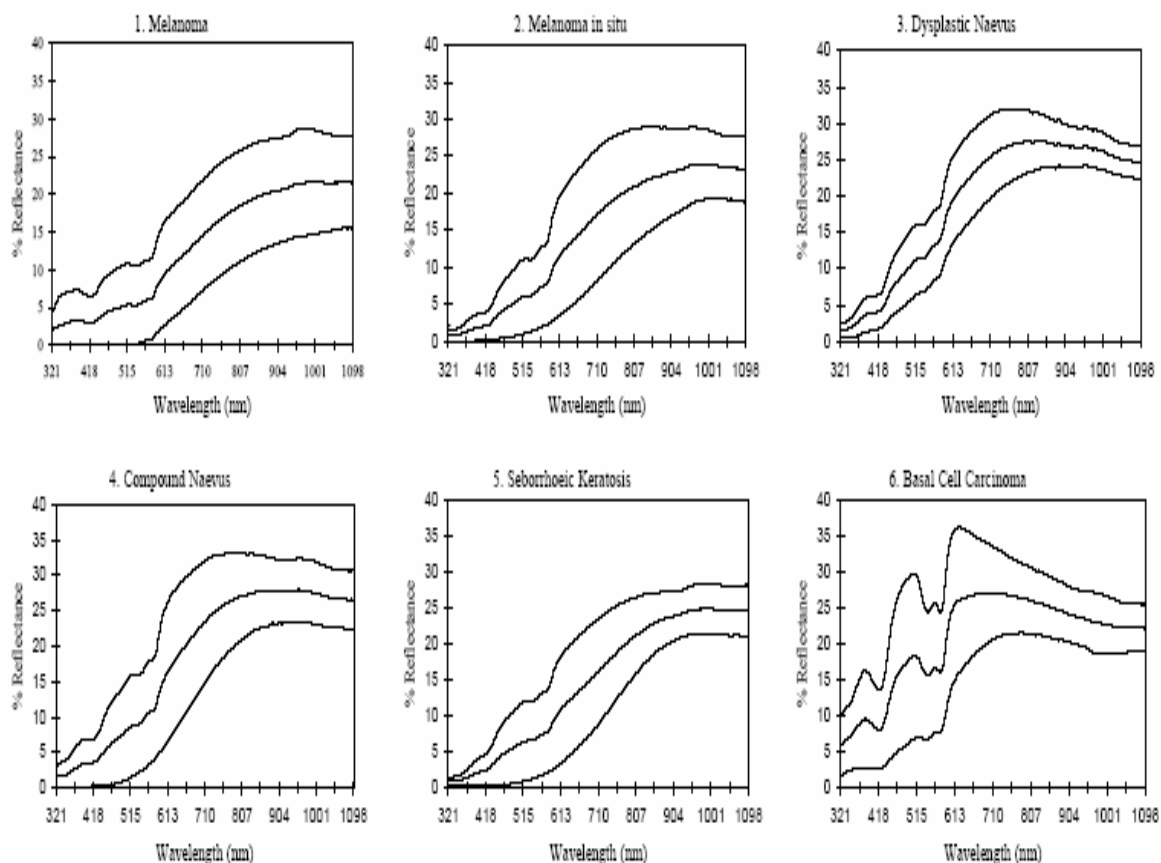
Στην Εικόνα 24 φαίνεται γραφικά η παράμετρος ασυμμετρίας σε σχέση με το μήκος κύματος των τεσσάρων αλλοιώσεων. Ο παράγοντας ασυμμετρίας κρίθηκε ιδιαίτερα σημαντικός παράγοντας στην διαφοροποίηση μεταξύ του μελανώματος και των άλλων αλλοιώσεων



Εικόνα 24. Δείκτης ασυμμετρίας τεσσάρων διαφορετικών αλλοιώσεων

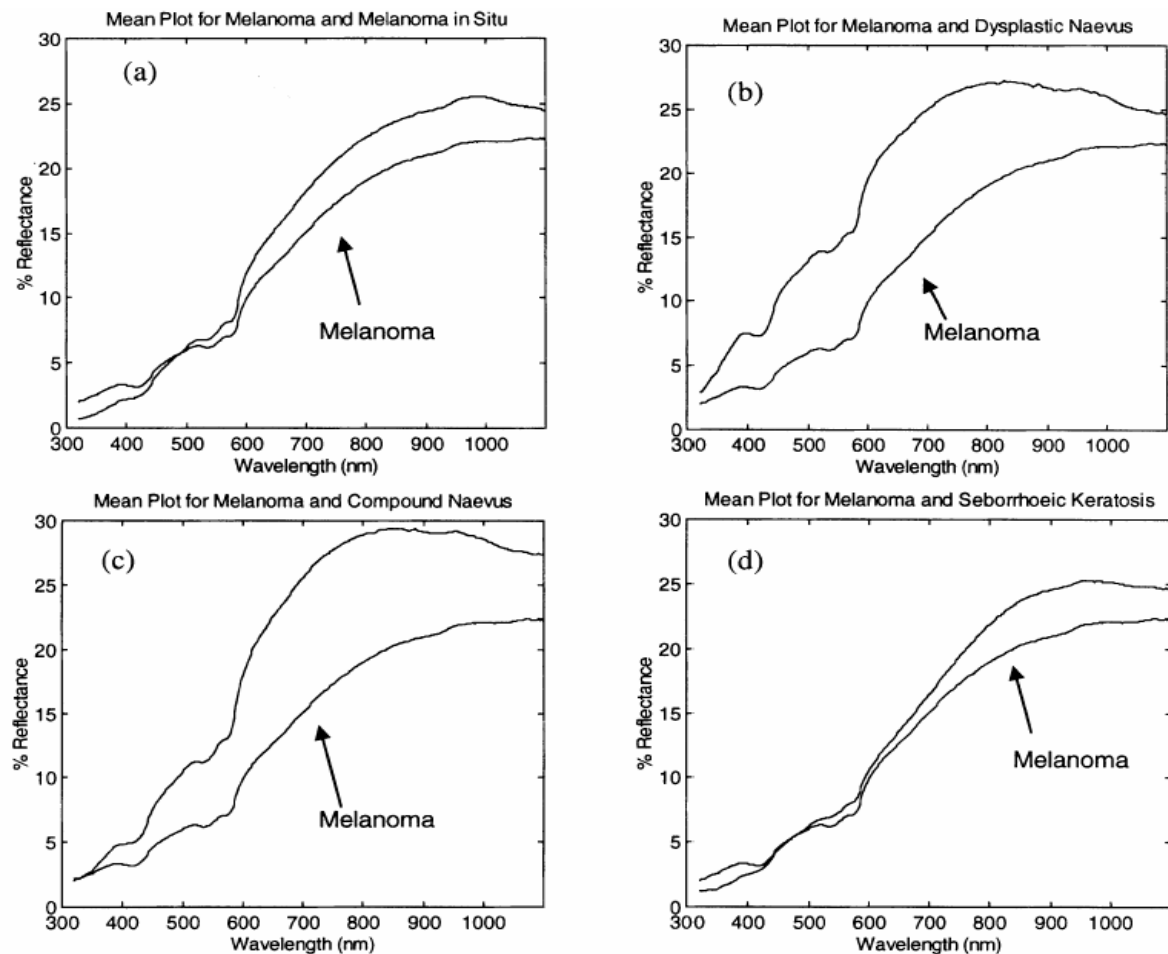
Τα συμπεράσματα που κατέληξαν οι ερευνητές ήταν ότι το μελάνωμα σε όλη την φασματική περιοχή παρουσίαζε αισθητά μικρότερη ανάκλαση σε σχέση με τις υπόλοιπες αλλοιώσεις. Επιπρόσθετα παρατηρήθηκε ότι οι παράμετροι ασυμμετρίας είχαν εντυπωσιακές διαφοροποιήσεις μεταξύ των αλλοιώσεων και ιδιαίτερα όσον αφορά το μελάνωμα η ασυμμετρία που παρουσίαζε δεν μπορούσε να συγκριθεί με καμία από τις υπόλοιπες αλλοιώσεις. Τέλος οι τιμές των ανακλάσεων που εξάχθηκαν ποικίλουν από pixel σε pixel ειδικά σε περιπτώσεις αλλοιώσεων με μη ομοιόμορφη χρωματική κατανομή και εμφανίζουν μέγιστη διαφοροποίηση στην «κόκκινη» φασματική περιοχή (650-700nm)

Wallace et al [28], μελέτησαν τα οπτικά χαρακτηριστικά ανάκλασης, μελαγχρωματικών αλλοιώσεων του δέρματος και εκτίμησαν την πιθανότητα διάκρισης, μέσω της τεχνικής, κακοηθών μελανωμάτων και άλλων ήπιων αλλοιώσεων. Η μέθοδος χρησιμοποίησε μη κανονικοποιημένα φάσματα ανάκλασης για έξι διαφορετικά είδη αλλοιώσεων στην φασματική περιοχή (320-1100nm με φασματική ανάλυση  $\pm 2\text{nm}$ ).



*Εικόνα 25. Σχηματικό διάγραμμα μέσης τιμής μη κανονικοποιημένου φάσματος ανάκλασης από έξι διαφορετικού τύπου αλλοιώσεις.*

Στην συνέχεια (Εικόνα 26) αναπαραστάθηκαν οι μέσες τιμές των φασμάτων ανάκλασης όλων των αλλοιώσεων σε σχέση με το φάσμα ανάκλασης του μελανώματος. Η γενική μορφή των φασμάτων παρουσίασε σημαντικές ομοιότητες, αλλά το φάσμα ανάκλασης του μελανώματος είχε συνολικά μικρότερη ανάκλαση (περιοχή κάτω από το φάσμα) και από τα τέσσερα άλλα είδη των αλλοιώσεων. Ειδικότερα, τα φάσματα ανάκλασης του δυσπλαστικού και του μεικτού σπίλου παρουσίασαν «ξεκάθαρες» διαφοροποιήσεις σε σχέση με το μελάνωμα, σε αντίθεση με τα αντίστοιχα φάσματα του μελανώματος in situ και της κερατινώδους αλλοίωσης.



Εικόνα 26. Σχηματικό διάγραμμα μέσης τιμής φάσματος ανάκλασης μελανώματος σε σχέση μελάνωμα *in situ*, δυσπλαστικό σπίλο, μεικτό σπίλο και κερατινώδες αλλοίωσης

Στην συνέχεια οι ερευνητές προχώρησαν σε περεταίρω ανάλυση των γραφικών παραστάσεων που προέκυψαν, σε μικρές φασματικές περιοχές, καθώς και των περιοχών κάτω από τις καμπύλες. Το βασικό συμπέρασμα της ανάλυσης ήταν ότι τα πιο σημαντικά διαγνωστικά χαρακτηριστικά βρίσκονται στις συνολικές περιοχές κάτω από τις καμπύλες και στις φασματικές περιοχές (578-1039nm) και (609-772nm). Οι πιο ξεκάθαρες διαφοροποιήσεις που παρατηρήθηκαν ήταν μεταξύ του μεικτού σπίλου και του μελανώματος.

Επιπρόσθετα παρατηρήθηκε ότι ο δυσπλαστικός σπίλος σε σχέση με τον μεικτό σπίλο είχαν πολύ μικρές διαφοροποιήσεις. Τα μοναδικά σημεία που διαφοροποιούνταν ήταν στην μέση ανάκλαση στην φασματική περιοχή (1039-1098nm) καθώς και στις φασματικές διακυμάνσεις που παρουσίασε ο δυσπλαστικός σπίλος σε σχέση με τον μεικτό σπίλο. Αυτό επιβεβαιώνει την

θεωρία που αναφέρει ότι οι δυσπλαστικοί σπίλοι παρουσιάζουν σημαντικές διακυμάνσεις στα χαρακτηριστικά τους.

Από το 1994 μια νέα τηλεφασματοφωτομετρική (telespectrophotometric) τεχνική, βασιζόμενη στην ανάλυση μιας σειράς από πολυφασματικές απεικονίσεις (multispectral images) διαφόρων αλλοιώσεων, αναπτύχθηκε από το Istituto Nazionale Tumori στο Μιλάνο.

Μελέτες και προκαταρκτικά αποτελέσματα από αυτήν την τεχνική δημοσιεύθηκαν [29],[30] παίρνοντας έτσι μια πρώτη γεύση για την χρησιμότητα της. Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκαν μελέτες όπου ερευνήθηκε αν ένα σύστημα πολυφασματικών απεικονίσεων είναι ικανό να υπολογίσει τα χαρακτηριστικά μιας αλλοίωσης κάνοντας μια σωστή ταξινόμηση από μια σειρά από περιπτώσεις μελαγχρωματικών αλλοιώσεων, την στιγμή που οι ασθενείς ήταν έτοιμοι να υποβληθούν σε εγχείρηση.

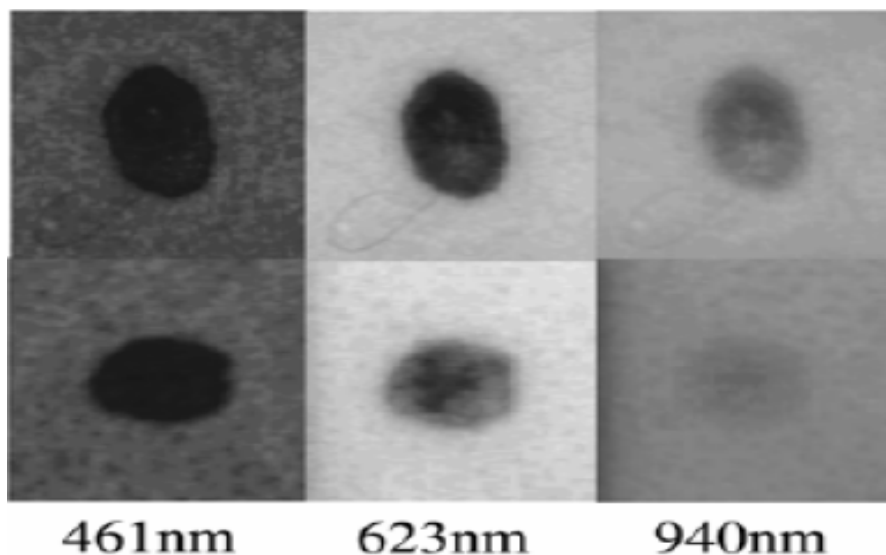
Το σύστημα που χρησιμοποιήσαν αποτελείται από 18 παρεμβατικά φίλτρα προσαρμοσμένα σε ελεγχόμενο περιστρεφόμενο τροχό και τοποθετηθήκαν μεταξύ ενός φακού 50nm και μιας CCD κάμερα. Οι απεικονίσεις που ελήφθησαν ήταν στη περιοχή (420-1040nm) με βήμα 40nm. Οι κατάλληλες συνθήκες φωτισμού επιτεύχθηκαν από λάμπες αλογόνου και λάμπες στο υπέρυθρο.

Τα χαρακτηριστικά που εκτιμήθηκαν ήταν η μέση ενεργή ανάκλαση (mean effective reflectance) και ο δείκτης ποικιλοχρωμίας στην περιοχή της αλλοίωσης (standard deviation) παράμετροι που σχετίζονται με το «χρώμα» της αλλοίωσης. Παράλληλα ερευνήθηκαν και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της αλλοίωσης εισάγοντας παραμέτρους όπως ασυμμετρία καθώς και η περιοχή στο σύνολο της (Area) .

Η μέση ενεργή ανάκλαση καθώς και ο δείκτης ποικιλοχρωμίας μετρήθηκαν στην περιοχή του ορατού και του κοντινού υπέρυθρου με βάση της μέτρησης να καθορίζεται το μήκος κύματος όπου παρουσιάζεται η μέγιστη αντίθεση μεταξύ δέρματος και αλλοίωσης (498nm). Όσον αφορά τα μορφολογικά χαρακτηριστικά προσδιορίζονται για μήκη κύματος χαμηλότερα από 623nm όπου η αντίθεση δέρματος-αλλοίωσης επέτρεπε την βέλτιστη διάκρισή τους [28].

Στην *Εικόνα 27* αναφέρεται μια τυπική απεικόνιση ανάκλασης από μία δερματική αλλοίωση και σαν παράδειγμα φαίνονται οι απεικονίσεις στα 461, 623 και 940 nm από ένα επιδερμικό μελάνωμα και μια ήπια αλλοίωση. Η εμφάνιση της αλλοίωσης

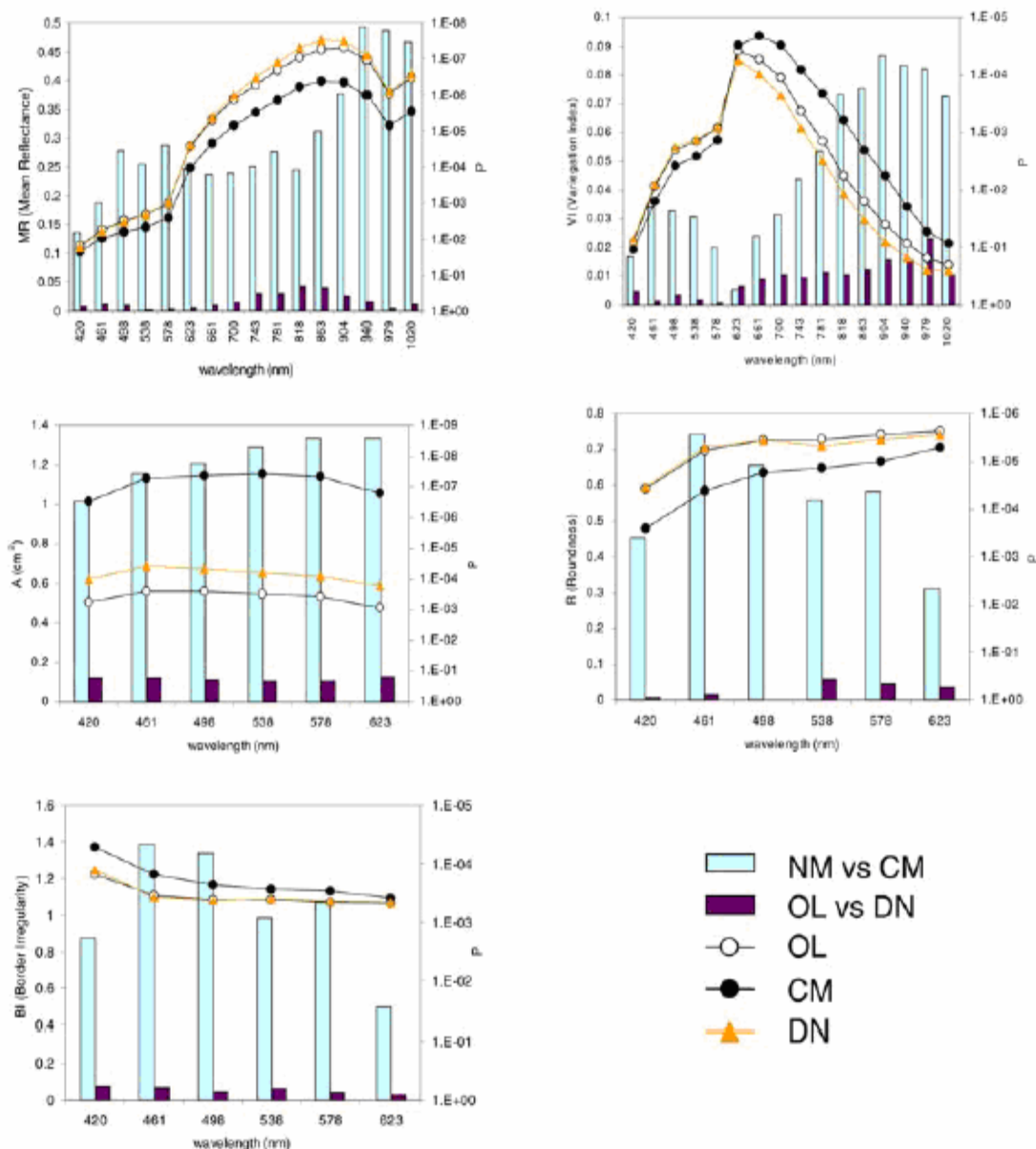
είναι απόλυτα εξαρτώμενη από το μήκος κύματος και ειδικότερα στα 940 nm το ήπιο σημάδι έδειξε μια ανακλαστικότητα όμοια με αυτήν του περιβάλλοντος δέρματος.



*Εικόνα 27. Τυπικές απεικονίσεις σε επιλεγμένα μήκη κύματος από ένα μελάνωμα (πάνω) και μια ήπια αλλοίωση (κάτω).*

Η συγκεκριμένη έρευνα του Istituto Nazionale Tumori στο Μιλάνο επιβεβαιώνει ότι τα μελανώματα διαφέρουν σε μορφολογικά χαρακτηριστικά από τα απλά σημάδια απεικονισμένα στο ορατό (πράσινο και μπλε). Ακόμα η έρευνα αποδεικνύει ότι σε περιοχές του ερυθρού και του κοντινού υπέρυθρου το χρώμα των εξεταζόμενων αλλοιώσεων παρουσιάζει σημαντικές διαφοροποιήσεις που επιτρέπει τον διαχωρισμό των αλλοιώσεων που είναι ή δεν είναι μελανώματα.

Στην Εικόνα 28 αναπαρίστανται οι φασματικές αποκρίσεις των διάφορων παραμέτρων (μορφολογικών ή χρώματος) των αλλοιώσεων που εξετάστηκαν (τρία διαφορετικά είδη μελανωμάτων ανάλογα με το πάχος της βλάβης, δυσπλαστικοί στίλοι και άλλες μελανοκυτταρικές αλλοιώσεις). Τα αποτελέσματα συμφωνούν με την κοινή κλινική εντύπωση ότι τα μελανώματα είναι συνήθως πολύ σκοτεινές μελαγχρωματικές αλλοιώσεις. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι οι παράμετροι χρώματος (MR και VI) γίνονται ξεκάθαρα διαφορετικοί όταν συγκριθούν τα περιστατικά κακοήθων μελανωμάτων με τους απλούς στίλους στην «κόκκινη» και ιδιαίτερα στην υπέρυθη περιοχή μηκών κύματος.



Εικόνα 28. MR (Mean Reflectance), VI (Variation index), BI (Border Irregularity), A (Area) από NM (Non melanoma), CM (cutaneous melanoma), OL (other pigmented lesions) DN (dysplastic nevus).

Τα συνολικά αποτελέσματα της έρευνας ήταν:

1. Τα μελανώματα που εξετάστηκαν παρέμειναν ανιχνεύσιμα και πάνω από τα 780 nm, ενώ οι σπίλοι έγιναν «διαφανείς» σε μικρότερες φασματικές περιοχές
2. Τα μελανώματα παρουσίασαν διαφορετική κατανομή της ανάκλασης σε συνάρτηση με το μήκος κύματος σε σχέση με τις άλλες αλλοιώσεις (δυσπλαστικούς, μεικτούς, συνδεσμικούς σπίλους).



3. Τα μελανώματα παρουσιάζουν σχεδόν ανύπαρκτη συμμετρία και πολύ μεγαλύτερο μέγεθος σε σχέση με τις υπόλοιπες αλλοιώσεις.
4. Ο δείκτης ποικιλοχρωμίας ήταν εντυπωσιακά διαφορετικός μεταξύ μελανωμάτων και απλών μελανοκυτταρικών σπύλων σε περιοχές μεγαλύτερες από 600-700nm.
5. Δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές μεταξύ των αλλοιώσεων εκτός από την περίπτωση των μελανωμάτων συγκρινόμενα με τις υπόλοιπες αλλοιώσεις. Παρά το ότι οι δυσπλαστικοί σπύλοι θεωρούνται πιθανόν προπομπός κακοήθους μελαγχρωματικής αλλοίωσης δεν ανιχνεύθηκαν διαφοροποιήσεις σε σχέση με τις υπόλοιπες αλλοιώσεις.
6. Οι διαφοροποιήσεις που παρατηρήθηκαν μεταξύ των αλλοιώσεων και των μελανωμάτων σε διάφορες παραμέτρους θεωρήθηκε ότι οφείλεται στις διαφορετικές *οπτικές ιδιότητες* που παρουσιάζει η μελανίνη στα μελανώματα και στους απλούς σπύλους ιδιαίτερα στο υπέρυθρο καθώς και στην παρουσία διάφορων βιολογικών συστατικών ( λεμφοκύτταρα και άλλα κύτταρα).

## **5. Διάκριση δυσπλαστικών-απλών σπύλων**

### **5.1 Εισαγωγή**

Η πρόληψη, έγκαιρη διάγνωση και διαχρονική παρακολούθηση των δυσπλασιών και των καρκινωμάτων του δέρματος αποτελούν σημαντικές προτεραιότητες στην σύγχρονη διαγνωστική ιατρική. Όπως και στις περισσότερες περιπτώσεις καρκινωμάτων έτσι και στις δερματικές αλλοιώσεις ο εντοπισμός μιας αλλοίωσης σε αρχικό στάδιο πριν εξελιχθεί σε κακοήγη όγκο είναι ο ασφαλέστερος τρόπος πρόληψης. Αυτό συμβαίνει όχι μόνο επειδή αν μια κακοήγης βλάβη εντοπισθεί σε αρχικό στάδιο μπορεί να αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά αλλά επιπρόσθετα μειώνονται οι πιθανότητες μετάστασης σε γειτονικές και όχι μόνο περιοχές.

Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο πολλοί ερευνητές προσπάθησαν τις περισσότερες φορές με επιτυχία, να διακρίνουν με μεθόδους φασματικής απεικόνισης τα μελανώματα σε σχέση με τις υπόλοιπες δερματικές αλλοιώσεις. Το μεγάλο πλεονέκτημα που προσφέρουν οι συγκεκριμένες τεχνολογίες είναι ότι η καταγραφή των αλλοιώσεων σε διαφορετικές φασματικές περιοχές επιτρέπει την παρατήρηση της αλλοίωσης ακόμα και σε στρώματα του δέρματος που δεν είναι δυνατόν να γίνουν ορατά με το γυμνό μάτι από τους κλινικούς γιατρούς.

Πιο συγκεκριμένα, στο κοντινό υπέρυθρο δίδεται η μεγαλύτερη διαγνωστική πληροφορία καθώς στην περιοχή αυτή είναι δυνατόν να εκτιμήσουμε χαρακτηριστικά των αλλοιώσεων που βρίσκονται σε βαθύτερα στρώματα του δέρματος. Το στοιχείο αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό καθώς η μελανίνη, που είναι το κυριότερο απορροφητικό μέσο στις αλλοιώσεις, βρίσκεται όπως προαναφέρθηκε (Κεφάλαιο 1) σε διαφορετικές στοιβάδες του δέρματος. Η παρουσία ή όχι μελανίνης σε στρώματα του δέρματος αποτελεί σε πολλές περιπτώσεις παράγοντα διαφοροποίησης μεταξύ των αλλοιώσεων.

Οι περισσότερες έρευνες που έλαβαν χώρα με μεθόδους φασματικής απεικόνισης (Κεφάλαιο 3), κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα μελανώματα διακρίνονται σε σχέση με τις υπόλοιπες αλλοιώσεις τόσο λόγω της διαφορετικής αρχιτεκτονικής που παρουσιάζουν οι αλλοιώσεις, όσο και λόγω της διαφορετικής κατανομής της μελανίνης που εμφανίζεται στα μελανώματα σε σχέση με τις υπόλοιπες δερματικές βλάβες.

Τα αποτελέσματα των ερευνών σίγουρα είναι σημαντικά καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί η φασματική απεικόνιση ως ένα επιπλέον εργαλείο για την διάγνωση κακοήθων αλλοιώσεων πέρα από τις κλασσικές μεθόδους βιοψίας. Συνήθως όμως τα μελανώματα είναι αλλοιώσεις του δέρματος οι οποίες μπορούν εύκολα να διαχωριστούν από τις υπόλοιπες αλλοιώσεις καθώς τα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά είναι τελείως διαφορετικά.

Η συγκεκριμένη διατριβή μελέτησε την με την βοήθεια νέων απεικονιστικών συστημάτων την δυνατότητα διάκρισης των δυσπλαστικών σπίλων σε σχέση με άλλες αλλοιώσεις. Στο Κεφάλαιο 2 αναφέραμε ότι οι δυσπλαστικοί σπίλοι θεωρούνται πρόδρομος μελανωμάτων καθώς μεγάλο ποσοστό τους εξελίσσεται σε κακοήθεις όγκους. Έτσι η έγκαιρη διάκριση των δυσπλαστικών σπίλων κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική αν συνυπολογίσουμε το γεγονός ότι με τις παραδοσιακές μεθόδους είναι δύσκολο έως αδύνατο να επιτευχθεί.

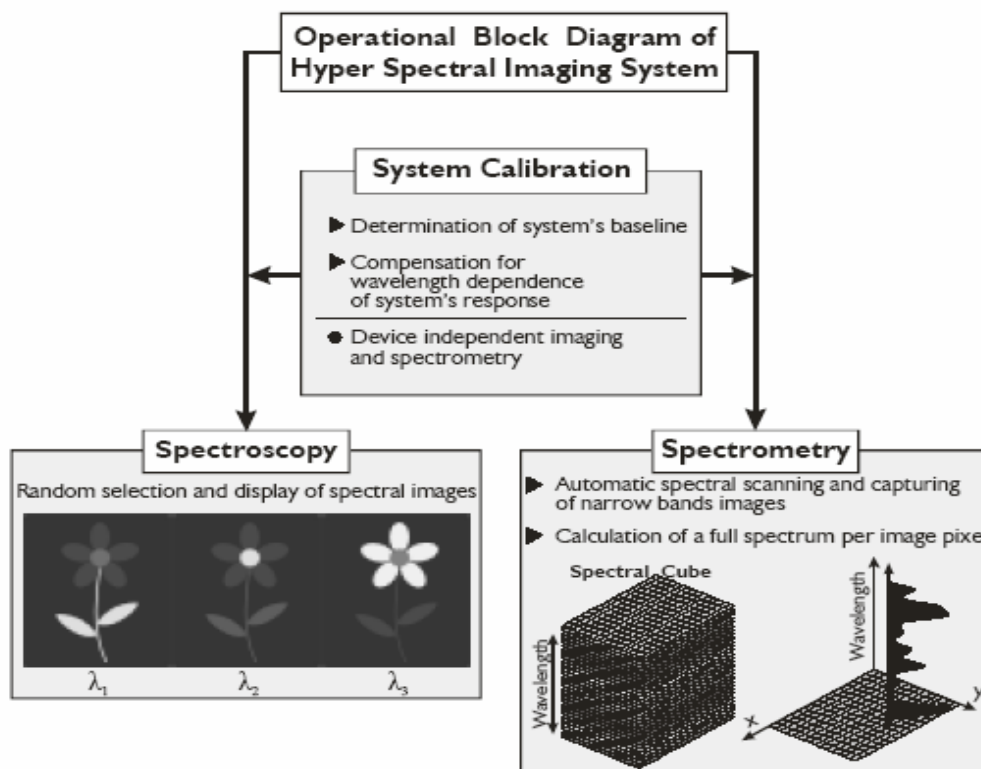
## **5.2 Πειραματική διαδικασία-Σύστημα που χρησιμοποιήθηκε**

Στα πλαίσια της διατριβής πραγματοποιήθηκαν στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου με την βοήθεια ενός νέου απεικονιστικού συστήματος μετρήσεις ex-vivo σε 25 διαφορετικούς σπίλους ασθενών αμέσως μετά την χειρουργική αφαίρεσή τους. Οι σπίλοι που εξετάστηκαν ήταν δυσπλαστικοί, μαικτοί, συνδεδσμικοί, χοριακοί καθώς και ένα περιστατικό μελανώματος. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων που ελήφθησαν συγκρίθηκαν με τις βιοψίες που πραγματοποιήθηκαν στη συνέχεια και τέθηκαν στην διάθεση μας.

Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν από ένα υπερφασματικό σύστημα απεικόνισης, βασισμένο σε έναν όλο-οπτικό μονοχρωμάτορα απεικόνισης. Η μετατόπιση των οπτικών στοιχείων των πιο πρόσφατων αποτελεσμάτων στο συντονισμό του μήκους κύματος απεικόνισης εκτελείται με τη βοήθεια μηχανικών χειρισμών που ελέγχονται από τον Η/Υ μέσω ενός μικροελεγκτή. Το σύστημα είναι σε θέση να παράγει φασματικές εικόνες 5nm Full Width Half Maximum (FWHM), με βήμα ρύθμισης 3nm, στη φασματική ζώνη 420-1000nm [11], [12]. Ο φωτισμός πραγματοποιείται από 2 λάμπες αλογόνου 250W. Ο συντονισμός του φασματικού εύρους ταιριάζει με το φασματικό εύρος της δυνατότητας απόκρισης (responsivity) του CCD (charge couple device) αλλά μπορεί να επεκταθεί και σε μεγαλύτερα μήκη κύματος, μέχρι τη μέση-υπέρυθρη περιοχή. Το παραγόμενο σήμα

ανατροφοδότησης του μονοχρωμάτορα φέρει τις πληροφορίες για την κατάσταση του μεταβλητού φίλτρου, επιτρέποντας κατά συνέπεια το συγχρονισμό του με τη διαδικασία σύλληψης της εικόνας. Ο μονοχρωμάτορας είναι συνδεδεμένος με μια ασπρόμαυρη CCD κάμερα, βασισμένη στο πρωτόκολλο μετάδοσης δεδομένων 1394 της IEEE, το οποίο δύναται να παράγει τις εικόνες σε ένα ποσοστό 15 frames/s σε πλήρη ανάλυση και περισσότερων από 30 frames/s σε ανάλυση VGA.

Ένα ειδικά αναπτυγμένο λογισμικό χρησιμοποιείται για τον έλεγχο του συστήματος και του μονοχρωμάτορα καθώς επίσης και για τη φασματική ανάλυση εικόνας. Το σύστημα λειτουργεί σε δύο καταστάσεις: η κατάσταση της φασματοσκοπίας και η κατάσταση της φασματομετρίας [11],[12]. Η πρώτη επιτρέπει την τυχαία επιλογή και την απεικόνιση, σε πραγματικό χρόνο, των επιθυμητών φασματικών εικόνων, ενώ η κατάσταση της φασματομετρίας εκτελεί συγχρονισμένα τη φασματική σύλληψη και ανίχνευση της εικόνας και, τελικά, τον υπολογισμό ενός πλήρους φάσματος ανά εικονοκύτταρο εικόνας.



Εικόνα 29. Σύστημα Υπερφασματικής απεικόνισης.

Και στις δύο περιπτώσεις, μια ειδική διαδικασία βαθμονόμησης εκτελείται πριν από αυτές τις διαδικασίες απεικόνισης, προκειμένου να αντισταθμιστεί η εξάρτηση

μήκους κύματος της απόκρισης των ηλεκτροπτικών μερών του συστήματος, όπως το CCD, ο φωτισμός, κτλ..

Μια πλάκα  $Ba_2 SO_4$  με ενιαίο συντελεστή ανάκλασης στη φασματική ζώνη 380-1000 nm χρησιμοποιείται ως δείγμα βαθμολόγησης. Το δείγμα τοποθετείται στο οπτικό πεδίο του φακού και η γκρίζα αξία του κεντρικού τομέα της εικόνας αναπαρίσταται σε πραγματικό χρόνο. Κατόπιν ο μονοχρωμάτορας ανιχνεύει τη συνολική φασματική ζώνη και σε κάθε βήμα το διάφραγμα (shutter) και το gain της κάμερας ρυθμίζονται έτσι ώστε να επιτυγχάνεται τιμή λίγο κάτω από 255. Αυτό εξασφαλίζει ότι η δυναμική περιοχή του CCD αξιοποιείται πλήρως. Οι τιμές των shutter και gain, που χρησιμοποιούνται για να λάβουν το γκρίζο επίπεδο 255, αποθηκεύονται σε κάθε μήκος κύματος, μαζί με την εικόνα του άσπρου δείγματος, αποτελώντας το σύνολο των στοιχείων βαθμονόμησης του συστήματος.

Αυτές οι ρυθμίσεις καθορίζουν το επίπεδο ευαισθησίας του συστήματος, η οποία αυξάνεται όσο το μήκος κύματος απεικόνισης συντονίζεται σε μικρότερα ή μεγαλύτερα μήκη κύματος από τη ζώνη μηκών κύματος στην οποία η μέγιστη ρυθμοαπόδοση του φωτός και η αποδοτικότητα του συστήματος λαμβάνονται. Αυτό καθιστά την απόκριση του συστήματος σχεδόν ανεξάρτητη από το μήκος κύματος, εξασφαλίζοντας κατά συνέπεια φασματική απεικόνιση και φασματομετρία ανεξάρτητες από τη συσκευή. Οι αποθηκευμένες φασματικές εικόνες του άσπρου δείγματος χρησιμοποιούνται προκειμένου να διορθώσουν τον ανωμαλία της φωτεινότητας της εικόνας λόγω της ανομοιόμορφη συνάρτησης μεταφοράς της οπτικής (flat field correction, επίπεδη διόρθωση τομέων).

Με το τρέξιμο του τμήματος κώδικα για την κατάσταση της φασματομετρίας, που ακολουθεί τη διαδικασία βαθμονόμησης, το σύστημα εκτελεί συγχρονισμένα τη ρύθμιση του μήκους κύματος απεικόνισης της εικόνας και τη σύλληψη της εικόνας ενώ αποθηκεύει την υπό εξέταση περιοχή. Σε κάθε βήμα, η ευαισθησία του συστήματος είναι αυτόματα ρυθμισμένη σύμφωνα με τις αποθηκευμένες τιμές του διαφράγματος (shutter) και του gain.

Από το σύνολο των φασματικών εικόνων, ένα φάσμα μπορεί να υπολογιστεί και να επιδειχθεί σε οποιοδήποτε επιλεγμένο από το χρήστη χωρικό σημείο της εικόνας. Τα φάσματα υπολογίζονται από τις γκρίζες τιμές της επιλεγμένης φασματικής στήλης εικονοκυττάρου. Η χωρική ανάλυση του ανιχνευτή καθορίζει τον αριθμό των φασμάτων που μπορούν να συλλεχθούν σε ένα κύκλο

πειράματος. Με την περιγεγραμμένη διαμόρφωση, ένα εκατομμύριο φάσματα μπορούν να συλλεχθούν σε περίπου δύο λεπτά χρόνου ανίχνευσης. Το σύστημα ενσωματώνει επίσης μια γρήγορη διαδικασία αποταμίευσης σε μικρότερη ανάλυση (VGA).

### 5.3 Μετρήσεις

Με την προαναφερθέν σύστημα ελήφθησαν έλαβαν χώρα μετρήσεις σε διάφορα είδη σπίλων καθώς και σε μελάνωμα, περιστατικά από τα οποία έγινε δυνατή η λήψη τόσο των απεικονίσεων τους σε 30 διαφορετικά μήκη κύματος όσο και η φασματική εκτίμηση των χαρακτηριστικών τους.

Όταν το σύστημα βαθμονόμησης ολοκληρώθηκε οι εξεταζόμενες αλλοιώσεις τοποθετήθηκαν σε σταθερή θέση στα 2 λεπτά που διαρκεί η μέτρηση. Μετά την ολοκλήρωση της μέτρησης έγινε δυνατή η εμφάνιση των απεικονίσεων και η εξαγωγή σε οποιοδήποτε σημείο επιλέγουμε της ανάκλασης διάχυσης (diffuse reflectance) σε σχέση με το μήκος κύματος του σημείου αυτού.

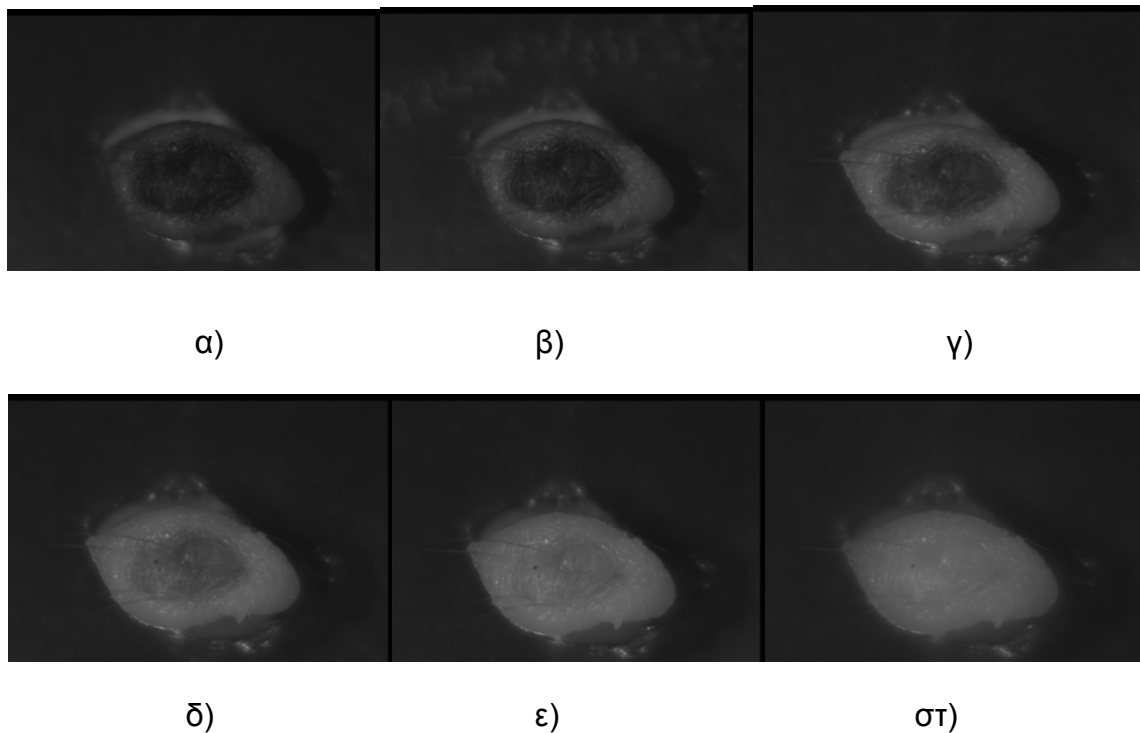
Σε μια προσπάθεια να ερευνηθούν οι παραπάνω παράμετροι οι οποίοι διαφοροποιούν τους σπίλους από τα μελανώματα αλλά και τους σπίλους μεταξύ τους διαπιστώσαμε ότι η καμπύλη της αντίθεσης (Contrast) σε σχέση με το μήκος κύματος δίνει ενδιαφέροντα αποτελέσματα. Η αντίθεση σχετίζεται με την ανακλώμενη ένταση που λαμβάνουμε από την περιοχή της αλλοίωσης και από την αντίστοιχη από την επιφάνεια του υγιούς δέρματος. Η σχέση που προκύπτει είναι:

$$Contrast = \frac{I_{\delta\epsilon\rho\mu} - I_{\alpha\lambda\lambda\omicron\iota\omega\sigma\eta}}{I_{\delta\epsilon\rho\mu} + I_{\alpha\lambda\lambda\omicron\iota\omega\sigma\eta}}$$

όπου  $I_{\delta\epsilon\rho\mu}$  η ανάκλαση που λαμβάνουμε από το δέρμα και  $I_{\alpha\lambda\lambda\omicron\iota\omega\sigma\eta}$  η αντίστοιχη από την περιοχή της αλλοίωσης.

### 5.3.1 Συνδεσμικός σπίλος

Στην Εικόνα 30 αναπαρίσταται ένας συνδεσμικός σπίλος σε επιλεγμένα μήκη κύματος.

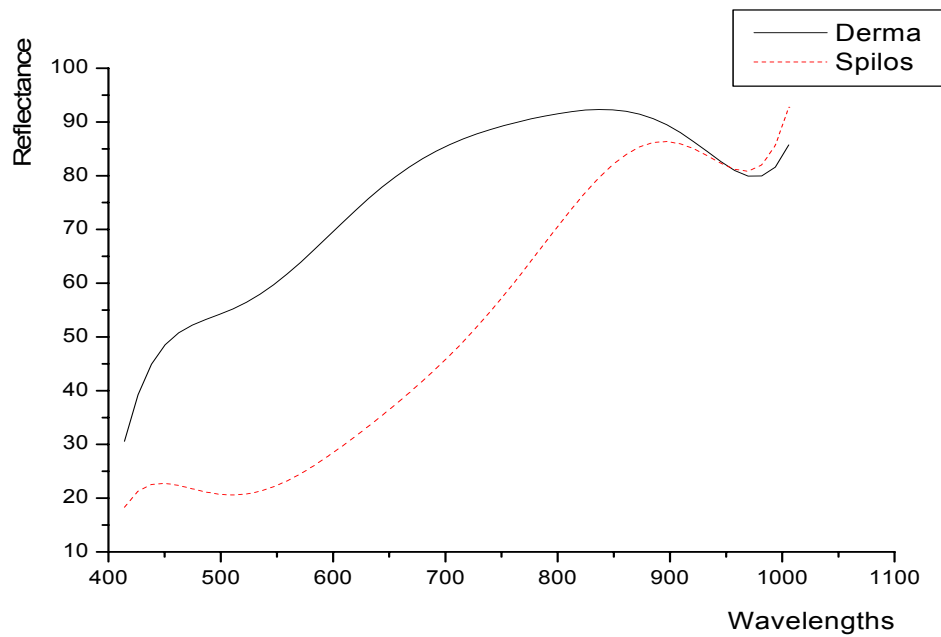


*Εικόνα 30. Απεικονίσεις συνδεσμικού σπίλου σε διάφορες φασματικές περιοχές:  
α)440nm, β)540nm, γ)640nm, δ)740nm, ε)840nm, στ)1000nm*

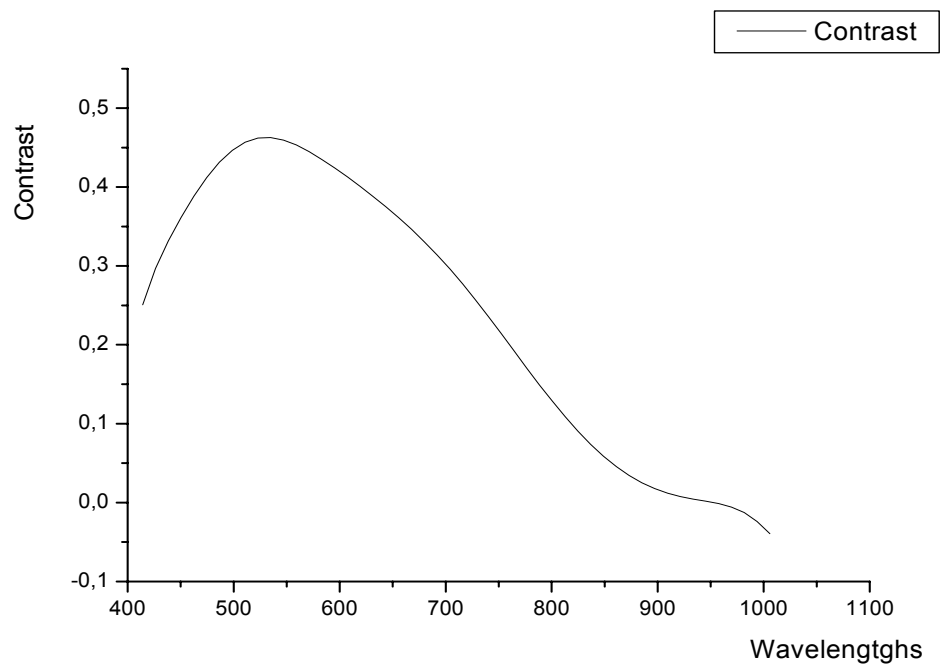
Όπως φαίνεται ο σπίλος γίνεται «διαφανής» σε μικρά σχετικά μήκη κύματος στοιχείο που κρίνεται φυσιολογικό καθώς οι συνδεσμικοί σπίλοι εμφανίζουν μελανίνη, το κύριο απορροφητικό μέσο δηλαδή, στο συνδεσμικό στοιχείο και όχι σε βαθύτερα στρώματα του δέρματος.

Στην Εικόνα 31 αναπαρίσταται το φάσμα ανάκλασης του συνδεσμικού σπίλου σε σχέση με το μήκος κύματος σε αντιστοιχία με το φάσμα ανάκλασης σημείου του υγιούς δέρματος.

Αντίστοιχα στην Εικόνα 32 φαίνεται η καμπύλη της αντίθεσης (Contrast) του σπίλου σε σχέση με το μήκος κύματος.



Εικόνα 31. Φάσμα ανάκλασης σημείου συνδεσμικού σπίλου σε αντιστοιχία με το υγιές δέρμα σε σχέση με το μήκος κύματος.



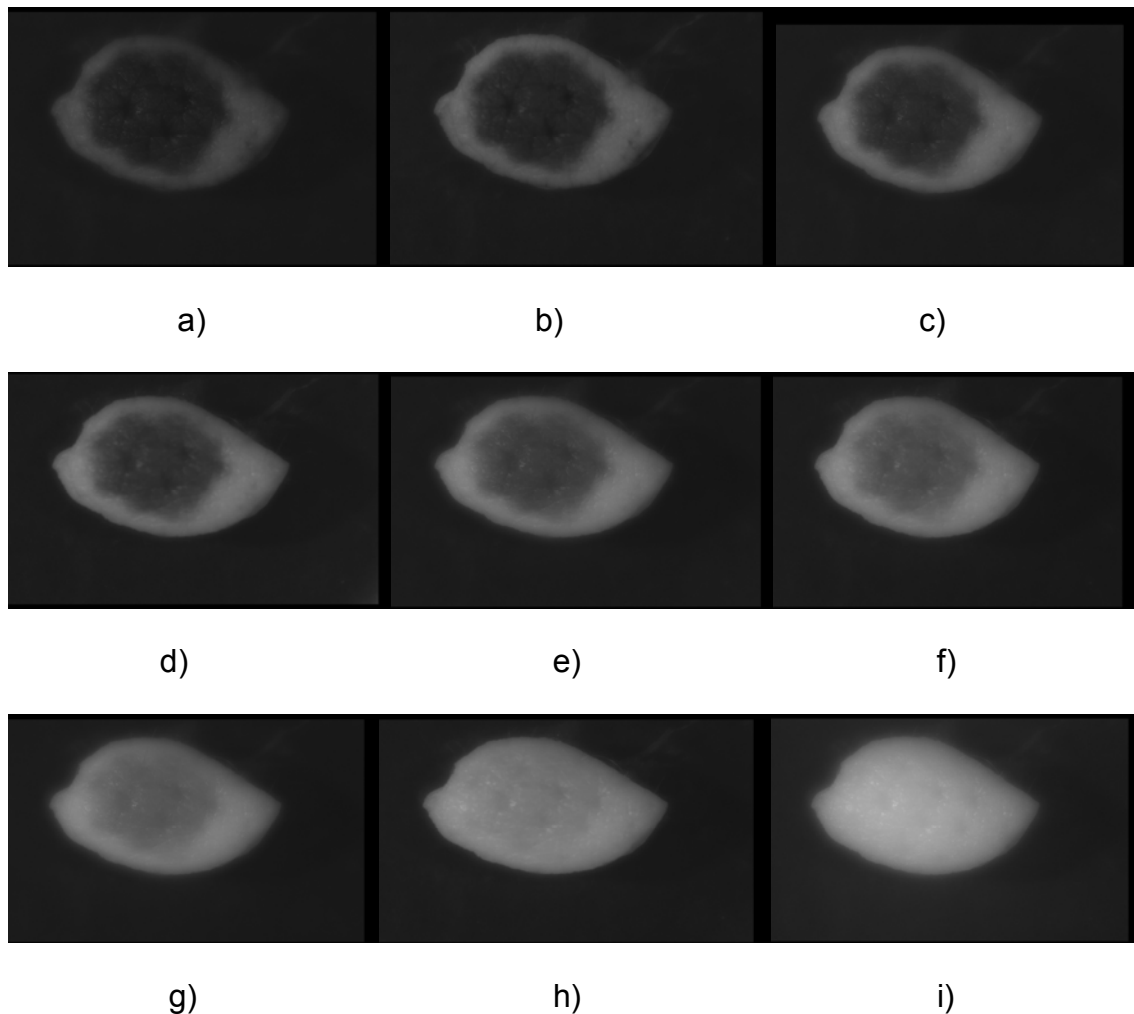
Εικόνα 32. Αντίθεση (Contrast) συνδεσμικού σπίλου σε συνάρτηση με το μήκος κύματος



Παρατηρούμε ότι η ανάκλαση του συνδεσμικού σπίλου εμφανίζει μετά τα 700nm, υψηλές τιμές και σε μεγαλύτερα μήκη κύματος προσεγγίζει αυτήν του υγιούς δέρματος, στοιχείο που κρίνεται φυσιολογικό, καθώς όπως αναφέραμε (Κεφάλαιο 1) η μελανίνη, το κύριο απορροφητικό μέσο, εντοπίζεται στην συγκεκριμένη κατηγορία σπύλων στα υψηλά στρώματα του δέρματος (συνδεσμικό στοιχείο).

### 5.3.2 Μεικτοί σπίλοι

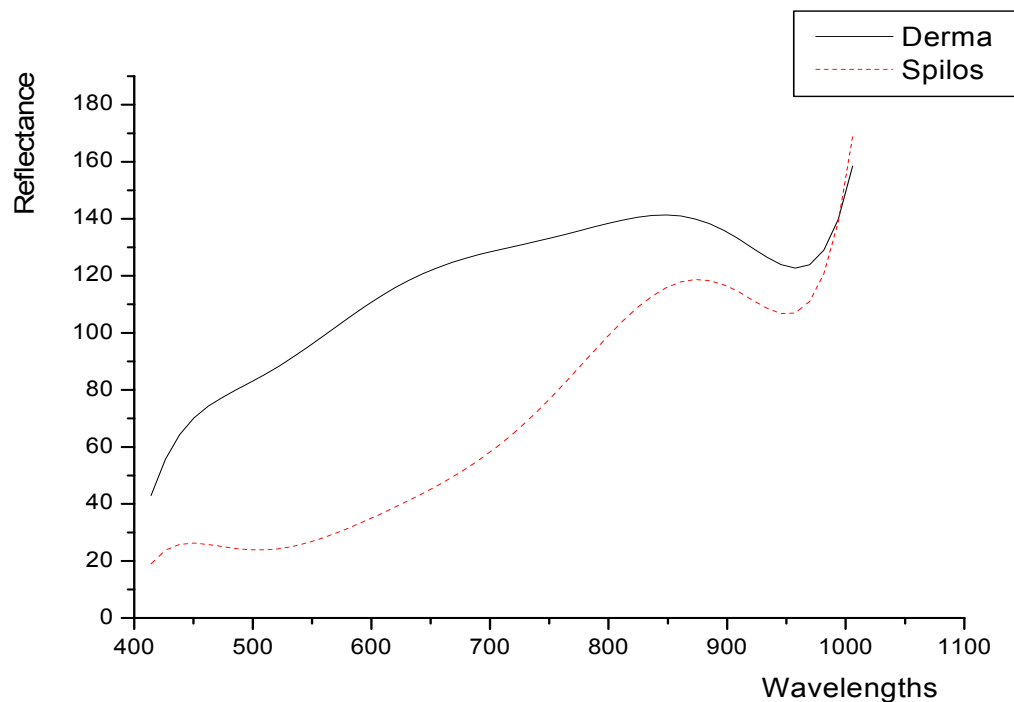
Στην Εικόνα 33 αναπαρίστανται ένας μεικτός σπίλος σε επιλεγμένα μήκη κύματος.. Ο σπίλος έχει πάχος 0,7mm. Παρουσιάζει μέτρια συγκέντρωση μελανίνης τόσο στο συνδεσμικό στοιχείο όσο και στο χοριακό στοιχείο.



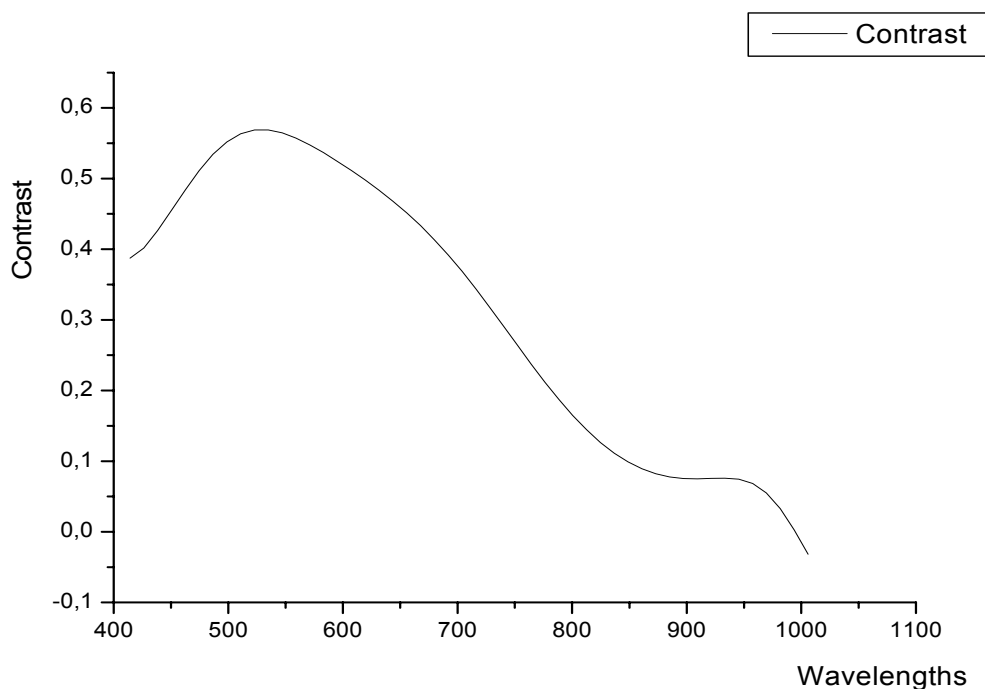
Εικόνα 33. Απεικονίσεις μεικτού σπίλου σε μήκη κύματος a)440nm, b)540nm, c)600nm, d)640nm, e)680nm, f)720nm, g)760nm, h)860nm, i)1000nm

Στις απεικονίσεις παρατηρείται ότι η περιοχή της αλλοίωσης γίνεται «διαφανής» σε μεγαλύτερα σχετικά με τον συνδεσμικό σπίλο μήκη κύματος. Το στοιχείο αυτό είναι φυσιολογικό καθώς στον σπίλο η μελανίνη εμφανίζεται τόσο στο συνδεσμικό όσο και στο χοριακό στοιχείο. Η περιοχή της αλλοίωσης παρουσιάζει μια σχετική ομοιομορφία τόσο στην δομή όσο και στην αλλαγή των χαρακτηριστικών της παρατηρώντας την σε διάφορα μήκη κύματος.

Στην Εικόνα 34 απεικονίζεται το γράφημα της ανάκλασης του μεικτού σπίλου σε αντιστοιχία με το υγιές δέρμα σε σχέση με το μήκος κύματος, ενώ στην Εικόνα 34 η γραφική παράσταση της αντίθεσης που παρουσιάζουν ο σπίλος με το δέρμα σε συνάρτηση με το μήκος κύματος.



*Εικόνα 34.Ανάκλαση σπίλου και δέρματος σε σχέση με το μήκος κύματος.*

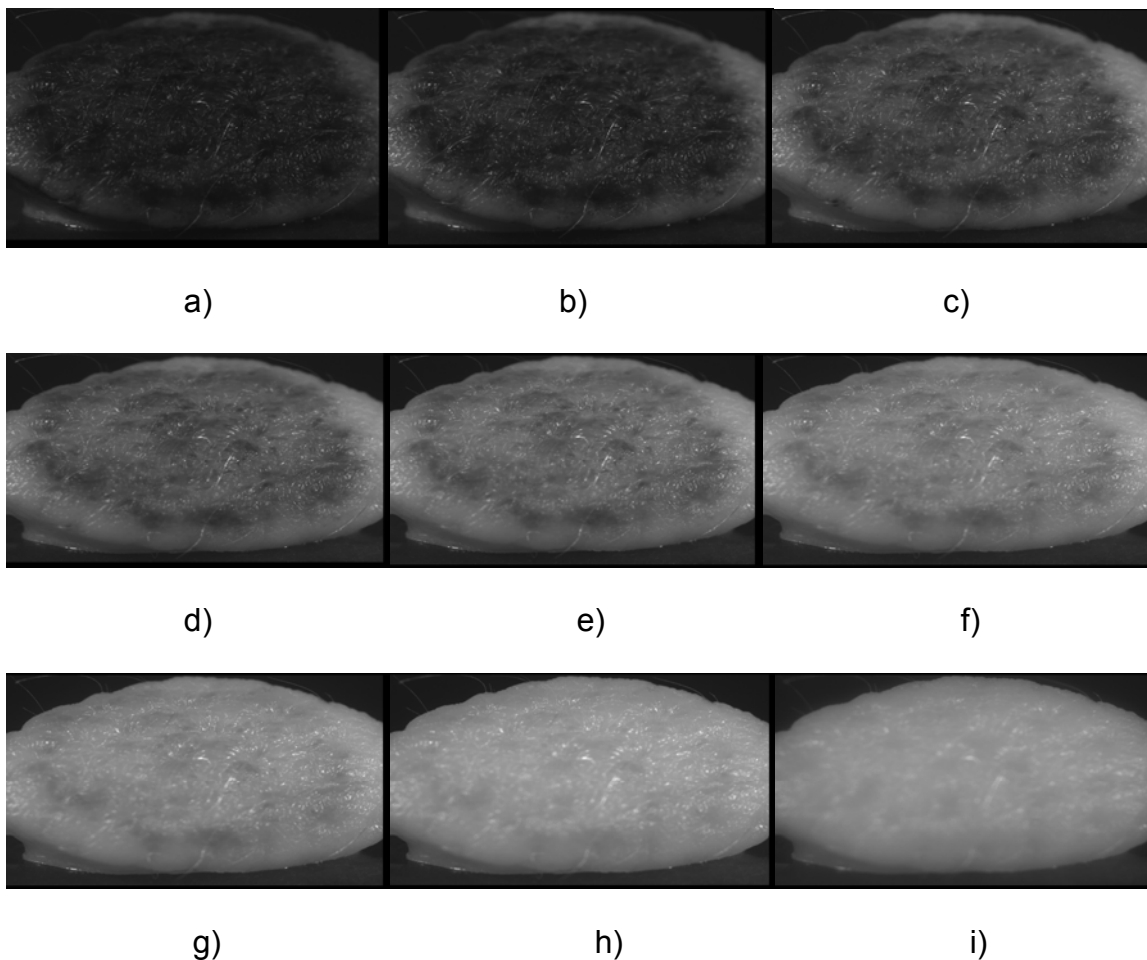


*Εικόνα 35. Αντίθεση (Contrast) μεικτού σπίλου με υγιές δέρμα σε σχέση με το μήκος κύματος*

Όπως φαίνεται στο γράφημα 34, ο σπίλος παρουσιάζει στην περιοχή 500-700nm έντονα χαμηλότερη ανακλαστικότητα σε σχέση με το δέρμα, στοιχείο που κρίνεται φυσιολογικό και οφείλεται κυρίως, στην πυκνότητα της μελανίνης που δρα ως απορροφητικό μέσο στο εσωτερικό της αλλοίωσης, αλλά και σε αυτό καθαυτό το φάσμα απορρόφησης της μελανίνης. Σε μεγαλύτερα μήκη κύματος όπου η ακτινοβολία θεωρητικά διεισδύει σε μεγαλύτερο βάθος η ανάκλαση που παρουσιάζει ο σπίλος πλησιάζει την αντίστοιχη του δέρματος.

### 5.3.3 Δυσπλαστικοί σπίλοι

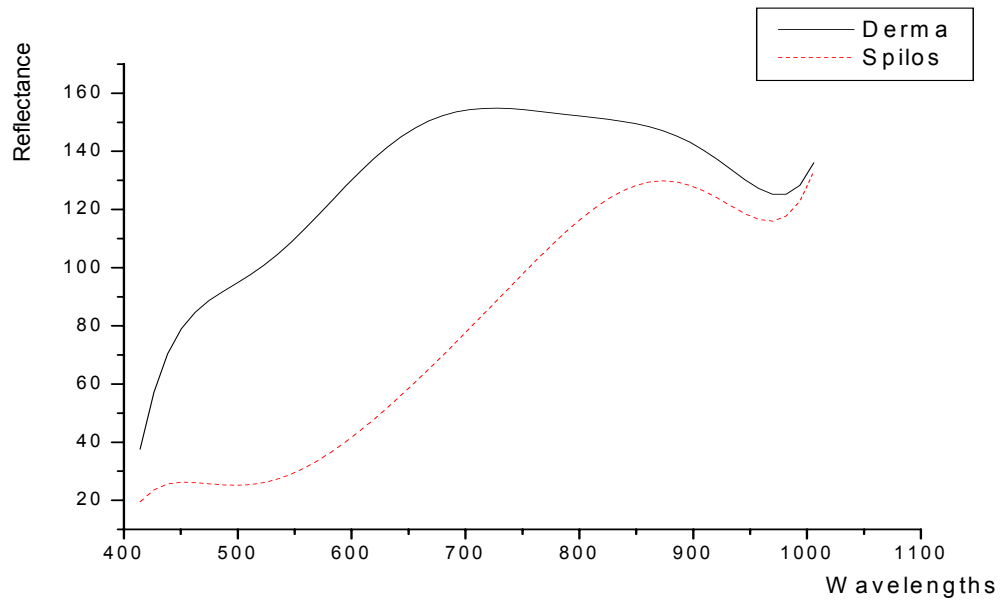
Στην Εικόνα 36 παραθέτονται οι απεικονίσεις από ένα δυσπλαστικό σπίλο σε διάφορα μήκη κύματος. Ο σπίλος έχει πάχος 900μm ενώ παρουσιάζει διάχυτη κατανομή μελανίνης στο συνδεσμικό στοιχείο και κατά θέσεις μέτρια κατανομή μελανίνης στο χοριακό στοιχείο.



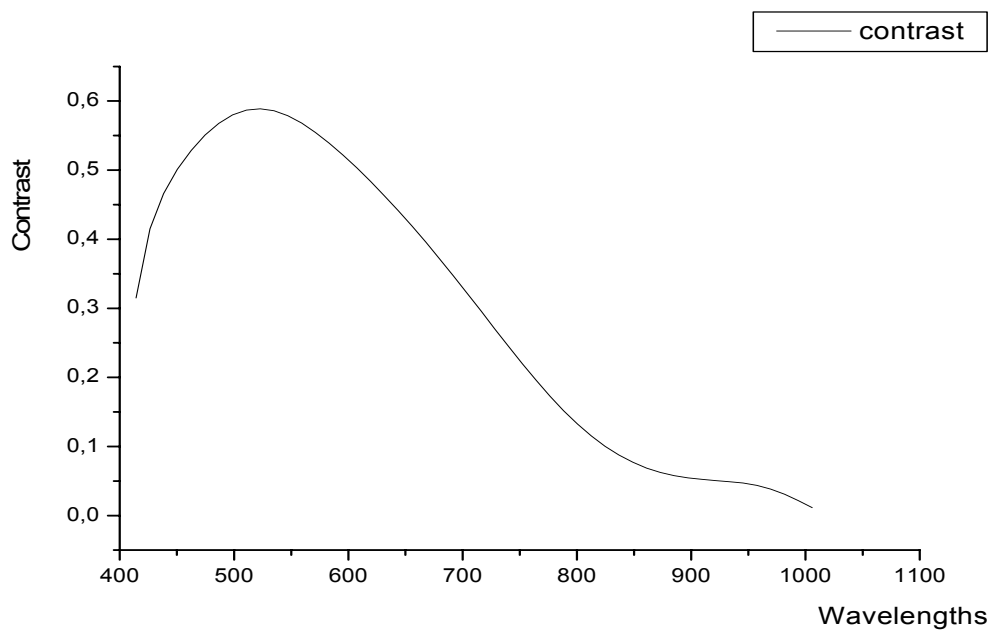
*Εικόνα 36. Απεικονίσεις δυσπλαστικού σπίλου σε μήκη κύματος α)440nm, b)540nm, c)600nm, d)640nm, e)680nm, f)720nm, g)760nm, h)860nm, i)1000nm*

Από τις παραπάνω απεικονίσεις παρατηρούμε ότι όπως και στον μεικτό σπίλο έτσι και στον δυσπλαστικό σπίλο η περιοχή της αλλοίωσης γίνεται «διαφανής» σε μεγάλα μήκη κύματος. Ειδικότερα παρατηρούμε ότι στην περιοχή 600-720nm ο σπίλος εμφανίζει μεγάλη ανομοιομορφία όσον αφορά την κατανομή της μελανίνης στην αλλοίωση. Η ανομοιομορφία στην κατανομή της έντασης πιθανότατα οφείλεται στην παρουσία «φωλιών» στην επιφάνεια της αλλοίωσης όπου εναποτίθεται μελανανίνη. Στο κοντινό υπέρυθρο (παράθυρο διέλευσης οπτικής ακτινοβολίας) μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα όσον αφορά την διαφορές που μπορούν να εμφανίζουν οι αλλοιώσεις μεταξύ τους, καθώς στην περιοχή αυτή απεικονίζονται χαρακτηριστικά των αλλοιώσεων σε βαθύτερα στρώματα του δέρματος.

Στις Εικόνες 37,38 αναπαρίστανται τα φάσματα ανάκλασης της αλλοίωσης σε σχέση με το υγιές δέρμα, καθώς και η αντίθεση (Contrast) που παρουσιάζουν σε σχέση με το μήκος κύματος.



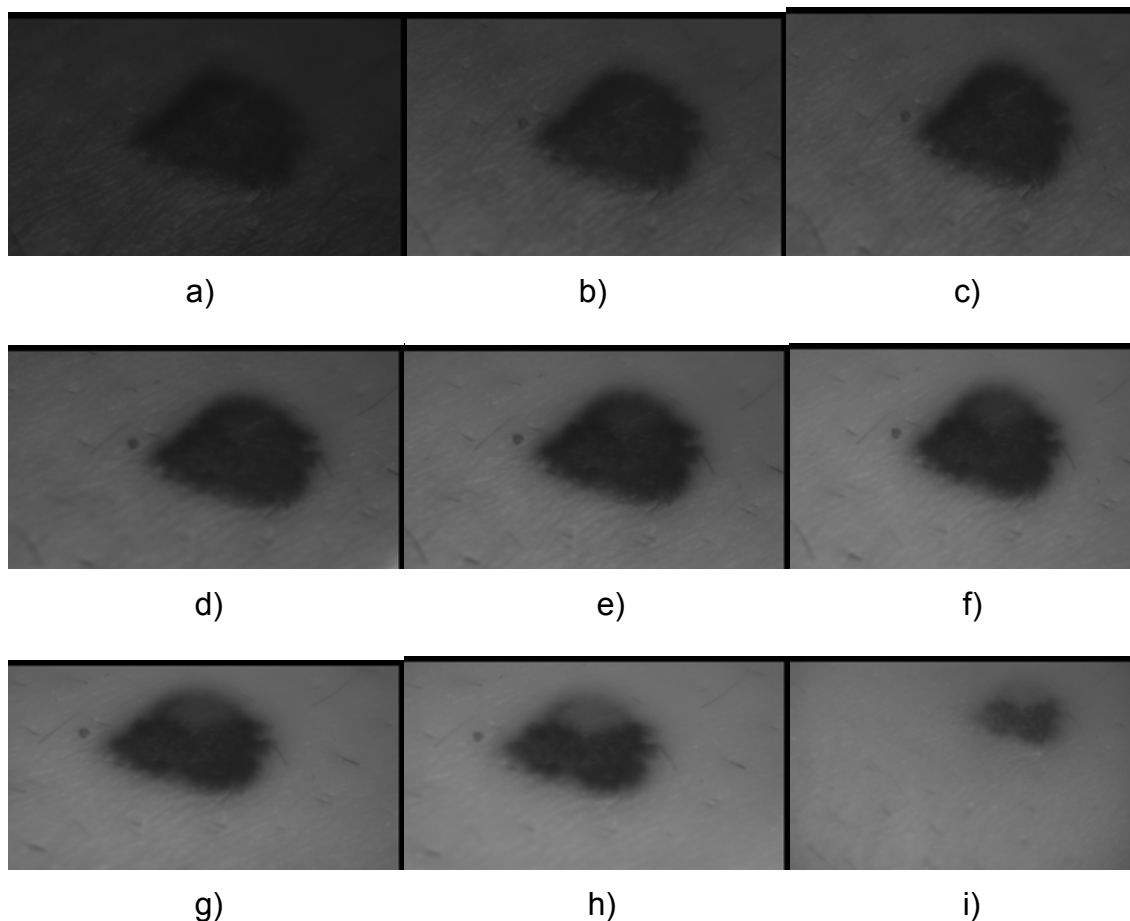
Εικόνα 37. Παράλληλο γράφημα ανάκλασης δυσπλαστικού σπίλου και υγιούς δέρματος σε σχέση με το μήκος κύματος



Εικόνα 38. Αντίθεση μεταξύ δυσπλαστικού σπίλου και δέρματος σε σχέση με το μήκος κύματος

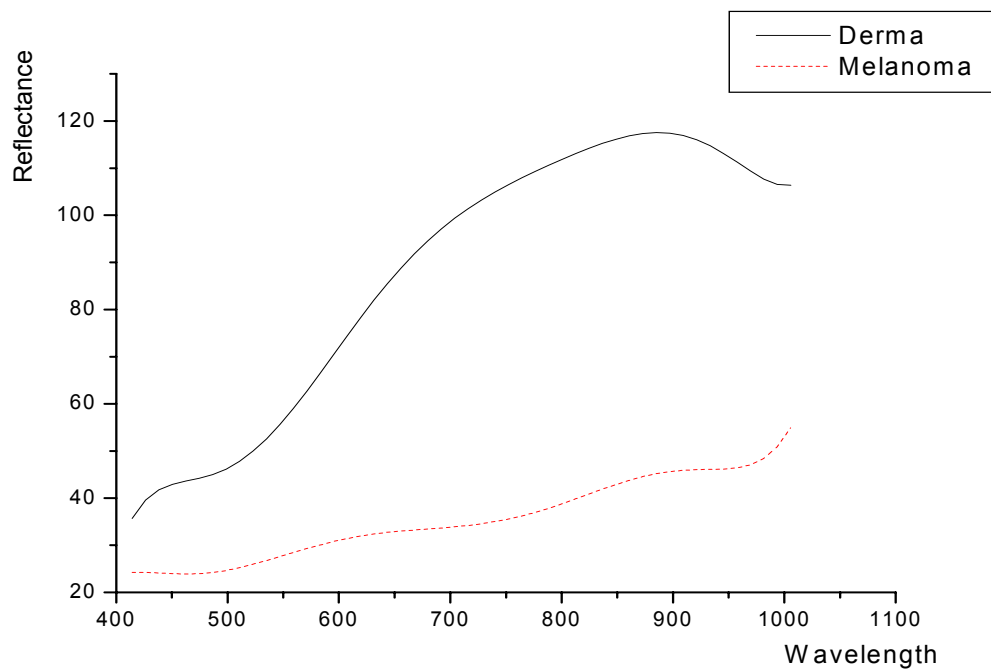
### 5.3.4 Μελάνωμα

Στην Εικόνα 39 απεικονίζεται ένας κακοήθης όγκους πάχους 1.000 $\mu\text{m}$ , ο οποίος σύμφωνα με την βιοψία παρουσίασε διάχυτη κατανομή μελανίνης τόσο στο συνδεσμικό όσο και στο χοριακό στοιχείο.

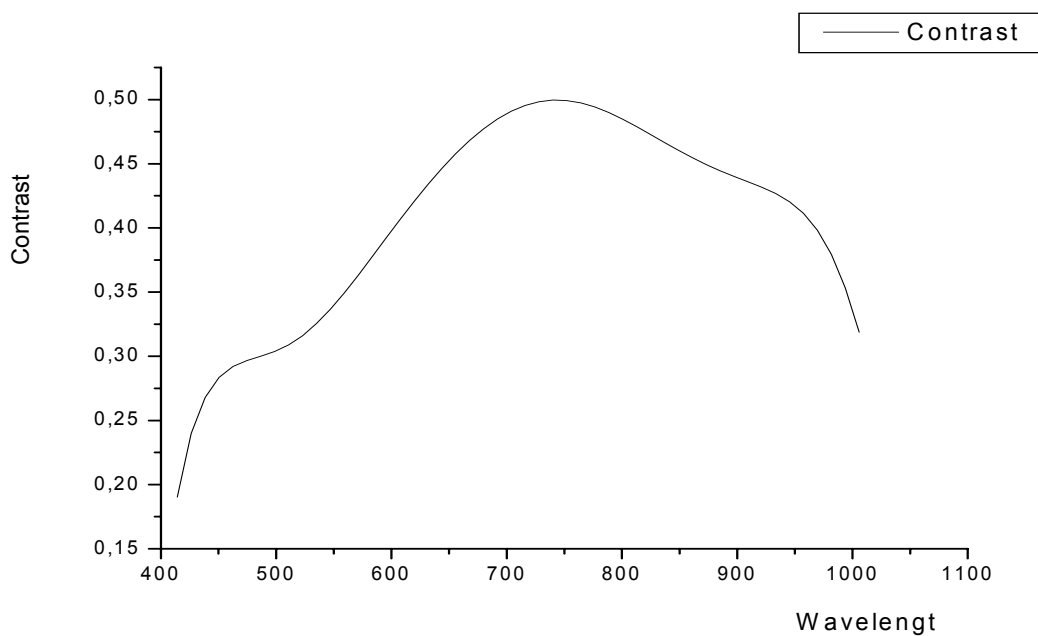


*Εικόνα 39. Απεικονίσεις μελανώματος σε μήκη κύματος a)440nm, b)540nm, c)600nm, d)640nm, e)680nm, f)720nm, g)760nm, h)860nm, i)1000nm*

Στις παραπάνω εικόνες παρατηρούμε ότι η αλλοίωση δεν διαφανοσκοπείται ακόμα και σε μεγάλα μήκη κύματος (1000nm). Αυτό δικαιολογείται καθώς στο μελάνωμα η μελανίνη εντοπίζεται και σε βαθύτερα στρώματα του δέρματος. Παράλληλα όπως έχει αναφερθεί η σύσταση της μελανίνης και οι οπτικές της ιδιότητες σε τέτοιες αλλοιώσεις είναι διαφορετική σε σχέση με τις υπόλοιπες αλλοιώσεις στοιχείο που πιθανότατα επηρεάζει την παραπάνω διαπίστωση. Στις Εικόνες 40,41 απεικονίζονται τα γραφήματα της ανάκλασης της αλλοίωσης σε σχέση με το περιβάλλον υγιές δέρμα και το αντίστοιχο της αντίθεσης, συναρτήσεως του μήκους κύματος.



Εικόνα 40. Παράλληλο γράφημα μελανώματος και υγιούς δέρματος σε σχέση με το μήκος κύματος

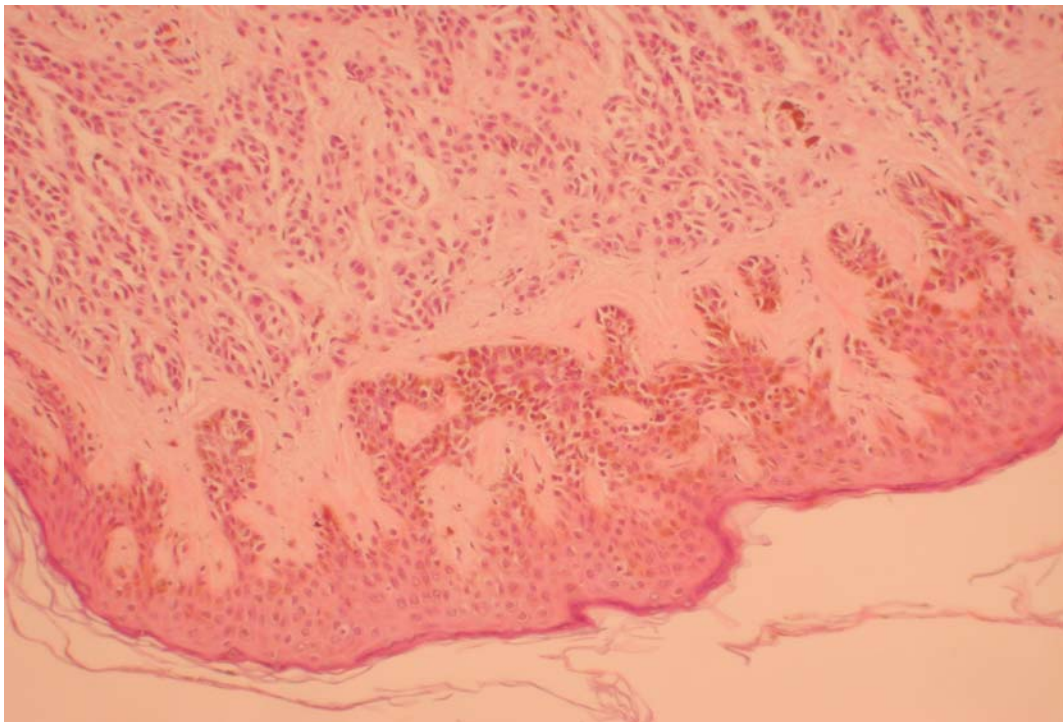


Εικόνα 41. Καμπύλη αντίθεσης (Contrast) μεταξύ μελανώματος και υγιούς δέρματος.

Παρατηρούμε ότι η καμπύλη ανάκλασης του μελανώματος σε σχέση με το υγιές δέρμα παρουσιάζει σημαντικές διαφοροποιήσεις σε σχέση με τις αντίστοιχες των σπίλων. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η ανάκλαση που λαμβάνουμε από τον σπίλο παρουσιάζει ιδιαίτερα χαμηλές τιμές σε όλη την φασματική περιοχή.

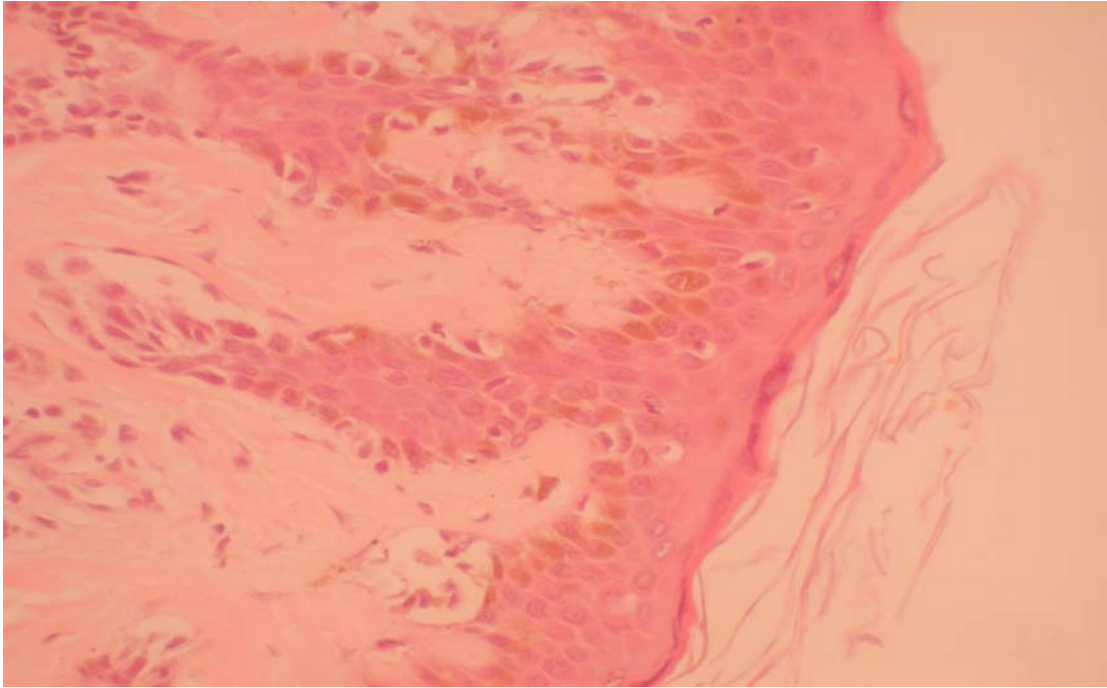
Παράλληλα όσον αφορά την αντίθεση (Contrast) παρατηρούμε σημαντικές διαφοροποιήσεις στην περίπτωση του μελανώματος σε σχέση με τις υπόλοιπες αλλοιώσεις. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση του κακοήθους όγκου η αρχική τιμή της αντίθεσης δεν επανέρχεται σε κανένα σημείο της φασματικής περιοχής στοιχείο που δεν συμβαίνει με τις υπόλοιπες αλλοιώσεις.

Στις Εικόνες 42,43,44 αναπαρίστανται οι εγκάρσιες διατομές των αλλοιώσεων που πραγματοποιήθηκαν από τους παθολογοανατόμους του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου και οι οποίες τέθηκαν στην διάθεσή μας.

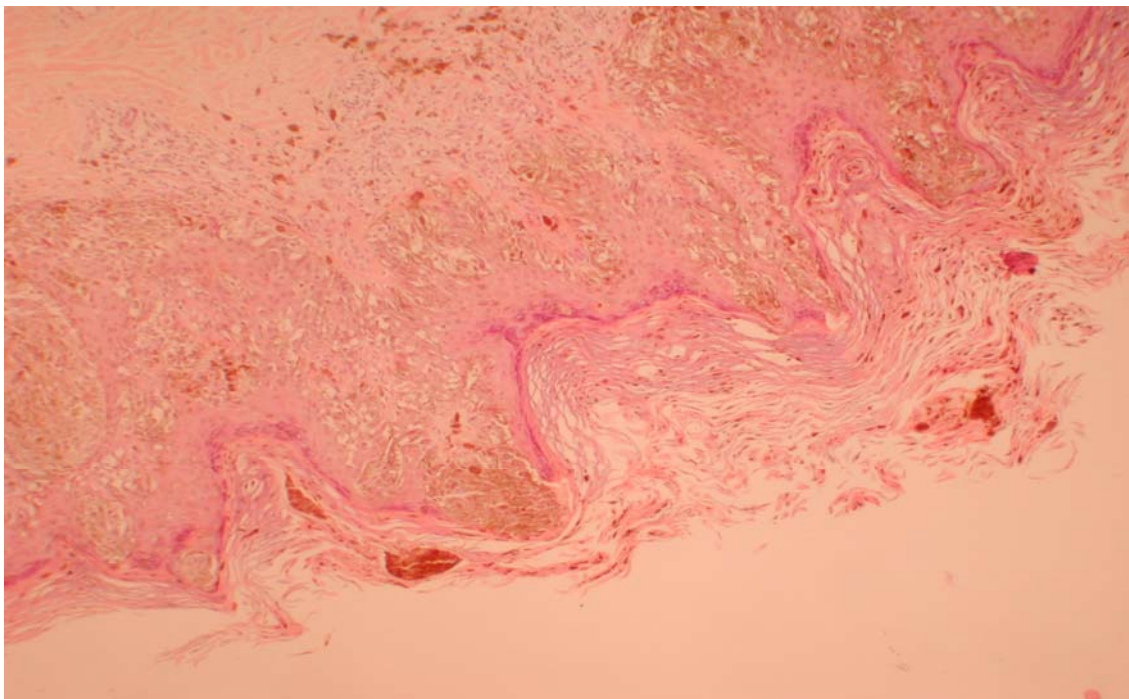


*Εικόνα 42.Εγκάρσια τομή δέρματος μαικτού σπίλου*



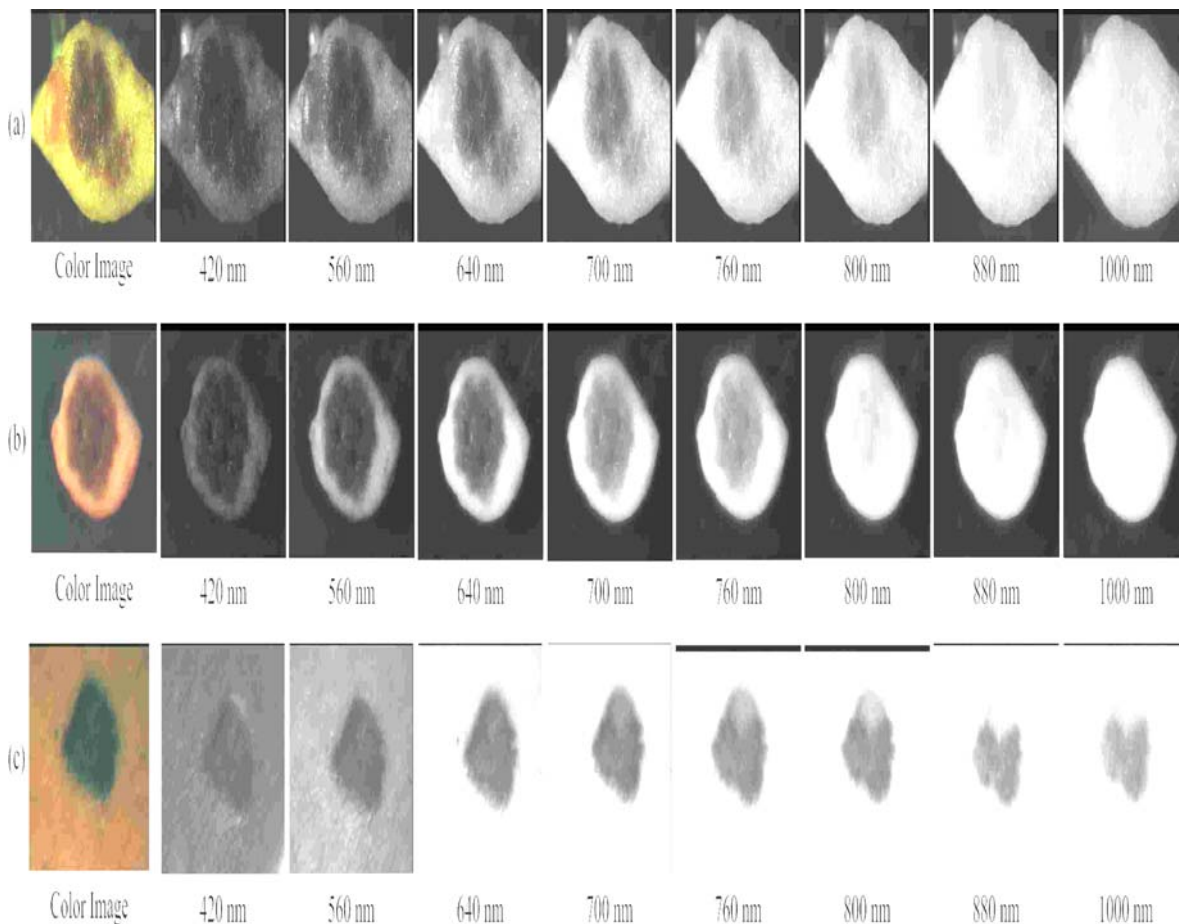


*Εικόνα 43.Εγκάρσια τομή δέρματος δυσπλαστικού σπίλου*



*Εικόνα 44.Εγκάρσια τομή δέρματος κακοήθους όγκου.*

Στην συνέχεια για να μπορέσουμε να εξάγουμε ασφαλέστερα συμπεράσματα όσον αφορά την διάκριση μεταξύ των αλλοιώσεων στην Εικόνα 45 αναπαρίσταται μια σειρά εικόνων από α) ένα δυσπλαστικό σπίλο, b) ένα μεικτό σπίλο και c) από ένα μελάνωμα σε επιλεγμένα μήκη κύματος.



**Εικόνα 45. Απεικονίσεις από α)δυσπλαστικό σπίλο, b)μεικτό σπίλο και c)μελάνωμα σε 8 διαφορετικά μήκη κύματος και RGB**

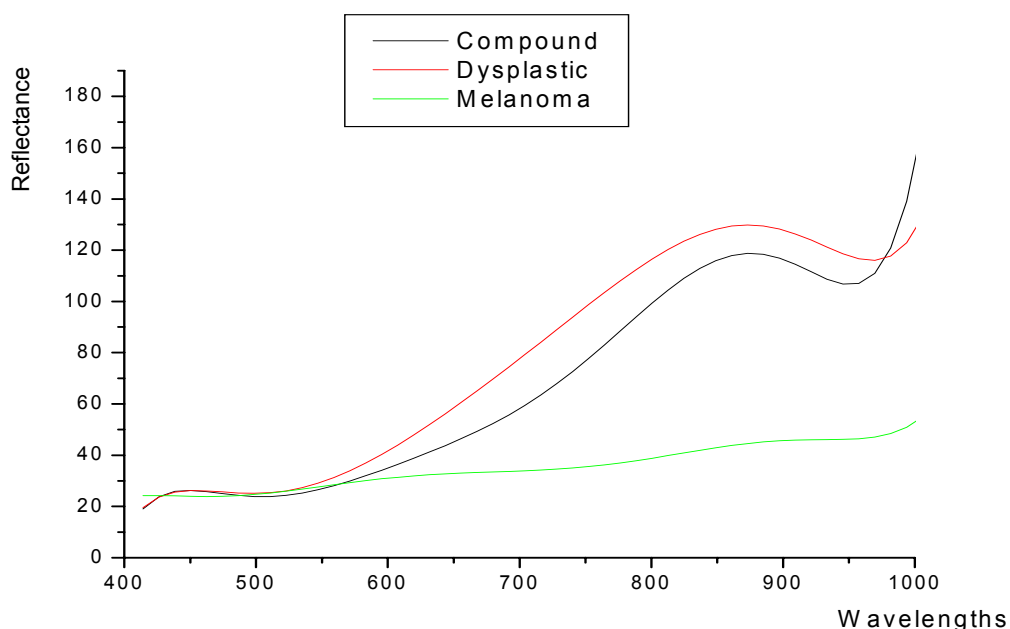
Όπως φαίνεται, οι σπίλοι γίνονται «διαφανείς» στο κοντινό υπέρυθρο. Πιο συγκεκριμένα είναι προφανές ότι οι δυσπλαστικοί και οι μεικτοί σπίλοι γίνονται «διαφανείς» σε μικρότερα μήκη κύματος σε σχέση με το μελάνωμα το οποίο είναι ευκρινώς ανιχνεύσιμο ακόμα και στα 1000nm. Τα φασματικά χαρακτηριστικά των σπύλων σε σχέση με το μελάνωμα διαφέρουν σημαντικά ειδικά σε περιοχές μηκών κύματος μεγαλύτερα από 600nm. Από φυσικής άποψης αυτό σημαίνει ότι ο κακοήθης όγκος είναι οπτικά βαθύτερος σε σχέση με τους σπύλους. Πιο συγκεκριμένα είναι φανερό ότι στην περίπτωση του μελανώματος το πάνω μέρος της αλλοίωσης γίνεται «διαφανές» σε μικρότερα μήκη κύματος σε σχέση με την υπόλοιπη αλλοίωση.

Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τέτοιες αλλοιώσεις εμφανίζουν μελανίνη σε μεγάλο βάθος ενώ παράλληλα η κατανομή της μελανίνης στα μελανώματα καθώς και οι οπτικές ιδιότητες που αυτή έχει, παρουσιάζουν διαφοροποιήσεις σε σχέση με τις υπόλοιπες αλλοιώσεις.

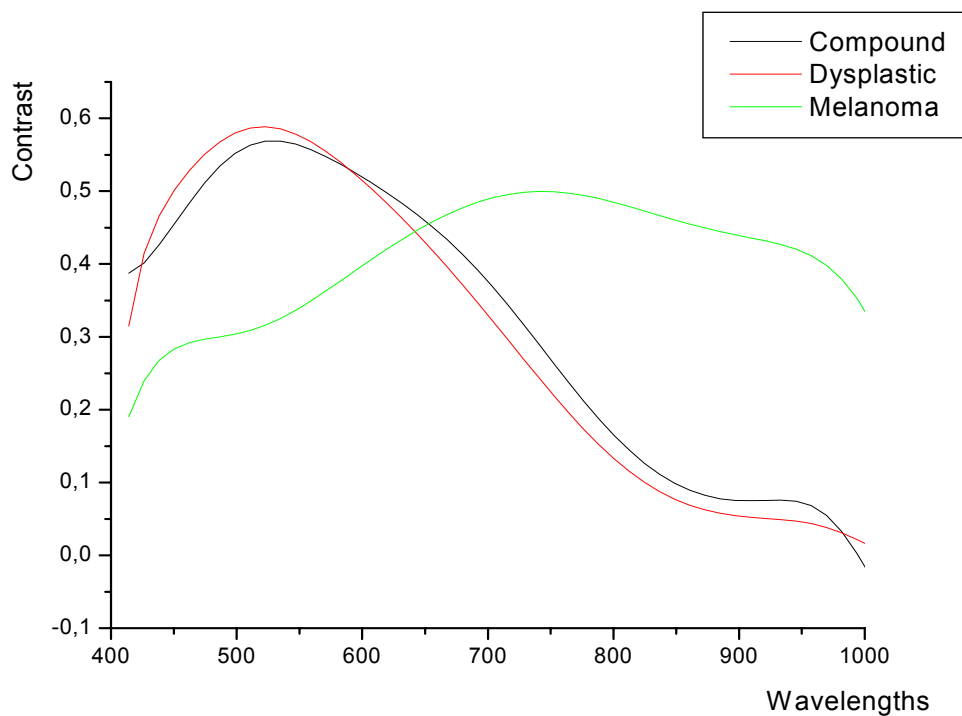
Παράλληλα παρατηρείται ότι ο δυσπλαστικός σπίλος εμφανίζει μια τάση διαφοροποίησης σε σχέση με τον μεικτό σπίλο. Και οι δυο σπίλοι εμφανίζουν μελανίνη τόσο στο συνδεσμικό όσο και στο χοριακό στοιχείο, χαρακτηριστικό που δικαιολογεί την ιδιότητα τους να γίνονται «διαφανείς» σε μήκη κύματος μεγαλύτερα από 760-800nm. Εντούτοις ο δυσπλαστικός σπίλος παρουσιάζει μια εμφανής ανομοιομορφία όσον αφορά την δομή του και τα οπτικά χαρακτηριστικά του σε σχέση με τον μεικτό σπίλο.

Στην συνέχεια σε κοινό γράφημα (Εικόνα 46) παρουσιάζονται οι καμπύλες ανάκλασης των αλλοιώσεων σε σχέση με το μήκος κύματος.

Στην Εικόνα 47 αναπαρίσταται η καμπύλη αντίθεσης (Contrast) του μεικτού του δυσπλαστικού σπίλου και του μελανώματος σε σχέση με το περιβάλλον δέρμα της κάθε αλλοίωσης, συναρτήσει με το μήκος κύματος.



*Εικόνα 46. Κοινό γράφημα αναπαράστασης φάσματος ανάκλασης μεικτού, δυσπλαστικού σπίλου και μελανώματος*



*Εικόνα 47. Αντίθεση (Contrast) μεικτού, δυσπλαστικού σπίλου και μελανώματος σε σχέση με το μήκος*

#### 5.4 Σύγκριση μεικτών-δυσπλαστικών σπύλων

Στην προηγούμενη παράγραφο έγινε ξεκάθαρη η διαφοροποίηση που υφίσταται μεταξύ των απλών σπύλων και της κακοήθους αλλοίωσης. Αυτό που δεν μπορέσαμε να διακρίνουμε ήταν μεγάλες και «καθαρές» διαφορές μεταξύ των σπύλων. Όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενη παράγραφο είναι ιδιαίτερα χρήσιμο να εντοπισθούν διαφοροποιήσεις μεταξύ των μεικτών και των δυσπλαστικών σπύλων. Οι συγκεκριμένες κατηγορίες σπύλων παρουσιάζουν τα ίδια χαρακτηριστικά, οπτικά και η διάκριση τους από τους κλινικούς γιατρούς είναι ιδιαίτερα δύσκολη έως αδύνατη.

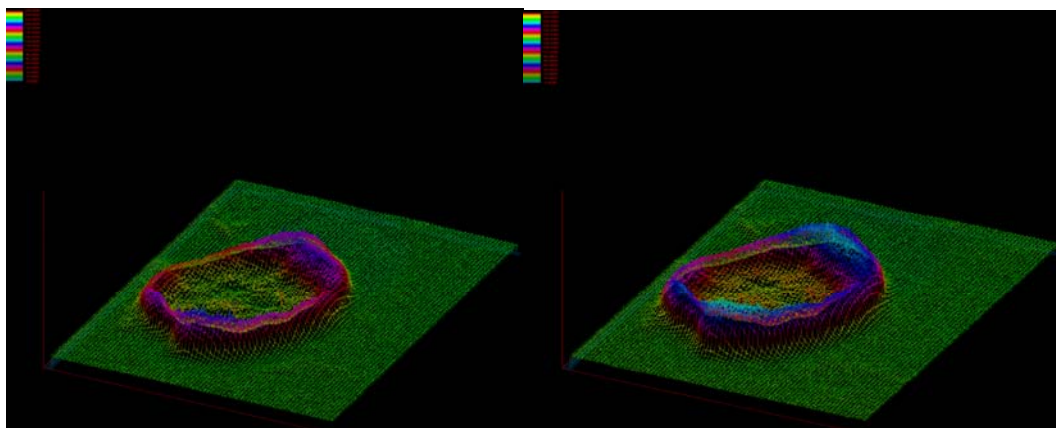
Για τον σκοπό αυτό και με βάση τις δεδομένες ιστολογικές και αρχιτεκτονικές διαφορές (Κεφάλαιο 2) που παρουσιάζουν τα δύο ήδη αλλοιώσεων έγινε προσπάθεια διάκρισης τους .

Κύριο χαρακτηριστικό των δυσπλαστικών σπύλων είναι η ασυμμετρία που παρουσιάζουν καθώς και η μελανοκυτταρική υπερπλασία η οποία θεωρητικά θα έχει αποτέλεσμα και στην κατανομή των εντάσεων στην επιφάνεια των σπύλων.

Έτσι στις Εικόνες 48 ,49 και 50 μελετήθηκε η κατανομή της έντασης στην επιφάνεια μεικτού και δυσπλαστικού σπίλου και για μία περίπτωση κακοήθους όγκου. Οι απεικονίσεις που μελετήθηκαν ελήφθησαν στο κοντινό υπέρυθρο (600-640nm) περιοχή που αποτελεί «παράθυρο» διέλευσης της οπτικής ακτινοβολίας. Παρατηρούμε ότι στην περίπτωση του μεικτού σπίλου η κατανομή των εντάσεων στις εικόνες σε όλα τα μήκη κύματος που ελήφθησαν είναι αρκετά ομοιόμορφη σε αντίθεση με τον δυσπλαστικό σπίλο όπου εμφανίζεται έντονη ανομοιομορφία στις εντάσεις στην επιφάνεια του σπίλου ακόμα και σε μεγάλα μήκη κύματος.

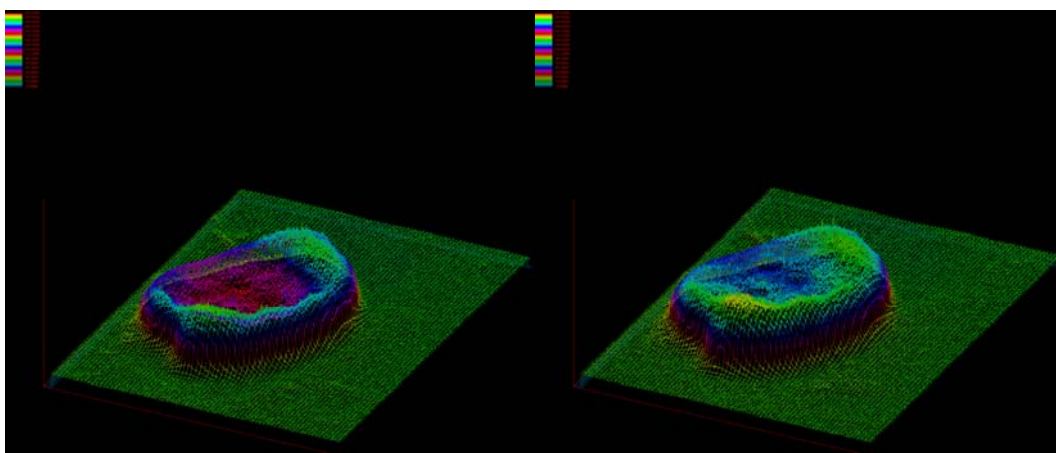
Αυτό οφείλεται και στην πιθανή παρουσία «φωλιών» παρουσία μελανίνης κατά μήκος του δυσπλαστικού σπίλου, αλλά και στην ακανόνιστη δομή και αρχιτεκτονική που αυτοί παρουσιάζουν.

Όσον αφορά το μελάνωμα η διαφοροποίηση σε σχέση με τους σπίλους είναι ξεκάθαρη και οφείλεται στο βάθος της αλλοίωσης, στην αρχιτεκτονική της αλλά και στις διαφορετικές οπτικές ιδιότητες της μελανίνης που εμφανίζεται σε τέτοιες αλλοιώσεις, σε σχέση με τους σπίλους.



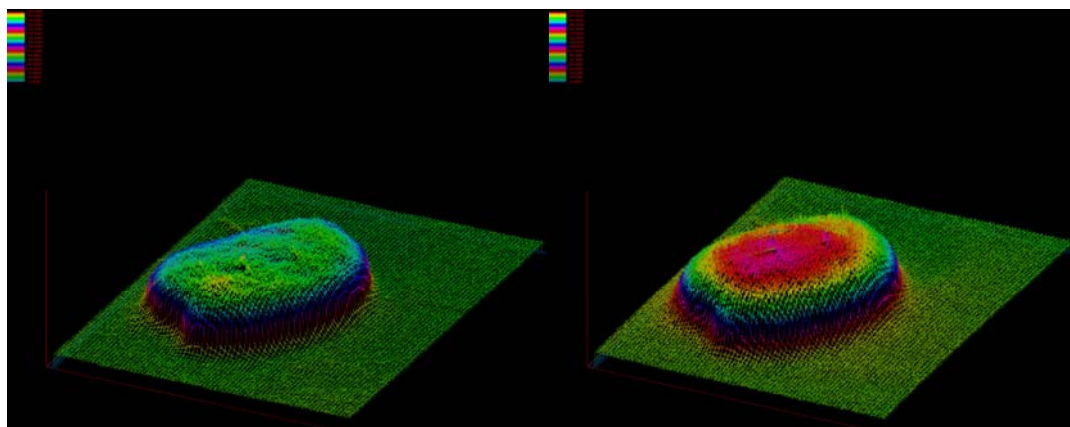
α)

β)



γ)

δ)

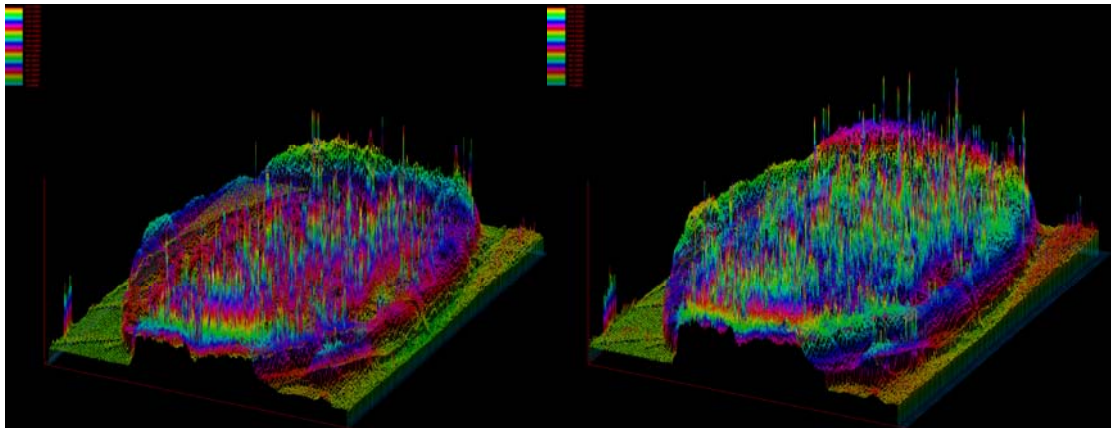


ε)

στ)

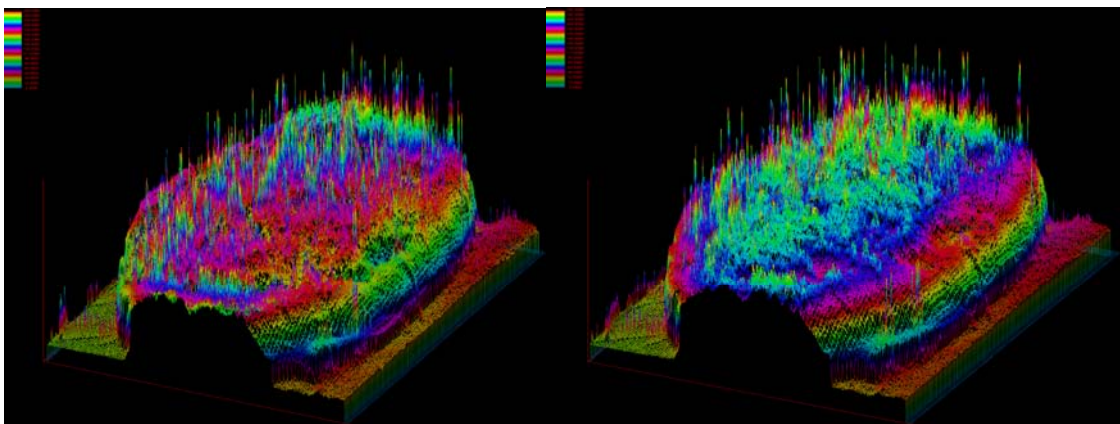
Εικόνα 48. Κατανομή εντάσεων μεικτού σπίλου στα α) 500nm, β) 600nm, γ) 700nm, δ) 800nm, ε) 900nm και στ) 1000nm





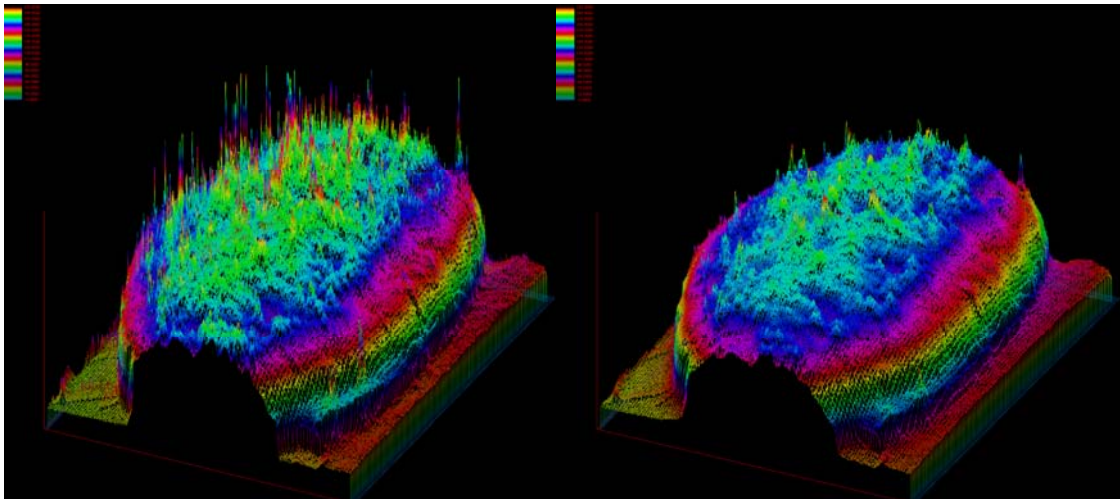
α)

β)



γ)

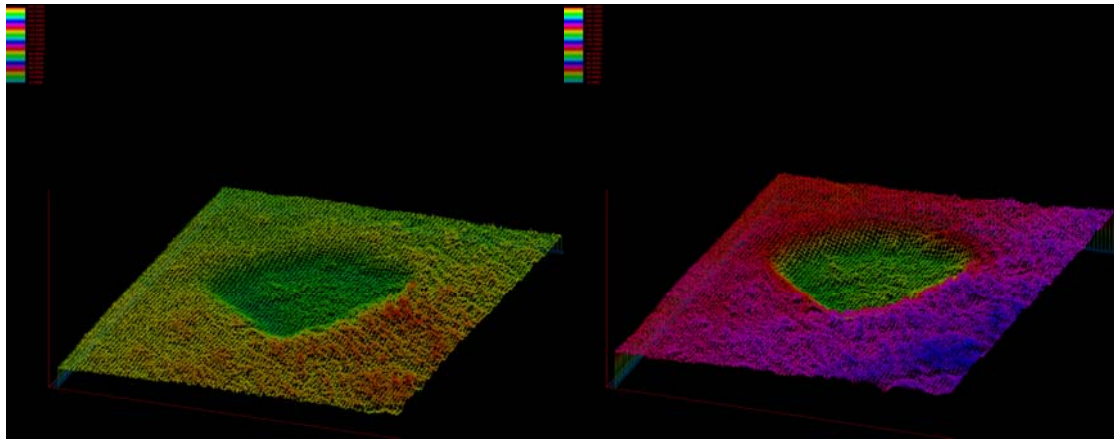
δ)



ε)

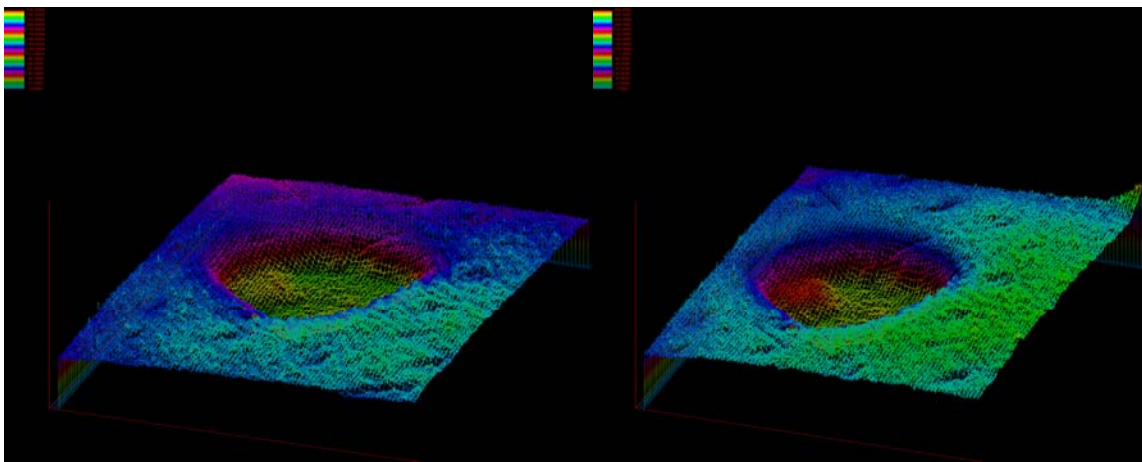
στ)

Εικόνα 49. Κατανομή εντάσεων δυσπλαστικού σπίλου στα α) 500nm, β) 600nm, γ) 700nm, δ) 800nm, ε) 900nm και στ) 1000nm



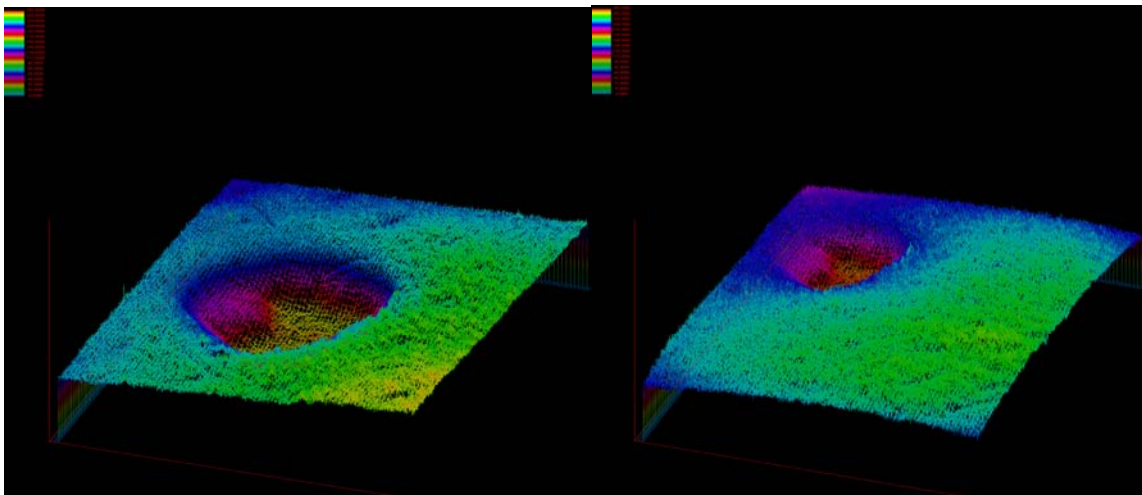
α)

β)



γ)

δ)



ε)

στ)

Εικόνα 50. Κατανομή εντάσεων μελανώματος σε α) 500nm, β) 600nm, γ) 700nm, δ) 800nm, ε) 900nm και στ) 1000nm

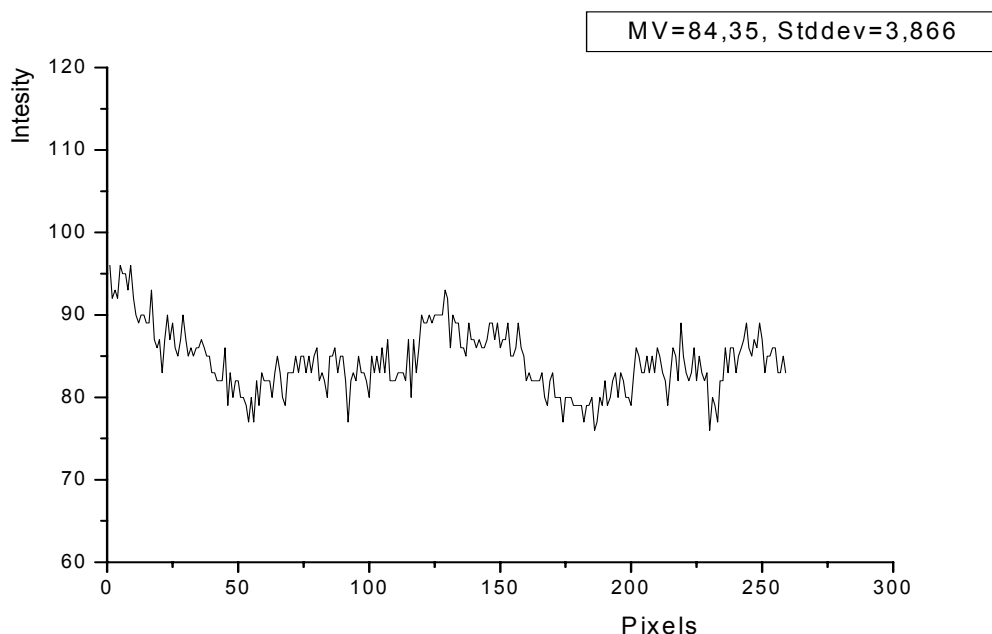


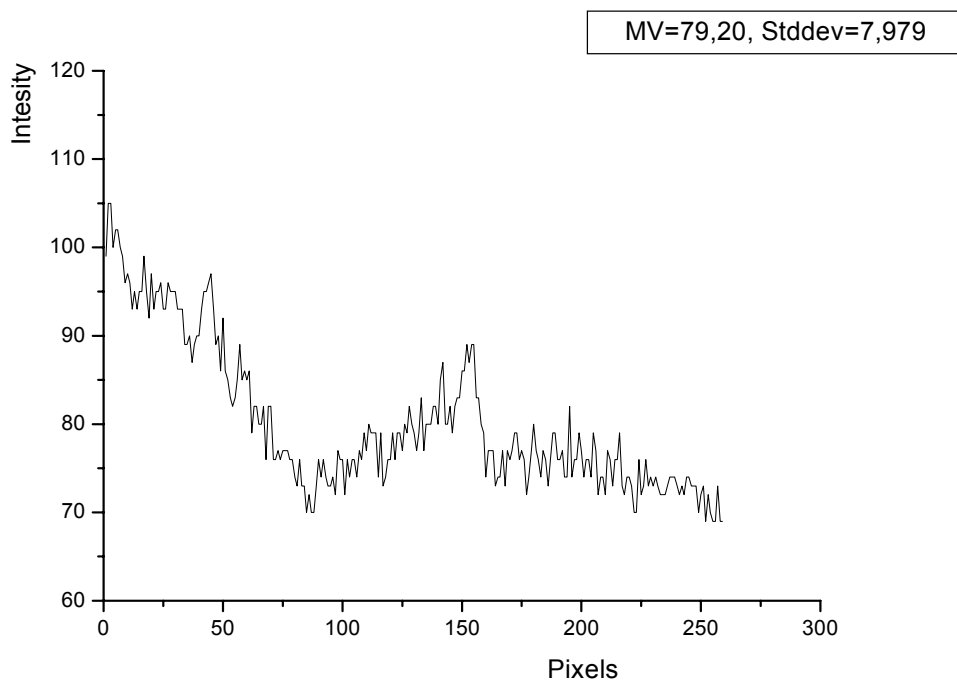
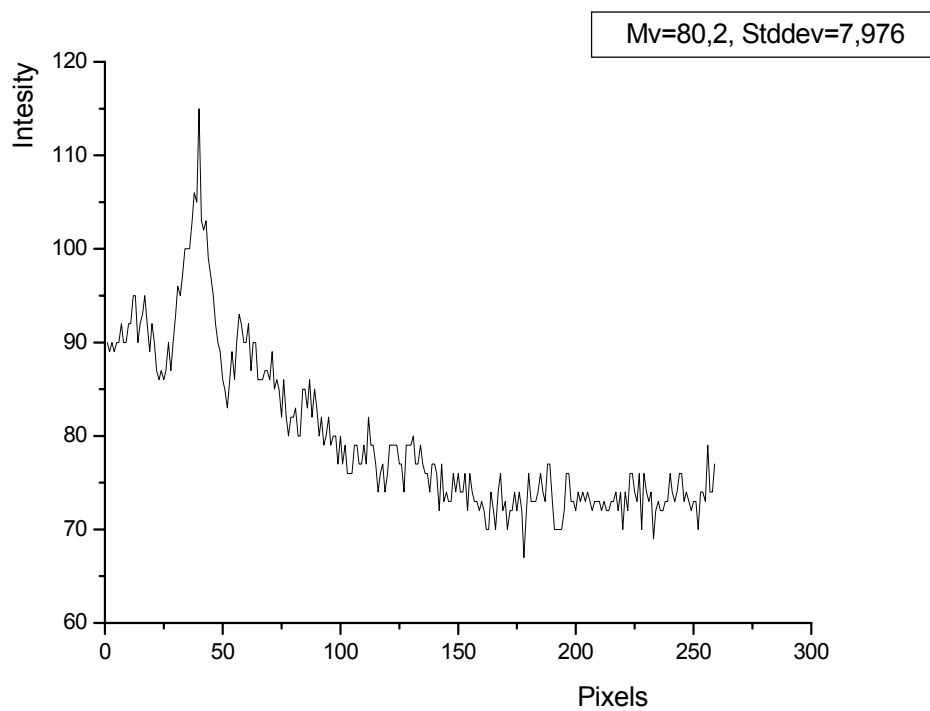
Στην συνέχεια προχωρώντας ακόμα περισσότερο έγινε προσπάθεια να γίνει μια κατά μήκος των αλλοιώσεων, σε συγκεκριμένη φασματική περιοχή, εκτίμηση της έντασης αλλά και της ανομοιομορφίας που τυχόν εμφανίζουν. Στόχος της προσπάθειας αυτής είναι να διερευνηθούν πιθανές διαφορές που εμφανίζουν οι δυσπλαστικοί με τους μεικτούς σπίλους, οι οποίες και θα συσχετιστούν με την ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία (Κεφάλαιο 2). Για τον σκοπό αυτό οι σπίλοι στην περιοχή του κοντινού υπερύθρου (παράθυρο εύκολης διέλευσης της οπτικής ακτινοβολίας) «σαρώθηκαν» από μια σειρά γραμμών μέσω των οποίων μπορούμε να εξάγουμε την ένταση σε κάθε εικονοστοιχείο της γραμμής αλλά και την μέση τιμή των εντάσεων κατά μήκος της γραμμής. Ακόμα υπολογίζεται η παράμετρος γνωστή ως Standart Deviation μέσω της οποίας εκτιμάται η ανομοιομορφία που εμφανίζει η εκάστοτε επιλεγθείσα γραμμή.

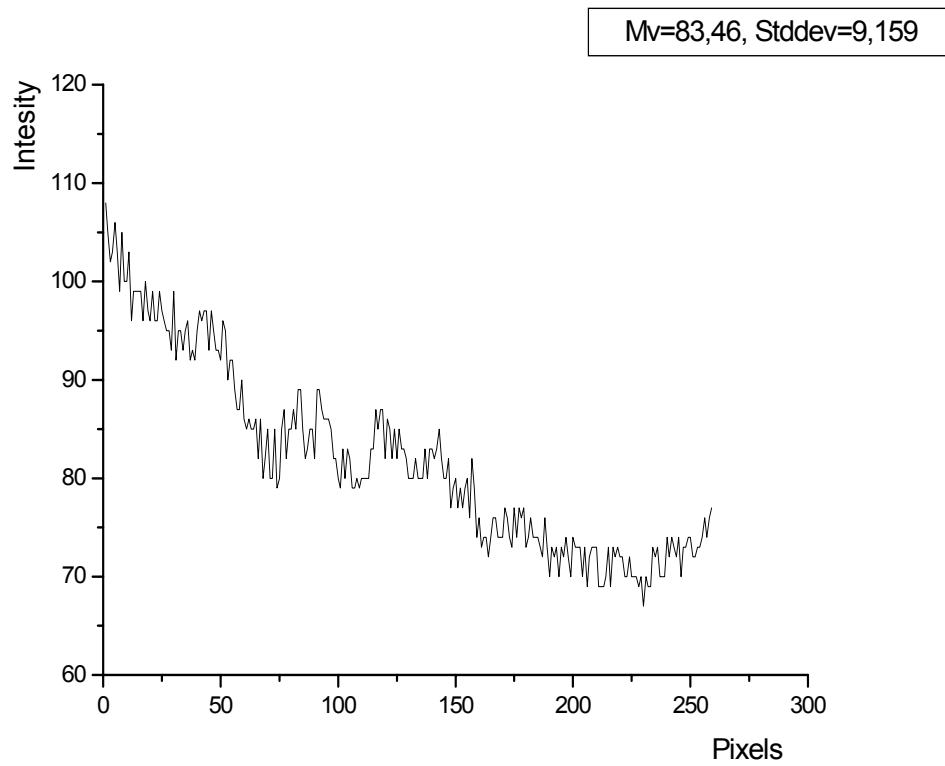
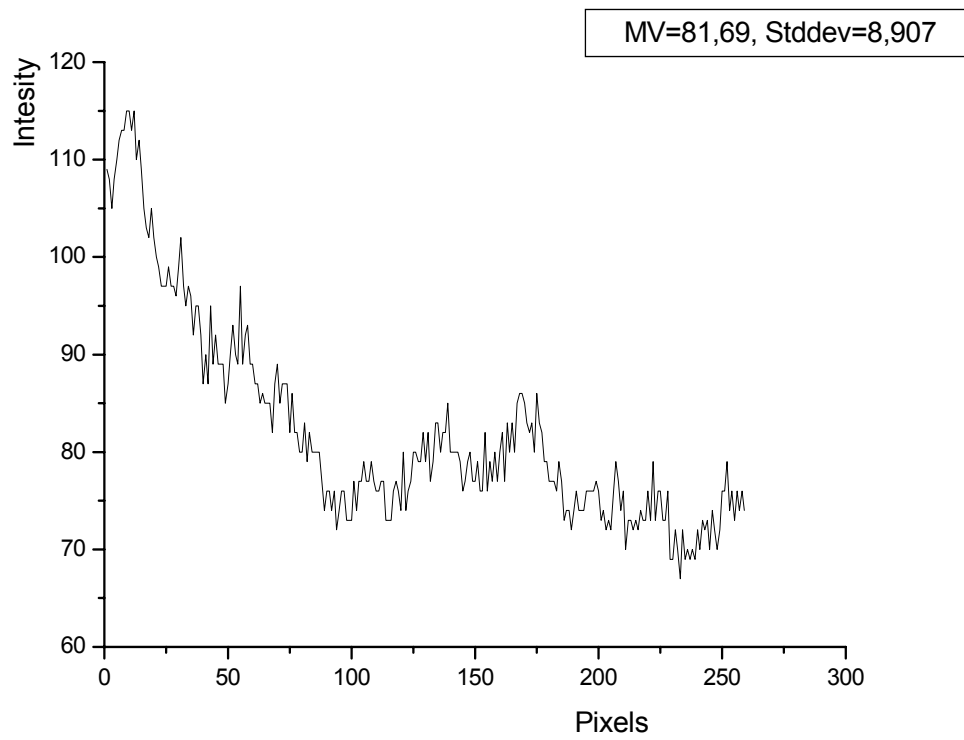
$$\text{Standart Deviation} = \sqrt{\frac{\sum (x-A)^2}{N}}$$

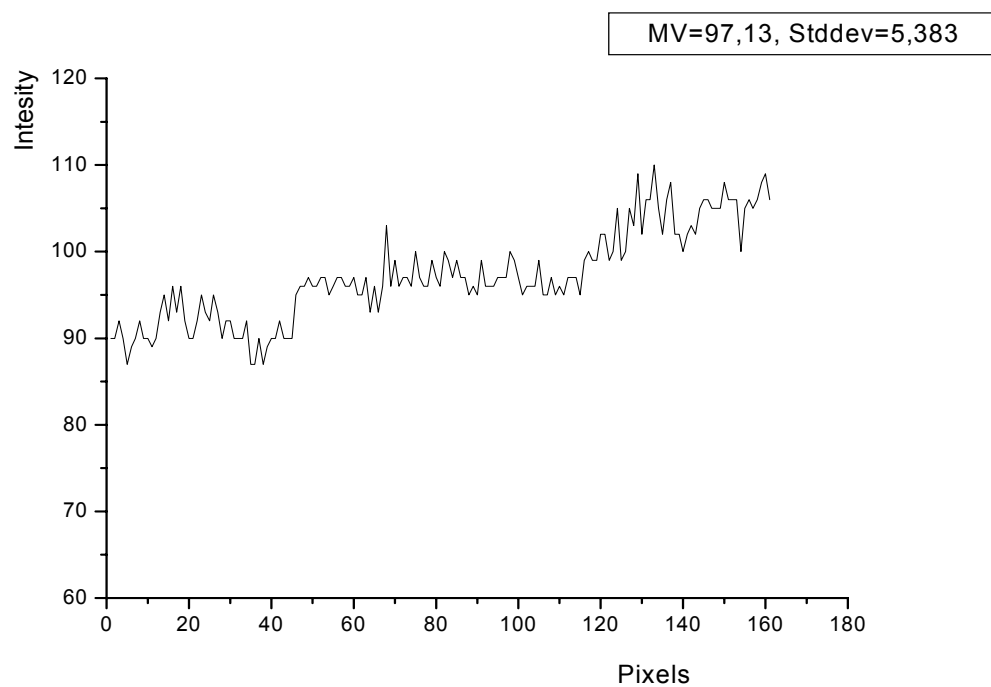
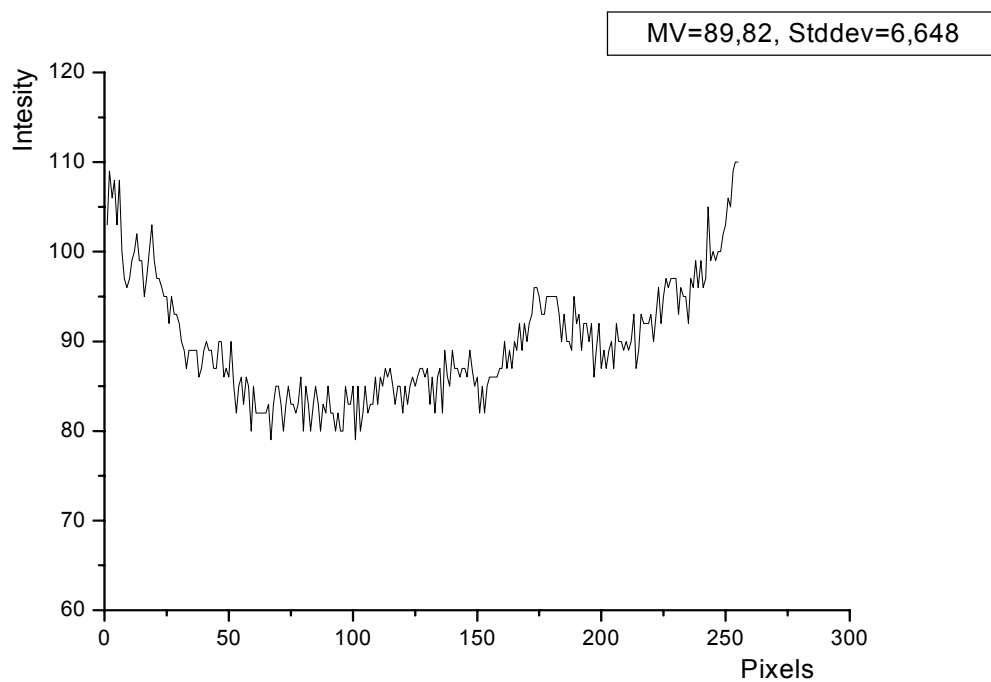
όπου A είναι η μέση τιμή των εντάσεων x η εκάστοτε τιμή και N ο συνολικός αριθμός των εντάσεων στην γραμμή επιλογής.

Στην Εικόνα 51 καταγράφονται οι εντάσεις κατά μήκος γραμμής ενός μεικτού σπίλου στα 640nm καθώς και οι υπόλοιπες παράμετροι που προαναφέρθηκαν.



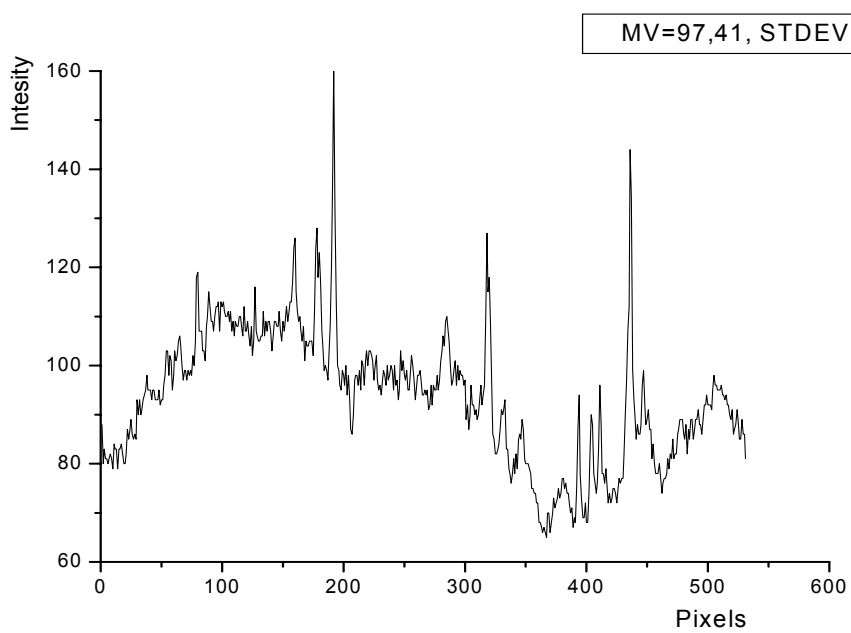
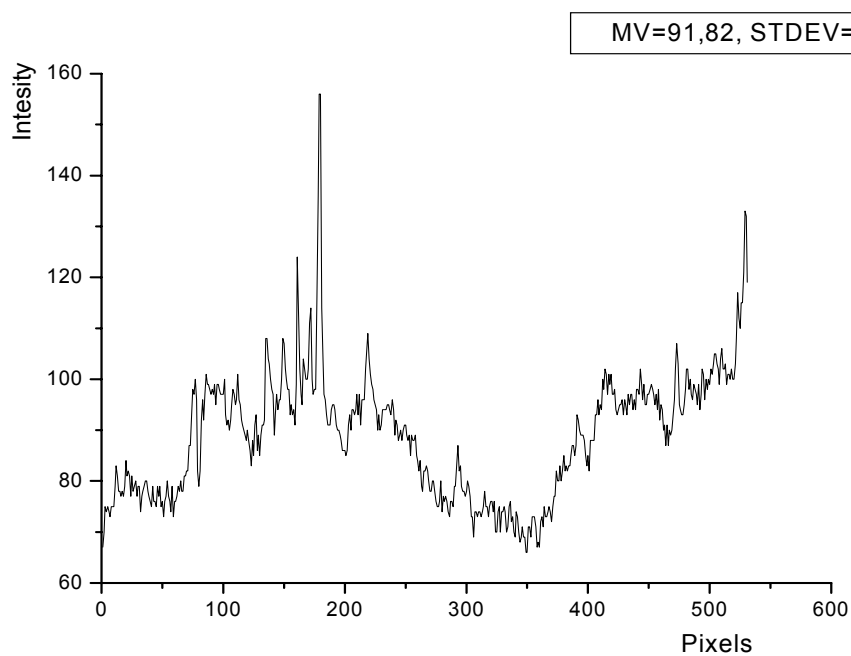


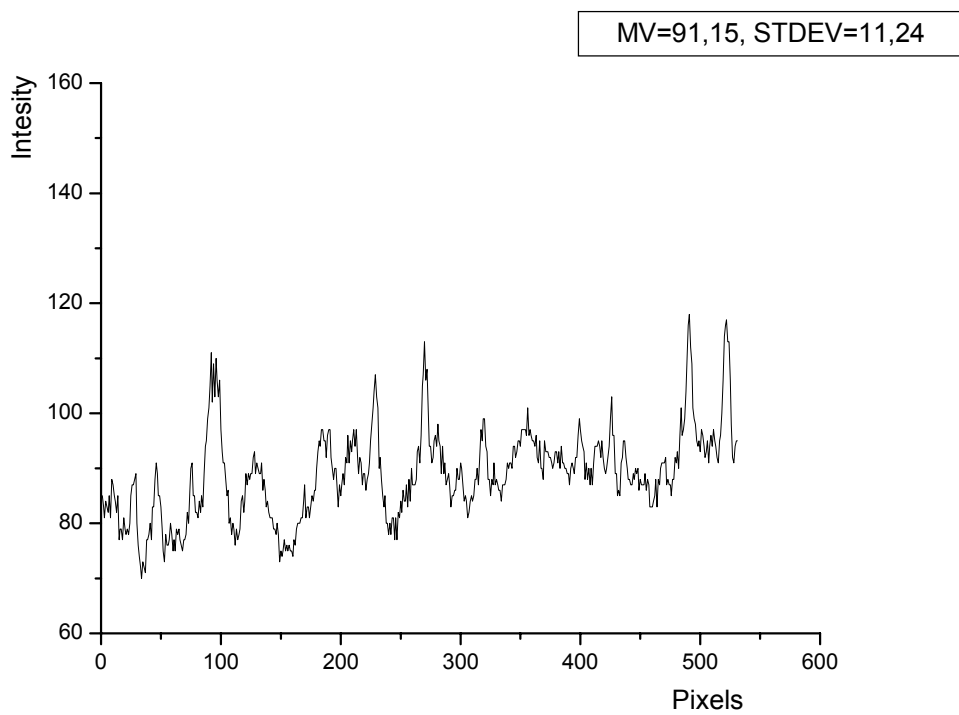
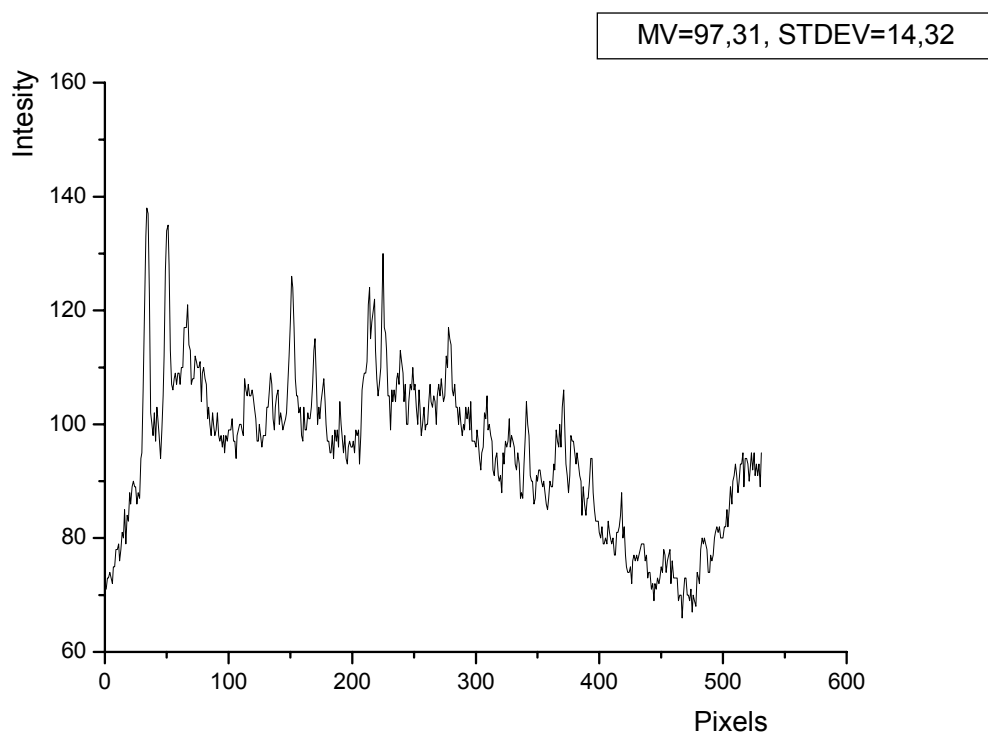


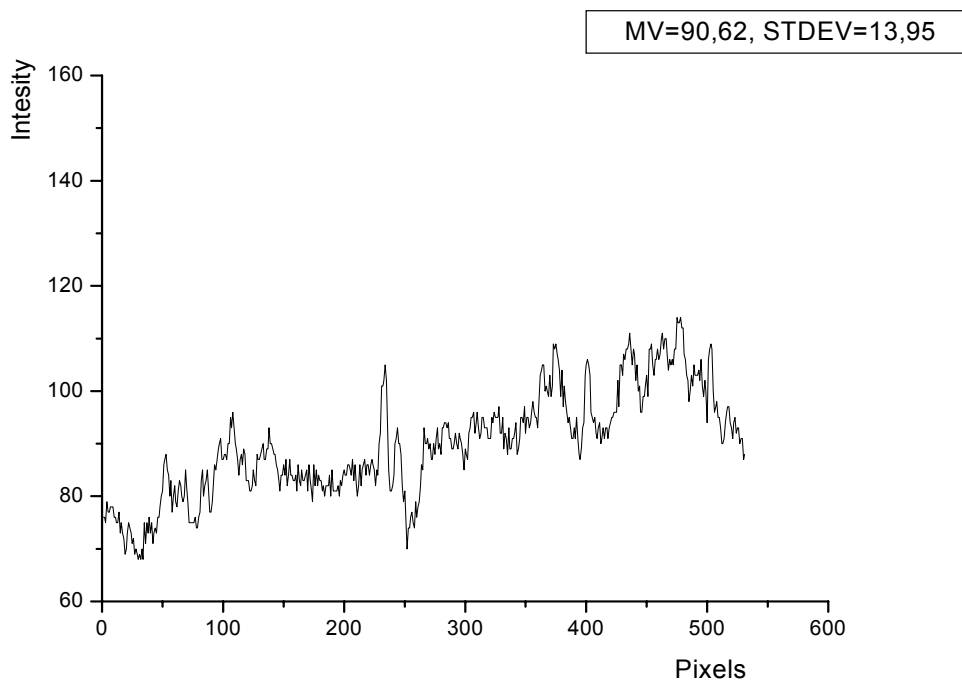


*Εικόνα 51..Γραφήματα εντάσεων κατά μήκος γραμμών με τις οποίες «σαρώνεται» ο μεικτός σπίλος.*

Όμοια στην Εικόνα 52 καταγράφονται οι αντίστοιχες τιμές εντάσεων, η μέση τιμή και το Standart deviation για ένα δυσπλαστικό σπίλο







*Εικόνα 52. Γραφήματα εντάσεων κατά μήκος γραμμών με τις οποίες «σαρώνεται» ο δυσπλαστικός σπίλος.*

Από τα παραπάνω γραφήματα παρατηρούμε ότι ο δυσπλαστικός σπίλος παρουσιάζει μεγαλύτερη ανομοιομορφία στις τιμές των εντάσεων κάτι που απεικονίζεται και από τις τιμές του Standard deviation. Το στοιχείο αυτό μπορεί να δικαιολογηθεί από την γνωστή από την βιβλιογραφία διαφοροποίηση που παρουσιάζουν οι δυσπλαστικοί σπίλοι σε σχέση με τους υπόλοιπους σπίλους.

Πέρα από την ανομοιομορφία, την ασυμμετρία και την μελανοκυτταρική υπερπλασία που παρουσιάζουν οι δυσπλαστικοί σπίλοι, πιθανολογείται χωρίς να είναι επιβεβαιωμένο, ότι τέτοιοι σπίλοι εμφανίζουν μελανίνη με διαφορετικές οπτικές ιδιότητες σε σχέση με τους υπόλοιπους σπίλους.

Το παραπάνω στοιχείο είναι βασικό χαρακτηριστικό των μελανωμάτων, της πιθανής εξέλιξης δηλαδή ενός δυσπλαστικού σπίλου. Από τα παραπάνω στοιχεία προκύπτει ότι υπάρχει μια τάση διαφοροποίησης των δυσπλαστικών σπίλων σε σχέση με τους υπόλοιπους σπίλους.

## 5.5 Συζήτηση

Η In-vivo οπτική εξέταση από τους κλινικούς γιατρούς δερματικών αλλοιώσεων χρησιμοποιώντας παραδοσιακές τεχνικές διάγνωσης δεν είναι πάντοτε ιδιαίτερα αποτελεσματικές. Η αδυναμία που παρουσιάζουν οι τεχνικές αυτές, έγκειται στο γεγονός ότι στο ορατό δεν μπορούν να διακριθούν χαρακτηριστικά των αλλοιώσεων σε περιοχές βαθύτερες από την επιδερμίδα με αποτέλεσμα να μην υπάρχουν ιδιαίτερα σημαντικές διαγνωστικές πληροφορίες.

Παράλληλα τα λάθη που υπεισέρχονται στην δειγματοληψία αλλά και κατά την βιοψία των αλλοιώσεων έκανε επιτακτική την ανάγκη για μια γρήγορη μη επεμβατική μέθοδο διάγνωσης αλλοιώσεων του δέρματος. Μέσω της φασματικής απεικόνισης και του συστήματος που διαθέτουμε ( HyperSpectral imaging system (HySIS) Forth Photonics) [12], στην συγκεκριμένη διατριβή έγινε προσπάθεια για την επίτευξη μιας τέτοιας μη επεμβατικής μεθόδου διάγνωσης. Τα αποτελέσματα της μεθόδου κατέδειξαν ότι είναι δυνατή η διάκριση κακοήθων όγκων από απλές αλλοιώσεις του δέρματος.

Εξετάζοντας τις απεικονίσεις στα διάφορα μήκη κύματος που ελήφθησαν αλλά και τα φασματικά χαρακτηριστικά που προέκυψαν, συμπεραίνουμε ότι το μελάνωμα παρουσίασε στοιχεία που το διαφοροποιούν από τους υπόλοιπους σπίλους. Πιο συγκεκριμένα παρατηρήθηκε (Εικόνα 41) ότι το μελάνωμα διατηρεί τα χαρακτηριστικά του ακόμα και σε μεγάλα μήκη κύματος (1000nm) χωρίς να «διαφανοσκοπείται» σε αντίθεση με τους υπολοίπους σπίλους οι οποίοι σε αυτήν την φασματική περιοχή είναι «διαφανείς» μη διακριτοί από το περιβάλλον δέρμα.

Παράλληλα οι τιμές των ανακλάσεων (Εικόνα 43) σε σχέση με το μήκος κύματος του μελανώματος σε σχέση με του σπίλους ήταν ιδιαίτερα χαμηλότερες σε όλη την φασματική περιοχή (400-1000nm). Τα φασματικά χαρακτηριστικά των σπίλων σε σχέση με το μελάνωμα διαφέρουν σημαντικά ειδικά σε περιοχές μηκών κύματος μεγαλύτερα από 700nm. Από φυσικής άποψης αυτό δικαιολογείται από το ότι κακοήθης όγκος είναι οπτικά βαθύτερος σε σχέση με τους σπίλους αλλά και από τις διαφορετικές οπτικές ιδιότητες που εμφανίζονται στην μελανίνη της συγκεκριμένης αλλοίωσης.

Επιπρόσθετα όσον αφορά τις καμπύλες της αντίθεσης (Contrast) παρατηρούμε σημαντικές διαφοροποιήσεις στην περίπτωση του μελανώματος σε σχέση με τις



υπόλοιπες αλλοιώσεις. Πιο συγκεκριμένα, στην περίπτωση του κακοήθους όγκου η αρχική τιμή της αντίθεσης δεν επανέρχεται σε κανένα σημείο της φασματικής περιοχής στοιχείο που δεν συμβαίνει με τις υπόλοιπες αλλοιώσεις. Το γεγονός αυτό οφείλεται πιθανότατα στο μεγάλο βάθος που εκτείνεται η αλλοίωση στοιχείο που απεικονίζεται στις μεγάλες τιμές αντίθεσης που παρατηρούνται.

Όπως αναφέρθηκε στην διατριβή πραγματοποιήθηκε μελέτη για την εύρεση στοιχείων τα οποία θα μπορούσαν να κάνουν δυνατή την διάκριση μεταξύ μεικτών και δυσπλαστικών σπύλων. Οι δυσπλαστικοί σπίλοι αποτελούν πρόδρομο μελανώματος και ο έγκαιρος εντοπισμός τους και διαχωρισμός τους από τους υπόλοιπους σπίλους αποτελεί σημαντική διαγνωστική πληροφορία.

Παρατηρώντας τις καμπύλες ανάκλασης του δυσπλαστικού και του μεικτού σπίλου με μια πρώτη ματιά δεν εμφανίζονται σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Τα βιολογικά χαρακτηριστικά των δύο σπύλων παρουσιάζουν ομοιότητες μεταξύ τους και τα φάσματα ανάκλασης και αντίθεσης (Contrast) είναι δύσκολο να διακριθούν και εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα.

Αντίθετα παρατηρώντας τις απεικονίσεις (Εικόνα 41) μπορούμε να διακρίνουμε μια ανομοιομορφία στην δομή της αλλοίωσης στις διάφορες φασματικές περιοχές. Ενώ και οι δυο σπίλοι εμφανίζουν μελανίνη τόσο στο συνδεσμικό όσο και στο χοριακό στοιχείο, χαρακτηριστικό που δικαιολογεί την ιδιότητα τους να γίνονται «διαφανείς» σε μήκη κύματος μεγαλύτερα από 800nm, ο δυσπλαστικός σπίλος εμφανίζει στην περιοχή 600-700nm μια τάση διαφοροποίησης σε σχέση τον μεικτό σπίλο. Παρατηρούνται περιοχές όπου εμφανίζεται μεγαλύτερη συγκέντρωση μελανίνης και σε μεγαλύτερο βάθος ενώ και περιοχές με μικρούς κόκκους μελανίνης σε διάφορα στρώματα του δέρματος, χαρακτηριστικά που επιβεβαιώνονται θεωρητικά (Κεφάλαιο 2).

Στην συνέχεια (Εικόνες 44 ,45 και 46) μελετήθηκε η κατανομή της έντασης στην επιφάνεια μεικτού και δυσπλαστικού σπίλου και για μία περίπτωση κακοήθους όγκου. Από τις εικόνες φαίνεται ξεκάθαρα ότι στην περίπτωση του μεικτού σπίλου η κατανομή των εντάσεων στις εικόνες σε όλα τα μήκη κύματος που ελήφθησαν είναι ομοιόμορφη σε αντίθεση με τον δυσπλαστικό σπίλο όπου εμφανίζεται έντονη ανομοιομορφία σε όλη την επιφάνεια του σπίλου ακόμα και σε μεγάλα μήκη κύματος.

Αυτό οφείλεται και στην πιθανή παρουσία «φωλιών» παρουσία μελανίνης κατά μήκος του δυσπλαστικού σπίλου αλλά και στην ακανόνιστη δομή και αρχιτεκτονική που αυτοί παρουσιάζουν (Κεφάλαιο 2). Επιπρόσθετα τα παραπάνω χαρακτηριστικά που παρατηρούμε πιθανόν να οφείλονται και σε μια ενδεχόμενη περεταίρω δημιουργία μελανοκυττάρων σε ορισμένες περιοχές της αλλοίωσης, διαδικασία που εμφανίζεται σε πολλές δυσπλαστικές αλλοιώσεις.

Τέλος έπειτα από «σάρωση» της επιφάνειας των σπύλων (Εικόνες 47,48) (δυσπλαστικού και μεικτού) στο κοντινό υπέρυθρο, μπορούμε να εξάγουμε την ένταση σε κάθε εικονοστοιχείο της γραμμής, την μέση τιμή των εντάσεων κατά μήκος της γραμμής «σάρωσης», την μέση τιμή των εντάσεων καθώς και μια παράμετρος (Standart Deviation) μέσω της οποίας εκτιμάται η ανομοιομορφία που εμφανίζει η εκάστοτε επιλεχθείσα γραμμή.

Από τις παραπάνω εικόνες παρατηρούμε ότι ο δυσπλαστικός σπίλος παρουσιάζει μεγαλύτερη ανομοιομορφία στις τιμές των εντάσεων κάτι που απεικονίζεται και από τις τιμές του Standart deviation οι οποίες είναι μεγαλύτερες σε όλη την επιφάνεια της «σάρωσης». Το στοιχείο αυτό μπορεί να δικαιολογηθεί από την γνωστή από την βιβλιογραφία διαφοροποίηση που παρουσιάζουν οι δυσπλαστικοί σπίλοι σε σχέση με τους υπόλοιπους σπύλους.

Πέρα από την ανομοιομορφία, την ασυμμετρία και την μελανοκυτταρική υπερπλασία που παρουσιάζουν οι δυσπλαστικοί σπίλοι, πιθανολογείται χωρίς να είναι επιβεβαιωμένο, ότι τέτοιοι σπίλοι εμφανίζουν μελανίνη με διαφορετικές οπτικές ιδιότητες σε σχέση με τους υπόλοιπους σπύλους.

Συμπερασματικά διαπιστώνουμε ότι οι δυσπλαστικοί σπίλοι εμφανίζουν μια τάση διαφοροποίησης σε σχέση με τους μεικτούς σπύλους. Έτσι είναι επιτακτική η ανάγκη περαιτέρω μελέτης του φαινομένου με την διερεύνηση περισσότερων περιστατικών των δύο αυτών κατηγοριών αλλοιώσεων κάτι που θα μπορούσε να συνεισφέρει στην εξαγωγή ασφαλέστερων συμπερασμάτων.

## 6. Το ποντίκι σαν μοντέλο ανάπτυξης μελανώματος

### 6.1 Εισαγωγή

Πολλές ερευνητικές ομάδες θέλοντας να μελετήσουν τις αλλοιώσεις του δέρματος εξελικτικά, προσανατολίστηκαν στην χρήση πειραματικών μοντέλων, όπως το ποντίκι που είναι θηλαστικό με μεγάλη γενετική ομοιότητα με τον άνθρωπο. Καθώς οι δύο οργανισμοί είναι γνωστό ότι διαθέτουν και παρόμοιο ανοσοποιητικό σύστημα, αυτό καθιστά το ποντίκι ιδανικό πειραματικό οργανισμό στην αναπαραγωγή και χαρακτηρισμό της διαδικασίας ανάπτυξης ογκογένεσης και μελανωμάτων. Με αυτόν τον τρόπο δίνεται η δυνατότητα παρακολούθησης της εξέλιξης της ασθένειας από τα αρχικά στάδια δημιουργίας της, μέχρι την τελική φάση όπου γίνεται κακοήθης όγκος.

Οι Berkelhammer και συν. [31] μελέτησαν την δημιουργία καρκινικών ή προκαρκινικών αλλοιώσεων του δέρματος με την εφαρμογή του καρκινογόνου χημικού DMBA (7,12-dimethylbenz[a]anthracene) καθώς και ενός εκχυλίσματος που εμπεριέχει μείγμα εστέρων με δραστικότητα ως επαγωγέας κυτταρικής διαίρεσης (croton oil) σε εργαστηριακά ποντίκια C57BL/6. Στην συγκεκριμένη έρευνα εξετάστηκαν 70 ποντίκια εκ των οποίων τα 17 μετά την θεραπεία με τα προαναφερθέντα χημικά εμφάνισαν κακοήθεις όγκους. Η εφαρμογή του croton oil πραγματοποιήθηκε σε εβδομαδιαία βάση και το διάστημα που απαιτήθηκε για την εμφάνιση κακοήθων όγκων ήταν 11 μήνες.

Παράλληλα με την εμφάνιση μελανωμάτων στα ζώα αναπτύχθηκαν και άλλες αλλοιώσεις του δέρματος όπως μεικτοί και δυσπλαστικοί σπίλοι στοιχείο ιδιαίτερα σημαντικό καθώς μπορούν να ερευνηθούν οι αλλοιώσεις συνολικά και να εξαχθούν συμπεράσματα όσον αφορά τις διαφορές στην ανάπτυξη τους.

Στην συνέχεια Junko S. Suzuki και συν [35], επιχείρησαν να ερμηνεύσουν τον ρόλο που διαδραματίζει η πρωτεΐνη μεταλλοθειονίνη (MT) στην καρκινογένεση. Για τον σκοπό αυτό μελέτησαν την δράση της χημικού DMBA σε συνδυασμό κατάλληλο μείγμα εστέρων (TPA) ώστε να επιτευχθεί κυτταρική διαίρεση, όχι μόνο σε απλά εργαστηριακά ποντίκια (wild type) αλλά και σε γενετικά τροποποιημένα ποντίκια απουσία της πρωτεΐνης μεταλλοθειονίνης (MT-null). Η χορήγηση του (TPA) γινόταν εβδομαδιαία σε διάρκεια 20 εβδομάδων. Μετά τις 20 εβδομάδες το σύνολο

των γενετικά τροποποιημένων ποντικών παρουσίασαν δερματικές αλλοιώσεις σε αντίθεση με τα wild type ποντίκια τα οποία παρουσίασαν αλλοιώσεις μόνο σε ποσοστό 10-40%. Η συγκεκριμένη έρευνα αποδεικνύει ότι η πρωτεΐνη mettalothionein δρα αποτρεπτικά στην δημιουργία όγκων τόσο σε αρχικά όσο και σε επόμενα στάδια.

Διάφορες ερευνητικές ομάδες (*Eva Gonzales-Suares και συν [34]*) και (*BaiY. Και συν [32]*) τα τελευταία χρόνια προσπάθησαν με την χορήγηση διάφορων χημικών ουσιών να προκαλέσουν δερματικές αλλοιώσεις σε ποντίκια είτε wild type είτε με διαφορετικές γενετικές μεταλλάξεις. Σκοπός των ερευνών ήταν να μελετηθεί η διαδικασία που ακολουθείται κατά την διάρκεια της δημιουργίας μιας αλλοίωσης καθώς και η επίδραση κάποιων πρωτεϊνών στην δημιουργία αλλοιώσεων στο δέρμα.

Η επαγωγή χημικής καρκινογένεσης στο ποντίκι είναι πλέον καθιερωμένο πρωτόκολλο για τον χαρακτηρισμό των μοριακών διαδικασιών που συμμετέχουν σε αυτή. Στη βιομηχανία χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση προστατευτικών ουσιών με αντικαρκινική δράση.

## **6.2 Φασματική απεικόνιση σε ποντίκια**

### **6.2.1 Μεθοδολογία-Μετρήσεις**

Η χρησιμοποίηση των ποντικών σαν ένα μοντέλο ανάπτυξης αλλοιώσεων του δέρματος παρουσίασε όπως αναφέραμε στην προηγούμενη παράγραφο ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Στην παρούσα διατριβή περιγράφεται η επιτυχής εφαρμογή του πρωτοκόλλου χημικής καρκινογένεσης στο δέρμα ποντικών, και η χρήση των πειραματόζωων για την μελέτη των αλλαγών που παρατηρούνται στο δερματικό ιστό και την εξέλιξη αυτών στο χρόνο με την μέθοδο της φασματικής απεικόνισης. Σκοπός του εγχειρήματος ήταν να μελετήσουμε μέσω ενός νέου συστήματος φασματικής απεικόνισης (Κεφάλαιο 4) τα χαρακτηριστικά, οπτικά και φασματικά, των αλλοιώσεων που προέκυψαν εξελικτικά. Έτσι δίδεται η δυνατότητα παρακολούθησης μιας αλλοίωσης από τα αρχικά στάδια δημιουργίας της, μέχρι το τελική της κατάληξη.

Σε συνεργασία με το Μεσογειακό Αγρονομικό Ινστιτούτο Χανίων (ΜΑΙΧ) και τους εκεί καθηγητές Μακρή Αντώνιο και Καμπράνη Σωτήριο καθώς και με την Ιατρική Σχολή Ηρακλείου και τον Χρήστο Τσατσάνη τέθηκαν στην διάθεση μας 25

εργαστηριακά ποντίκια C57BL. Τα ζώα ήταν διαφορετικών κατηγοριών. Υπήρχαν αρσενικά και θηλυκά wild type αλλά και ποντίκια τα οποία είχαν δεχτεί μετάλλαξη (αδρανοποίηση και στα δύο αλληλόμορφα) στο γονίδιο Trp-2 (-/-) (μία κινάση σερίνης θρεονίνης, πρωτεΐνη που εμπλέκεται στην καρκινογένεση και στη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος).

Στο σύνολο των ζώων εφαρμόστηκε DMBA σε συνδυασμό με ένα φυσικό εκχύλισμα που περιέχει μείγμα εστέρων και που δρα ως παράγοντας κυτταρικής διαίρεσης (croton oil). Η χορήγηση του DMBA έγινε αρχικά σε μία δόση ενώ ανά 15 μέρες πραγματοποιούνταν επάλειψη με croton oil, στην ίδια περιοχή όπου είχε εναποτεθεί το DMBA, που είχε ως στόχο την περαιτέρω διαίρεση των κυττάρων.

Συγκεκριμένα σε 25 ποντίκια C57BL/6 και Trp-2 -/- 2-6 ημερών χορηγείται 50μl από 0,4% DMBA σε επιλεγμένη περιοχή στην ξυρισμένη πλάτη. Μία εβδομάδα αργότερα 25μl από 2,5% croton oil εφαρμόζεται στην ίδια περιοχή επαγωγής. Η διαδικασία εφαρμογής croton oil συνεχίστηκε κάθε 15 μέρες από την πρώτη εφαρμογή του. Πρέπει να σημειωθεί ότι για την καλύτερη εφαρμογή του croton oil στα ζώα μετά το πέρας του πρώτου μήνα ζωής τους, ξυρίζονταν η περιοχή της επάλειψης, διαδικασία που ακολουθήθηκε μέχρι την δωδέκατη εβδομάδα εφαρμογής της. Τα ζώα παρατηρήθηκαν μέσω απεικονιστικού συστήματος (Κεφάλαιο 5) έτσι ώστε να εξαχθούν συμπεράσματα όσον αφορά την εξέλιξη τους μετά την εφαρμογή των παραπάνω χημικών.

### 6.2.2 Αποτελέσματα

Ένα μήνα μετά από την χορήγηση των χημικών παρατηρήθηκε στην περιοχή της επάλειψης η δημιουργία ομοιόμορφων συμπαγών αλλοιώσεων στο δέρμα των ζώων. Η ύπαρξη του στρώματος δεν επέτρεπε την περεταίρω έρευνα της αλλοίωσης και την εξαγωγή συμπερασμάτων.

Με την πάροδο 3 μηνών από την έναρξη των πειραμάτων παρατηρήθηκε μια σταδιακή υποχώρηση του στρώματος που είχε δημιουργηθεί, ενώ παράλληλα οι αλλοιώσεις άρχισαν να σχηματοποιούνται. (Εικόνες 53,54,55).



Εικόνα 53.RGB απεικόνιση αρσενικού  $Trp-2^{+/+}$  (wild type) μυός

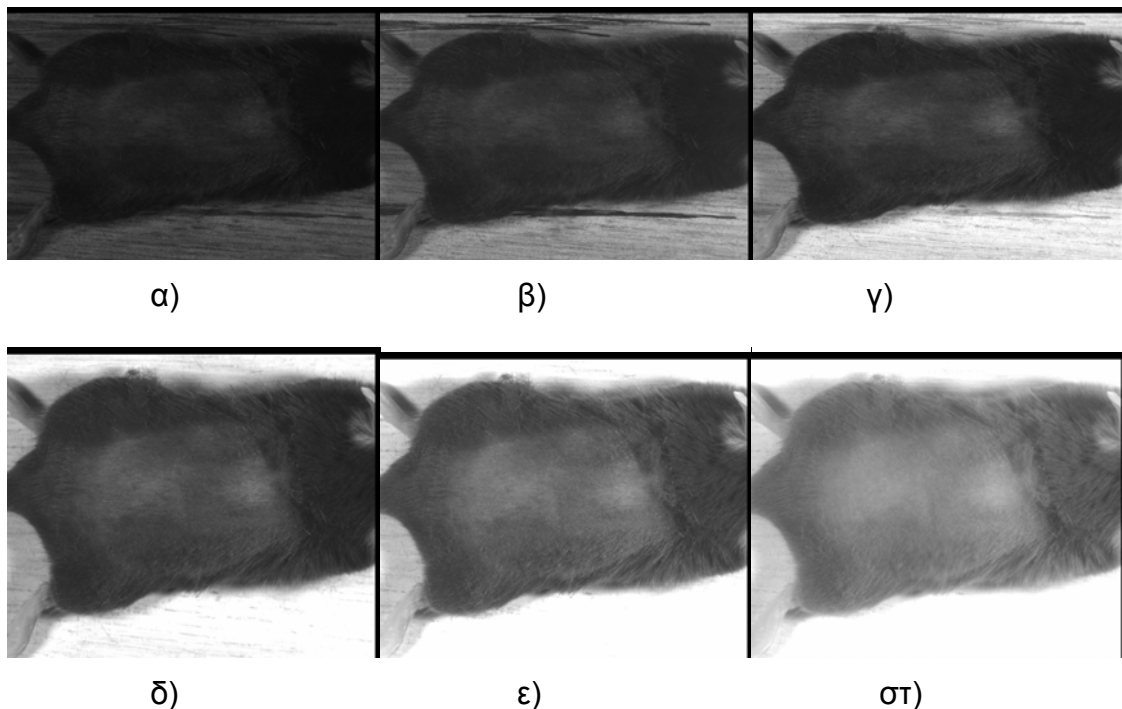


Εικόνα 54.RGB απεικόνιση αρσενικού γενετικά τροποποιημένου  $Trp-2^{-/-}$  μυός



Εικόνα 55. RGB απεικόνιση θηλυκού γενετικά τροποποιημένου *Tlr-2*<sup>-/-</sup> μύος

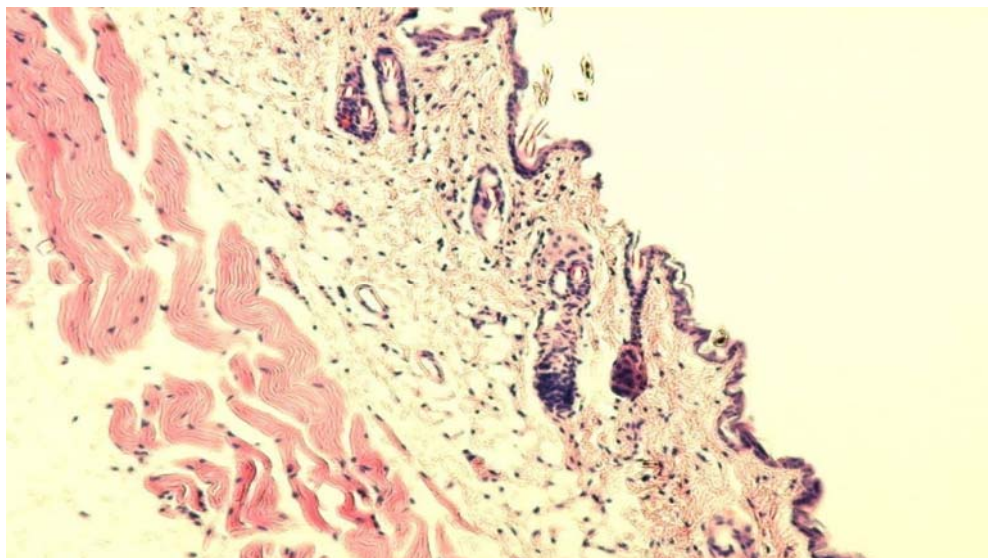
Στην Εικόνα 56 αναπαρίσταται η περιοχή εφαρμογής του συνδυασμού χημικών που χρησιμοποιήσαμε, σε διαφορετικά μήκη κύματος. Παρατηρούμε ότι η μεγαλύτερη περιοχή της αλλοίωσης γίνεται «διαφανής» με περιοχές μεγάλων μηκών κύματος. Υπάρχουν περιοχές όμως οι οποίες ακόμα και στα 1000nm διακρίνονται από τις υπόλοιπες, στοιχείο που υποδηλώνει την ύπαρξη μελανίνης ή άλλων χρωμοφώρων σε βαθύτερα στρώματα του δέρματος (πιθανή εμφάνιση μελανώματος).



Εικόνα 56. Απεικονίσεις από θηλυκό γενετικά τροποποιημένο *Tlr-2*<sup>-/-</sup> ποντίκι σε μήκη κύματος: α)500nm,β)600nm,γ) 700nm,δ)800nm, ε)900nm, στ)1000nm



Με την πάροδο 3 μηνών θυσιάστηκε ένα ζώο το οποίο στάλθηκε για βιοψία (Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου) έτσι ώστε να παρατηρηθούν τα ιστολογικά του χαρακτηριστικά και να αξιολογηθεί η επιτυχία της χημικής καρκινογένεσης.



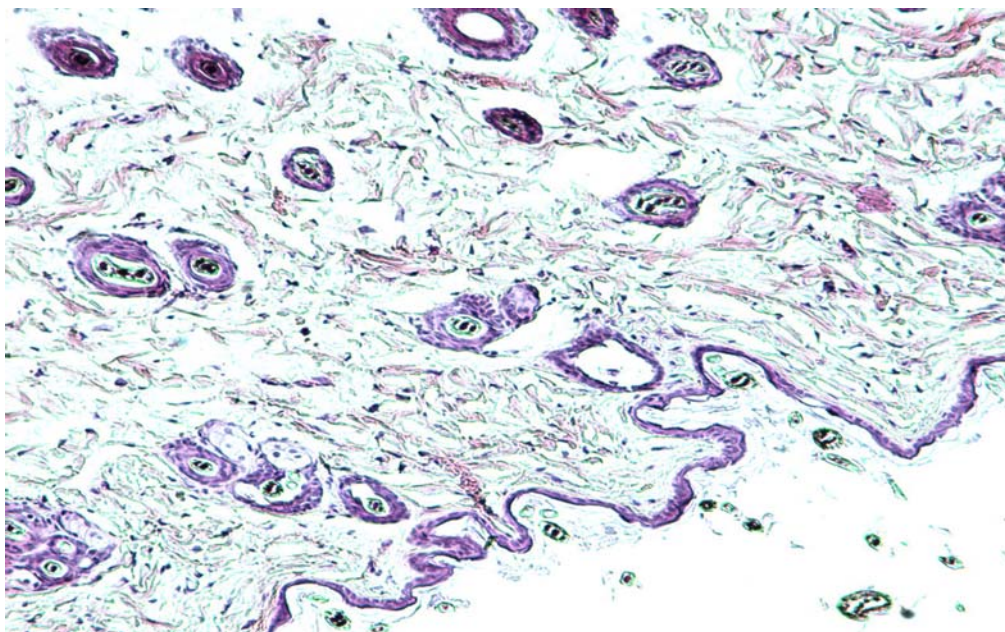
*Εικόνα 57. Εγκάρσια τομή δέρματος θηλυκού Trp-2-/- μύος*

Στην Εικόνα 57 απεικονίζεται η εγκάρσια τομή δέρματος θηλυκού μύος με γενότυπο Trp-2-/- .Στον ιστό εμφανίζονται αρχικά στάδια δημιουργίας μελανωτικών σπύλων. Το στοιχείο αυτό επιβεβαίωσε την μας αρχική εκτίμηση.

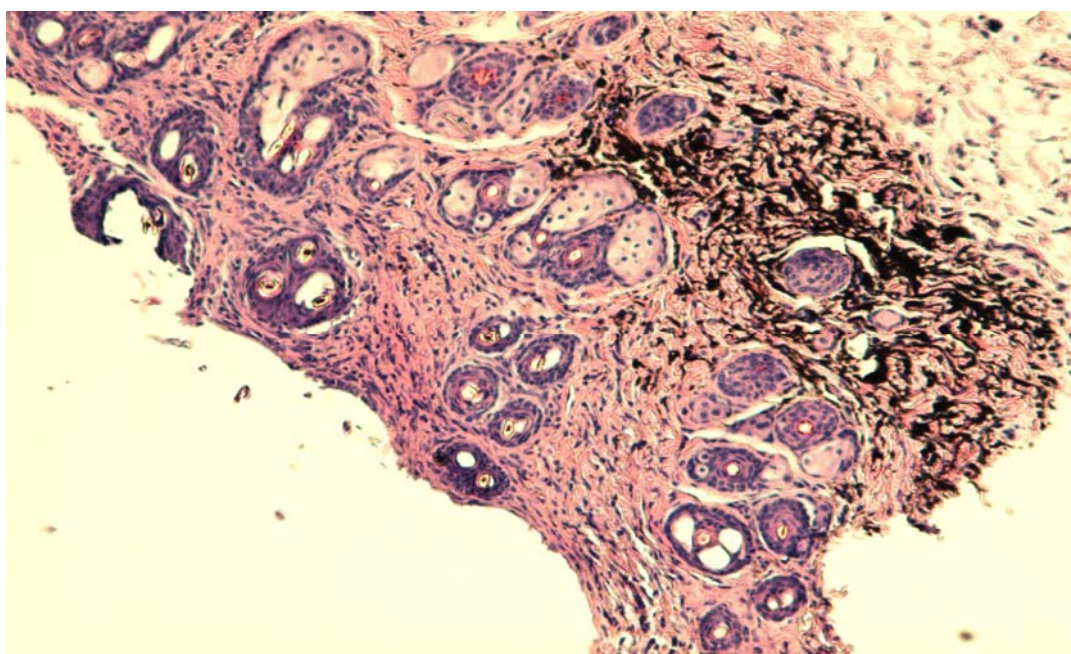
Στην συνέχεια παρατηρήθηκε ότι με την πάροδο του χρόνου η περιοχή της επάλειψης όπου είχε σχηματιστεί η συμπαγής αλλοίωση χωρίζονταν σε επιμέρους μελαγχρωματικούς όγκους , στοιχείο που πιθανολογούσε τον σχηματισμό σπύλων και προκαρκινικών όγκων.

Με σκοπό να εξεταστεί η πορεία της διαδικασίας που ακολουθήθηκε θυσιάστηκαν ακόμα 3 ζώα διαφορετικών ηλικιών τα οποία στάλθηκαν επίσης για ιστολογικές εξετάσεις. Στις Εικόνες 58,59,60 παρατίθενται χρώσεις από εγκάρσιες τομές δέρματος των ζώων.

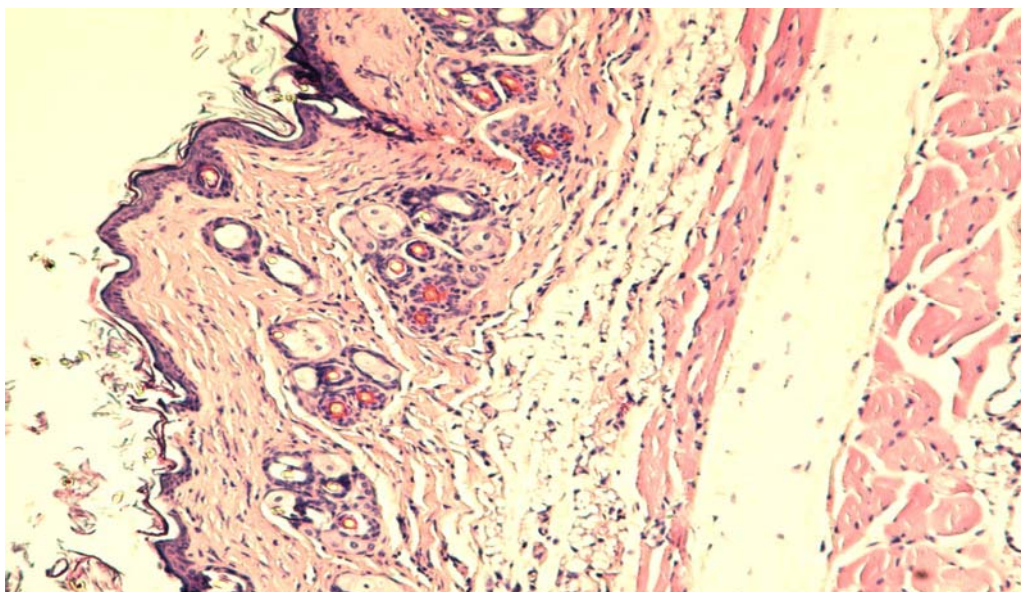




Εικόνα 58. Εγκάρσια τομή δέρματος αρσενικού μυός με γενότυπο *Trp1-2/-* ηλικίας 5 μηνών. Στον ιστό απεικονίζεται καθαρά η δημιουργία μελανωτικών σπίλων.



Εικόνα 59. Εγκάρσια τομή δέρματος θηλυκού μυός με γενότυπο *Trp1-2/-* ηλικίας 6 μηνών. Στον ιστό απεικονίζεται καθαρά η δημιουργία μελανωτικών σπίλων ενώ παράλληλα παρατηρείται η εναπόθεση μελανίνης στους γειτονικούς ιστούς .



*Εικόνα 60. Εγκάρσια τομή δέρματος θηλυκού μυός με γενότυπο Trp-2+/+(wild type) ηλικίας 6 μηνών. Στον ιστό απεικονίζεται δημιουργία μελανωτικών σπύλων με πιο ήπια χαρακτηριστικά σε σχέση με τα προηγούμενα ζώα.*

Από τα παραπάνω συμπεραίνουμε ότι με την πάροδο του χρόνου αυξάνεται η δημιουργία σπύλων στους μύες διαφόρων κατηγοριών. Παρατηρούμε ότι στα γενετικά τροποποιημένα ζώα η εμφάνιση των αλλοιώσεων γίνεται περισσότερο διακριτή ενώ παράλληλα παρατηρείται διείσδυση μελανίνης σε όλα τα στρώματα του δέρματος. Το στοιχείο αυτό δικαιολογείται καθώς η αδρανοποίηση του γονιδίου Trp-2 οδηγεί σε απορρύθμιση το ανοσολογικό σύστημα και την μείωση ελέγχου του οργανισμού απέναντι σε αλλοιωμένα και επικίνδυνα καρκινικά κύτταρα.

Επιπρόσθετα η γνωμάτευση των παθολογοανατόμων (Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου) για τους παραπάνω ιστούς επιβεβαίωσε τις πρωταρχικές παρατηρήσεις καθώς αναφέρθηκε ότι οι υπό εξέταση ιστοί εμφάνισαν καρκινικές αλλοιώσεις στα βαθύτερα στρώματα του δέρματος. Παράλληλα εντοπίστηκε μεγάλος αριθμός σπύλων διαφόρων κατηγοριών (μεικτοί, δυσπλαστικοί, χοριακοί) οι οποίοι αναπτύχθηκαν στην περιοχή όπου χορηγήθηκε ο συνδυασμός των χημικών που χρησιμοποιήθηκαν. Ιδιαίτερα σημαντικό είναι ακόμα το στοιχείο ότι σε ένα από τα γενετικά τροποποιημένα ζώα παρατηρήθηκε μετάσταση των καρκινικών κυττάρων στην σπλήνα του ζώου. Αυτό από την βιοιατρική πλευρά θεωρείται ιδιαίτερα ενδιαφέρον καθώς μόνο μία περίπτωση έχει αναφερθεί στη διεθνή βιβλιογραφία όπου τα μελανώματα αυτά αποκτούν μεταστατικό χαρακτήρα

Η έρευνα με το συγκεκριμένο μοντέλο συνεχίζεται και ασφαλέστερα συμπεράσματα για την διαγνωστική αξία που μπορεί να έχει θα υπάρξουν μετά το πέρας 10 μηνών από την γέννηση των ζώων και την χορήγηση των κατάλληλων χημικών, που θεωρείται και η κρίσιμη χρονικά περίοδος εμφάνισης εξωτερικών εμφανών αλλοιώσεων. Στην συγκεκριμένη διατριβή παρουσιάστηκαν τα πρώτα αποτελέσματα της έρευνας τα οποία καταδεικνύουν την ανάγκη συνέχισης των πειραμάτων. Η δυνατότητα παρατήρησης πειραματικών μελανωμάτων θα μας επιτρέψει στο μέλλον να βελτιώσουμε τις εφαρμογές οπτικής απεικόνισης και να αναπτύξουμε νέες εναλλακτικές πιο ευαίσθητες μεθοδολογίες

## 7. Αναφορές

- [1] Σύγχρονη γενική χειρουργική, Κεφ. 24, Δ. Α. Τσιφτσής
- [2] Atlas of Tumor Pathology. Melanocytic Tumors of the Skin, D. Elder, G. Murphy
- [3] Jane L. Rozycki, MD, and Terry L. Barrett, MD, The Dysplastic Nevus. Curr Probl Dermatol, September/October 2003
- [4] Jimbow K, Roth SI, Fitzpatrick TB, Szabo G, Mitotic activity in non-neoplastic melanocytes in vivo as determined by histochemical, autoradiographic, and electron microscopic studies, J. Cell Biol. 1975; 66: 663-70
- [5] Lindstrom D, Rosfahl I, Mutual repulsion between epidermal melanocytes. In: Seiji M, ed. Pigment cell (1981). Phenotypic expression in pigment cells. Tokyo: University of Tokyo Press, 1981: 225-31
- [6] Valyi – 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
- [7] Alfano RR, Tang GC, Prandhan A, Lam W, Choy DSJ, Opher E (1987), Fluorescence spectra from cancerous and normal breast and lung tissues. IEEE J Quant Electr 23:1806-1811
- [8] Anderson Engels S, Klinteberg C, Svanberg K, Svanberg S (1997): In vivo fluorescence imaging for tissue diagnostic. Phys Med Biol 42:815-824
- [9] Anderson R and Parrish J (1981). The optics of human skin J. Invest. Dermatol. 77 13–19
- [10] Atmazoglou B, Giova D, and Ouzounoglou (2001): Development of spectral imaging fluorescence techniques for cancer detection
- [11] C. Balas, G. Themelis, A. Papadakis, E. Vasgiouraki, A. Argyros, E. Koumantakis, A. Tosca, E. Helidonis. A Novel Hyper-Spectral Imaging System: Application on in-vivo Detection and Grading of Cervical Precancers and of Pigmented Skin Lesions.

- [12] Balas C (2001): A Novel Optical Imaging Method for the Early Detection, Quantitative Grading, and Mapping of Cancerous and Precancerous Lesions of Cervix. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, VOL. 48, NO. 1,
- [13] Barlow R J (1987) *Statistics—A Guide to the Use of Statistical Methods in the Physical Sciences* (Chichester: Wiley)
- [14] Hanley J A and McNeil B J (1982). The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve *Radiology* 143 29–36
- [15] Kleinbaum D G, Kupper L and Muller K E (1988). *Applied Regression Analysis and Other Multivariable Method* (Boston, MA: PWS-Kent)
- [16] Marchesini R, Tomatis S, Bartoli C, Bono A, Clemente C, Cupeta C, Del Prato I, Pignoli E, Sichirollo A E and Cascinelli N. (1995). In vivo spectrophotometric evaluation of neoplastic and non-neoplastic skin pigmented lesions. III. CCD camera-based reflectance imaging *Photochem. Photobiol.* 62 151–4
- [17] Marshall R J (1976). Infrared and ultraviolet photography in a study of the selective absorption of radiation by pigmented lesions of skin *Med. Biol. Illust.* 26 71–84
- [18] Miller M and Ackermann A B (1992). How accurate are dermatologists in the diagnosis of melanoma? Degree of accuracy and implications *Arch Dermatol.* 128 559–60
- [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] Srivastava A, Hughes L, E. Woodcock J P and Shedden E J (1986). The significance of blood flow in cutaneous melanoma demonstrated by Doppler flowmetry *Eur. J. Surg. Oncol.* 12 13–18
- [21] Takahashi H, Horikoshi T and Jimbow K (1985). Fine structural characterization of melanosomes in dysplastic nevi *Cancer* 56 111–23
- [22] W. S. Glassman, C. H. Liu, G. C. Tang, S. Lubicz, and R. R. Alfano, Ultraviolet excited fluorescence spectra from nonmalignant and malignant tissues of the gynecological tract. *Lasers Life Sci*, vol. 5, pp. 49–58, (1992).



- [23] N. Ramanujam, M. F. Mitchell, A. Mahadevan-Jansen, S. Thomsen, G. Staerckel, A. Malpica, T. Wright, N. Atkison, and R. R. Richards-Kortum, (1996). Cervical precancer detection using a multivariate statistical algorithm based on laser-induced fluorescence spectra at multiple excitation wavelengths, *Photochem. Photobiol.* vol. 64, no. 4, pp. 720–735,
- [24] M. Moncrief, S. Cotton, E. Claridges and P. Hall. Spectrophotometric intracutaneous analysis: a new technique for imaging pigmented skin lesions. *British Journal of Dermatology* (2002); 146: 448–457.
- [25] Daniel L. Farkas and Dorothea Becker: Review: Innovative Technology Applications of Spectral Imaging: Detection and Analysis of Human Melanoma and Its Precursors. Copyright © Pigment Cell Res (2001)
- [26] 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
- [27] D. Gutkowitz-Krusin, M. Elbaum, A. Jacobs, S. Keem, A. W. Kopf, H. Kamino, S. Wang, P. Rubin, H. Rabinovitz and M. Oliviero (2000). Precision of automatic measurements of pigmented skin lesion parameters with a MelaFind TM multispectral digital dermoscope.
- [28] V P Wallace, D C Crawford, P S Mortimer, R J Ott and J C Bamber Spectrophotometric assessment of pigmented skin lesions: methods and feature selection for evaluation of diagnostic performance. *Phys. Med. Biol.* 45 (2000) 735–751. Printed in the UK
- [29] Stefano Tomatis, Cesare Bartoli, Aldo Bono, Natale Cascinelli <sup>\*I</sup>, Claudio Clemente c.2, and Renato Marchesini a. Spectrophotometric imaging of cutaneous pigmented lesions: discriminant analysis, optical properties and histological characteristics. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 42 (1998) 32-39
- [30] B Farina, C Bartoli, A Bono, A Colombo, M Lualdi, G Tragni and R Marchesini Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori, Milan, Italy. Multispectral imaging approach in the diagnosis of cutaneous melanoma:

potentiality and limits. *Phys. Med. Biol.* 45 (2000) 1243–1254. Printed in the UK

- [31] Berkelhammer, J and R, W. Oxenhandler, (1987). Evaluation of premalignant and malignant lesions during the induction of mouse melanomas. *Cancer Res.* 47:1251-4
- [32] Bai Y, Edamatsu H, Maeda S, Saito H, Suzuki N, Satoh T, Kataoka T. Crucial role of phospholipase Cepsilon in chemical carcinogen-induced skin tumor development. *Cancer Res.* (2004).
- [33] Castelli, C, L Rivoltini, G.Andreola, M. Carrabba, N Renkvist and G. Parmiani (2000). T-cell recognition of melanoma-associated antigens. *J Cell Physiol.* 182:323-31
- [34] Eva Gonzalez Suarez, Enrique Samper, Juana M. Flores & María A. Blasco. Telomerase-deficient mice with short telomeres are resistant to skin tumorigenesis (2000) Nature America Inc
- [35] Junko S.Suzuki, Noriko Nishimura, Baoxu Zhang,Yoko Nakatsuru, Shizuko Kobayashi, Masahiko Satoh and Chiharu Tohyama. Metallothionein deficiency enhances skin carcinogenesis induced by 7,12-dimethylbenz[a]anthracene and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in metallothionein-null mice. *Carcinogenesis* vol.24 (2003)
- [36] Dimitru C.D, J.D Ceci, C. Tsatsanis, D Kontogiannis, K. Stamatakis, J.H Lin, C Patriotis, N.A Jenkins, N.G Copeland, G. Kollias, and P.N. Tschlis (2000). TNF-alpha induction by LPS is regulated transcriptionally via a Tpl2/ERK-dependent pathway. *Cell*: 103:1071-83
- [37] Ma,W.,C.Germeau, N. Vingneron, A.S Maernoudt, S.Morel, T.Boon, P.G Coulie,and B.J Van den Eynde (2004). Two new tumor-specific antigenic peptides encoded by gene MAGE-C2 and presented to cytolytic T-lymphocytes by HLA-A2. *Int J Cancer.* 109:698-702
- [38] Stefanaki, I.M, AD.Tosca, G.C Themelis, E.M.Vanziouraki, D.N Dokianakis, J.G Panayiotidis, D.A. Spandidos, and C.J.Balas (2001) In vivo detection of human papilloma virus-induced lesions of anogenital area after application of

acetic acid: a novel and accurate approach to a trivial method". J Photochem Photobiol B. 65:115-21

- [39] Van den Eynde, B.P Hainaut, M Herin, A.Knuth, C Lemoine, P Weynants, P.van der Bruggen, R. Fauchet, and T.Boon (1989). Presence on a human melanoma of multiple antigens recognized by autologous CTL. Int J Cancer. 44:634-40