

ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ & ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ



Υπερφασματική Απεικόνιση για την Χαρτογράφηση Χρωμοφόρων του Δέρματος

από την

Νικολέττα Τόντου

Διπλωματική Εργασία

Εκπόνηση διπλωματικής εργασίας απαραίτητη για την λήψη του διπλώματος του
Ηλεκτρολόγου Μηχανικού & Μηχανικού Υπολογιστών

Εξεταστική Επιτροπή

Κώστας Μπάλας, Επιβλέπων Καθηγητής

Μιχάλης Ζερβάκης, Καθηγητής

Κώστας Καλαϊτζάκης, Καθηγητής

Χανιά, Ιούνιος 2019

Περίληψη

Η υπερφασματική απεικόνιση είναι μια μη-επεμβατική τεχνική, η οποία συνδυάζει την συμβατική απεικόνιση με την φασματοσκοπία, δίνοντας τόσο χωρικές όσο και φασματικές πληροφορίες για το εκάστοτε εξεταζόμενο δείγμα. Στην δερματολογία, οι πληροφορίες της υπερφασματικής απεικόνισης προέρχονται από την αλληλεπίδραση του φωτός με το δέρμα. Συγκεκριμένα, η ακτινοβολία που αντανακλά το δέρμα καθορίζεται κυρίως από τις χρωμοφόρες, οι οποίες αποτελούν τους βασικούς απορροφητές, σκεδαστές και φθοριστές του δέρματος. Αυτή η πληροφορία, που καθορίζεται από τις χρωμοφόρες του δέρματος, μπορεί με την κατάλληλη επεξεργασία να δώσει αποτελέσματα για την κατάσταση του δέρματος, για ανωμαλίες ή για ασθένειες. Με τη χρήση της βιοψίας σε κακοήθειες, όπως είναι οι κακοήθειες δυσπλαστικοί σπίλοι, μπορεί να προκληθούν ανωμαλίες κατά την αφαίρεση του δείγματος είτε στο υπό εξέταση δείγμα είτε στον ιστό γύρω από αυτό. Όμως, με την υπερφασματική απεικόνιση διεξάγουμε οπτική βιοψία, βάσει της οποίας θα προσπαθήσουμε με την χρήση διάφορων αλγορίθμων επεξεργασίας του υπερφασματικού κύβου να βγάλουμε συμπεράσματα για την ποσότητα των χρωμοφώρων, την φυσιολογία του δέρματος και τις κυτταρικές διαφοροποιήσεις που τυχόν έχουν προκύψει. Με την εφαρμογή της υπερφασματικής απεικόνισης στο δέρμα αυξάνονται οι πιθανότητες σωστής διάγνωσης ή ακόμα και πρόληψης μιας κακοήθειας από τον θεραπευτή. Σκοπός, λοιπόν, είναι η βέλτιστη και έγκυρη διάγνωση δερματοπαθειών, χωρίς επεμβατικές τεχνικές. Σημαντικός είναι ο ρόλος της χαρτογράφησης, με την οποία αποδίδουμε στα αποτελέσματα των αλγορίθμων χρώματα, βάσει ενός χρωματικού κώδικα, ανάλογα με τις τιμές των εικονοστοιχείων της εικόνας. Η επεξεργασία αυτή καθιστά τα αποτελέσματα πιο ευδιάκριτα, μειώνοντας τις πιθανότητες λάθους από τον εξεταστή, ενώ ταυτόχρονα φαίνονται ευκρινέστερες οι διακυμάνσεις των τιμών στα αποτελέσματα.

Ευχαριστίες

Είναι σημαντικό για μένα να αφιερώσω δύο λόγια σε όλους όσους με βοήθησαν άμεσα ή έμμεσα στην ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας.

Πρώτα από όλα, θέλω να ευχαριστήσω τον καθηγητή και επιβλέποντά μου Κωνσταντίνο Μπάλα, που μου έδωσε την ευκαιρία να γνωρίσω έναν μοναδικό κόσμο, αυτόν της βιοϊατρικής τεχνολογίας. Με βοήθησε να ολοκληρώσω τις σπουδές μου, ενώ παράλληλα έμαθα πως να ερευνώ την υπάρχουσα γνώση, να την συλλέγω επιλεκτικά και να την εφαρμόζω προς αναζήτηση νέων οριζώντων. Ισορροπώντας στις αιχμές των επιστημών της ιατρικής και της τεχνολογίας, μου φανερώθηκε πόσο πολύτιμη μπορεί να είναι η επιστήμη του μηχανικού στην ανάπτυξη και εξέλιξη της επιστήμης αλλά και της ίδιας της κοινωνίας.

Εκτός από τον επιβλέποντα καθηγητή μου, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπόλοιπη τριμελή επιτροπή μου: τον καθηγητή Μιχάλη Ζερβάκη και τον καθηγητή Κωνσταντίνο Καλαϊτζάκη για τις γνώσεις και την έμπνευση που μου δημιούργησαν μέσα από την διδασκαλία τους στους τομείς της ψηφιακής επεξεργασίας σήματος κι εικόνας, στον τομέα των ηλεκτρικών κυκλωμάτων και των ηλεκτρικών μετρήσεων αισθητήρων, αλλά και στον τομέα της μηχανικής όρασης, απαραίτητοι για την εκπόνηση της διπλωματικής εργασίας.

Δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω όλη την ομάδα του εργαστηρίου Οπτοηλεκτρονικής. Ιδιαίτερα να ευχαριστήσω τον Αθανάσιο Τσάπρα (Υποψήφιος Διδάκτορας) για την καθοδήγηση της διπλωματικής μου, αλλά και τους Χρήστο Ρώσσο (Υποψήφιος Διδάκτορας) και Αναστάσιο Χατζηγιάννου (Μεταπτυχιακός Φοιτητής) για τις ανιδιοτελείς συμβουλές και την ανταλλαγή ιδεών.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς τους δικούς μου ανθρώπους που με στήριξαν σε όλη την διάρκεια της διπλωματικής μου αλλά και των σπουδών μου. Στην οικογένειά μου, στην μητέρα μου Ειρήνη, στις αδερφές μου Ροδάνθη και Εύα, στην θεία μου Μαρία και στην γιαγιά μου Ευαγγελία, που με την αγάπη τους μετατρέπουν την οικογένεια σε ένα λιμάνι-βάση που πάντα θα γυρνάω ό,τι κι αν συμβεί. Στον Θοδωρή που ήταν ένας ακλόνητος πυλώνας ψυχικής στήριξης σε πολύ δύσκολες στιγμές και αναμφίβολα πηγή έμπνευσης. Στην Ναυσικά που ήταν πάντα διατεθειμένη να δώσει τις πολύτιμες συμβουλές της. Στην Κατερίνα που με βοήθησε να πατήσω στα πόδια μου.

Στην μνήμη του πατέρα μου...

Περιεχόμενα

Περίληψη	i
Ευχαριστίες	ii
Κατάλογος σχημάτων	v
1 Εισαγωγή	1
1.1 Εισαγωγή	1
1.2 Δομή εργασίας	1
2 Δέρμα	3
2.1 Η δομή του δέρματος	4
2.1.1 Επιδερμίδα	4
2.1.2 Χόριο	6
2.1.3 Υποδόριος Ιστός	7
2.2 Χρωμοφόρες του δέρματος	8
2.2.1 Μελανίνη	8
2.2.2 Αιμοσφαιρίνη	10
2.3 Φως και δέρμα	12
2.3.1 Σκέδαση	14
2.3.2 Απορρόφηση του φωτός	15
2.4 Σπίλοι	18
2.4.1 Μελάνωμα	18
2.4.2 Δυσπλαστικοί σπίλοι	20
2.4.3 Συνδεσμικοί σπίλοι	21
2.4.4 Μικτοί σπίλοι	21
3 Συστήματα Υπερφασματικής Απεικόνισης	23
3.1 Φασματοσκοπία	23
3.2 Ηλεκτρομαγνητικό Φάσμα	24
3.2.1 Φάσμα Ορατού Φωτός	26
3.2.2 Φάσμα Υπέρυθρου Φωτός	27
3.3 Υπερφασματικοί Κύβλοι	28
3.4 Φασματόμετρο	29

4	Αλγόριθμοι	31
4.1	Jennifer Wagner	37
4.1.1	Υπολογισμός melanin index (Mindex)	37
4.1.2	Αποτελέσματα αλγοριθμικής επεξεργασίας για την εύρεση του Mindex υπερφασματικών κύβων 18 σπύλων	38
4.1.3	Υπολογισμός erythema index (Eindex)	45
4.1.4	Αποτελέσματα αλγοριθμικής επεξεργασίας για την εύρεση του Eindex υπερφασματικών κύβων 18 σπύλων	45
4.1.5	Αποτελέσματα αλγοριθμικής επεξεργασίας για την εύρεση του Eindex υπερφασματικών κύβων δαχτύλων χεριών με ελεύθερη και περιορισμένη ροή αίματος	52
4.2	Melanoma - Nevus differentiation	53
4.2.1	Υπολογισμός οπτικής πυκνότητας	53
4.2.2	Αποτελέσματα αλγοριθμικής επεξεργασίας για την εύρεση της παραμέτρου διαφοροποίησης της οπτικής πυκνότητας υπερφασματικών κύβων 18 σπύλων	54
4.3	Shimada - Yamada	60
4.3.1	Υπολογισμός πολυεπίπεδου φάσματος απορρόφησης	60
4.3.2	Αποτελέσματα αλγοριθμικής επεξεργασίας για την εύρεση πολυεπίπεδου φάσματος απορρόφησης υπερφασματικών κύβων 18 σπύλων	62
5	Προτάσεις για περαιτέρω έρευνα	69
	Βιβλιογραφία	71

Κατάλογος σχημάτων

2.1	Η δομή του δέρματος	4
2.2	Στιβάδες της επιδερμίδας	5
2.3	Το χόριο	6
2.4	Ο υποδόριος ιστός	7
2.5	Χρωμοφόρες του δέρματος	8
2.6	Ανάπτυξη μελανοσωμάτων εντός των μελανοκυττάρων	9
2.7	Φάσμα απορρόφησης βασικών χρωμοφόρων	10
2.8	Φάσμα απορρόφησης του φωτός από την οξυγονωμένη (ενιαία γραμμή) και από την μη-οξυγονωμένη (διακεκομμένη γραμμή) αιμοσφαιρίνη	11
2.9	Σχηματική αναπαράσταση του δέρματος και της αλληλεπίδρασης του φωτός με αυτό.	13
2.10	Η διείσδυση του φωτός στο δέρμα στα διαφορετικά μήκη κύματος	13
2.11	Σκέδαση Rayleigh και σκέδαση Mie	14
2.12	Σκέδαση Brillouin, Raman και Rayleigh	15
2.13	Νόμος Beer-Lambert	16
2.14	Κυτταρολογική έκφραση της ανάπτυξης μελανώματος.	18
2.15	Ενδείξεις μελανώματος - κανόνας A, B, C, D, E.	19
2.16	Στάδια εξέλιξης μελανώματος.	20
2.17	Μελανοκυτταρικές βλάβες, των οποίων τα χαρακτηριστικά υπερκαλύπτονται από τον κανόνα ABCD (ασυμμετρία, ακανόνιστα περιγράμματα, ποικίλος χρωματισμός, διάμετρος μεγαλύτερη από 6 mm): Αριστερά - δυσπλαστικός σπίλος, Δεξιά - Δερματικό μελάνωμα.	21
2.18	Γενική παθολογία της ανάπτυξης τμημάτων όγκου.	22
3.1	Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα	25
3.2	Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα ορατού φωτός	26
3.3	Αναπαράσταση υπερφασματικού κύβου	28
3.4	Το φασματόμετρο USB2000 Spectrometer και τα στοιχεία του.	29
4.1	Patient 1 Melanoma	31
4.2	Patient 2 Dysplastic nevus	32
4.3	Patient 4 Dysplastic nevus	32
4.4	Patient 5 Dysplastic nevus	33
4.5	Patient 7 Dysplastic nevus	33
4.6	Patient 10 Compound nevus	34
4.7	Patient 15 Compound nevus	35
4.8	Patient 17 Compound nevus	35
4.9	Patient 18 Compound nevus	36
4.10	Jennifer Wagner - Mindex: Patient 1 Melanoma	38

4.11 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 2 Dysplastic	39
4.12 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 3 Dysplastic	39
4.13 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 4 Dysplastic	39
4.14 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 5 Dysplastic	40
4.15 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 6 Dysplastic	40
4.16 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 7 Dysplastic	40
4.17 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 8 Dysplastic	41
4.18 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 9 Junctional	41
4.19 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 10 Compound	41
4.20 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 11 Compound	42
4.21 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 12 Compound	42
4.22 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 13 Compound	42
4.23 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 14 Compound	43
4.24 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 15 Compound	43
4.25 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 16 Compound	43
4.26 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 17 Compound	44
4.27 Jennifer Wagner - Mindex: Patient 18 Compound	44
4.28 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 1 Melanoma	46
4.29 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 2 Dysplastic	46
4.30 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 3 Dysplastic	47
4.31 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 4 Dysplastic	47
4.32 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 5 Dysplastic	47
4.33 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 6 Dysplastic	48
4.34 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 7 Dysplastic	48
4.35 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 8 Dysplastic	48
4.36 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 9 Junctional	49
4.37 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 10 Compound	49
4.38 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 11 Compound	49
4.39 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 12 Compound	50
4.40 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 13 Compound	50
4.41 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 14 Compound	50
4.42 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 15 Compound	51
4.43 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 16 Compound	51
4.44 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 17 Compound	51
4.45 Jennifer Wagner - Eindex: Patient 18 Compound	52
4.46 Jennifer Wagner - Eindex: 1 λεπτό δεμένο	52
4.47 Jennifer Wagner - Eindex: 6 λεπτά δεμένο	53
4.48 Jennifer Wagner - Eindex: ελεύθερο μετά από 6 λεπτά	53
4.49 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 1 Melanoma	54
4.50 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 2 Dysplastic	55
4.51 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 3 Dysplastic	55
4.52 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 4 Dysplastic	55
4.53 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 5 Dysplastic	56
4.54 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 6 Dysplastic	56
4.55 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 7 Dysplastic	56
4.56 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 8 Dysplastic	57
4.57 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 9 Junctional	57

4.58 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 10 Compound	57
4.59 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 11 Compound	58
4.60 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 12 Compound	58
4.61 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 13 Compound	58
4.62 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 14 Compound	59
4.63 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 15 Compound	59
4.64 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 16 Compound	59
4.65 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 17 Compound	60
4.66 Melanoma - Nevus differentiation: Patient 18 Compound	60
4.67 Shimada - Yamada: Patient 1 Melanoma	62
4.68 Shimada - Yamada: Patient 2 Dysplastic	63
4.69 Shimada - Yamada: Patient 3 Dysplastic	63
4.70 Shimada - Yamada: Patient 4 Dysplastic	63
4.71 Shimada - Yamada: Patient 5 Dysplastic	64
4.72 Shimada - Yamada: Patient 6 Dysplastic	64
4.73 Shimada - Yamada: Patient 7 Dysplastic	64
4.74 Shimada - Yamada: Patient 8 Dysplastic	65
4.75 Shimada - Yamada: Patient 9 Junctional	65
4.76 Shimada - Yamada: Patient 10 Compound	65
4.77 Shimada - Yamada: Patient 11 Compound	66
4.78 Shimada - Yamada: Patient 12 Compound	66
4.79 Shimada - Yamada: Patient 13 Compound	66
4.80 Shimada - Yamada: Patient 14 Compound	67
4.81 Shimada - Yamada: Patient 15 Compound	67
4.82 Shimada - Yamada: Patient 16 Compound	67
4.83 Shimada - Yamada: Patient 17 Compound	68
4.84 Shimada - Yamada: Patient 18 Compound	68

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

1.1 Εισαγωγή

Η υπερφασματική απεικόνιση συνδυάζει την απεικόνιση με την φασματοσκοπία. Η απεικόνιση δίνει μια δισδιάστατη δομή δεδομένων και με τον συνδυασμό της με την φασματοσκοπία, που δίνει μια διαφορετική απεικόνιση για κάθε μήκος κύματος, δημιουργείται μια τρισδιάστατη δομή δεδομένων τόσο με χωρική όσο και με φασματική πληροφορία. Αυτή η δομή ονομάζεται υπερφασματικός κύβος και σε αυτόν γίνεται η εφαρμογή αλγορίθμων.

Στην δερματολογία, οι πληροφορίες της υπερφασματικής απεικόνισης προέρχονται από την αλληλεπίδραση του φωτός με το δέρμα. Η ακτινοβολία που αντανακλά το δέρμα καθορίζεται κυρίως από τις χρωμοφόρες, οι οποίες αποτελούν τους βασικούς απορροφητές, σκεδαστές και φθοριστές του δέρματος. Βασικές χρωμοφόρες είναι η μελανίνη, η οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη και η μη οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη.

1.2 Δομή εργασίας

Στο κεφάλαιο 2 αναλύεται το δέρμα, η δομή του, οι χρωμοφόρες του δέρματος, πως το φως αλληλεπιδρά με αυτό και, τέλος, τα είδη των σπύλων που εξετάζονται στην εργασία.

Στο κεφάλαιο 3 παρουσιάζονται τα συστήματα υπερφασματικής απεικόνισης, τι είναι η φασματοσκοπία, τι είναι το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα και σε τι ακτινοβολίες χωρίζεται, πως δημιουργούνται οι υπερφασματικοί κύβοι και που μας χρησιμεύουν, ποια είναι η διάταξη του φασματόμετρου και ποια τα στοιχεία του.

Στο κεφάλαιο 4 καταγράφονται οι αλγόριθμοι επεξεργασίας των υπερφασματικών κύβων, οι μαθηματικοί υπολογισμοί, οι παράμετροι, τα αποτελέσματα των αλγόριθμων επεξεργασίας και παρατηρήσεις που σημειώθηκαν κατά την υλοποίηση.

Στο κεφάλαιο 5 αναφέρονται τα συμπεράσματα, παρατηρήσεις και προτάσεις για μελλοντικές εργασίες.

Κεφάλαιο 2

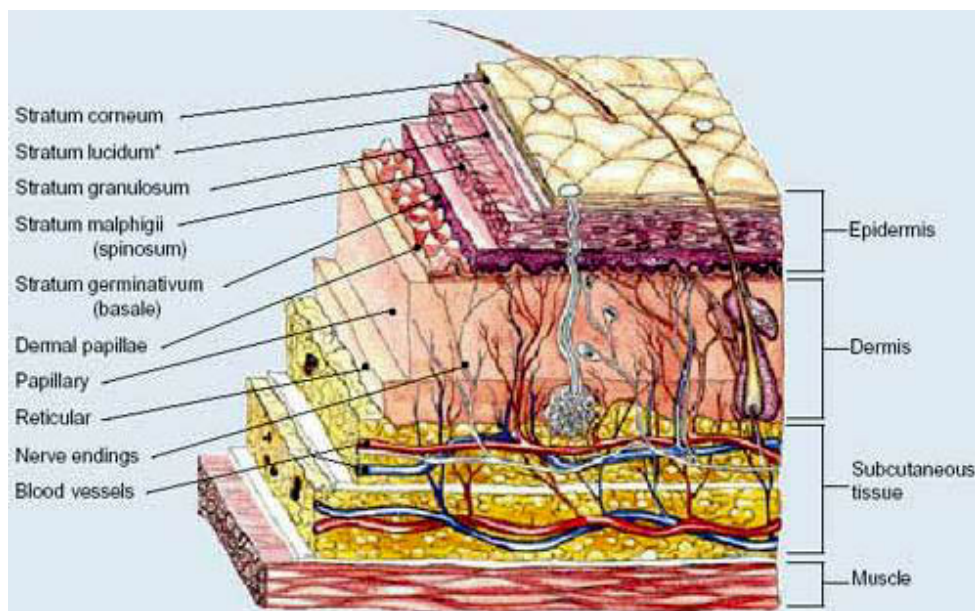
Δέρμα

Το δέρμα θεωρείται το μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπινου σώματος και ως προς το βάρος, αφού αντιστοιχεί στο 8% του συνολικού βάρους του σώματος, αλλά και ως προς την επιφάνειά του, η οποία είναι κατά μέσο όρο 16.000cm^2 σε ένα ενήλικα. Η επιφάνεια του δέρματος ποικίλλει ανάλογα με το ύψος και το βάρος του ατόμου. Το δέρμα έχει μια περίπλοκη πολυεπίπεδη δομή, η οποία σχηματίζεται από διάφορα κύτταρα και ίνες. Τριχοειδή αγγεία, φλέβες και νεύρα σχηματίζουν τεράστια δίκτυα εντός αυτής της δομής. Αποτελεί σημαντικό μέρος του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς η βασική λειτουργία του είναι να προστατεύει το σώμα από διάφορους παθογόνους παράγοντες που βρίσκονται στο περιβάλλον του, όπως ιούς, βακτήρια, επιβλαβείς χημικές ουσίες, αλλά και από την υπεριώδη ακτινοβολία και την υπερβολική απώλεια νερού. Είναι το όργανο χάρη στο οποίο γίνεται ρύθμιση της θερμοκρασίας, υπάρχει η αίσθηση της αφής, γίνεται η σύνθεση της βιταμίνης D και προστατεύονται οι βρωμιούχες βιταμίνες B (bromine vitamins B). Η κατηγοριοποίηση του δέρματος μπορεί να γίνει βάσει διαφόρων κριτηρίων, όπως είναι το πάχος, η απαλότητα, η ευκαμψία, η μηχανική αντοχή, το μέγεθος και ο αριθμός των τριχών, ο τύπος των αδένων, ο βαθμός κερατινοποίησης, η ικανότητα αιμάτωσης μέσω τριχοειδών αγγείων, ο χρωματισμός κι η ερεθιστικότητα των νεύρων. Ακόμα κι αν όλο το ανθρώπινο δέρμα είναι καλυμμένο με τριχοθυλάκια, μπορεί να εμφανιστεί χωρίς τρίχες, οπότε και χωρίζεται σε δύο τύπους, το τριχωτό και το γυμνό δέρμα (άτριχο) [1].

Στην συνέχεια αναλύουμε την δομή του δέρματος, τις χρωμοφόρες ουσίες εντός αυτής της δομής, πως αλληλεπιδρά το φως με το δέρμα και τέλος τα είδη των σπύλων του δέρματος με τα οποία ασχοληθήκαμε σε αυτήν την εργασία.

2.1 Η δομή του δέρματος

Το δέρμα χωρίζεται σε τρία κύρια στρώματα: την επιδερμίδα (epidermis), το χόριο (dermis) και τον λιπώδη ή υποδόριο ιστό (subcutaneous tissue -or- hypodermis -or- subcutis). Κάθε στρώμα αποτελείται από στιβάδες. Σχήμα 2.1

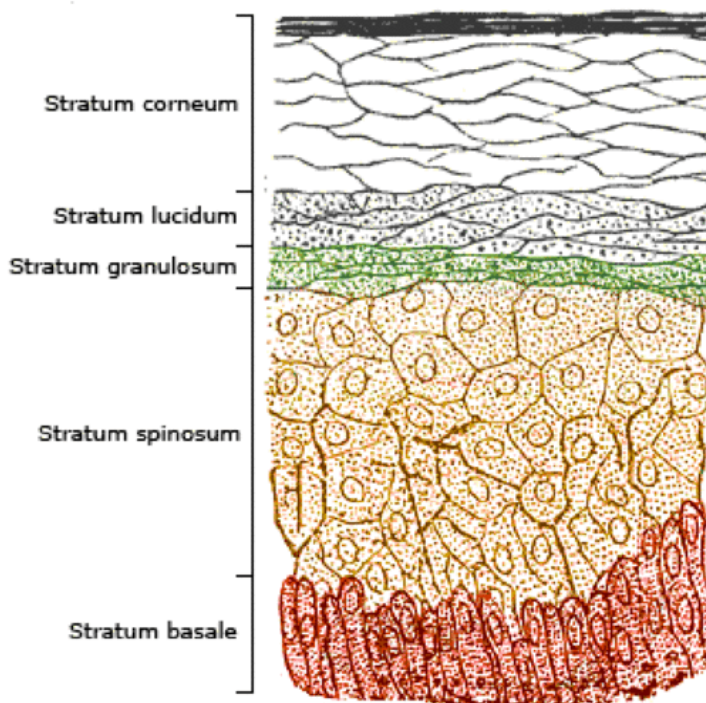


Σχήμα 2.1: Η δομή του δέρματος

2.1.1 Επιδερμίδα

Η επιδερμίδα είναι το εξωτερικό στρώμα του δέρματος και παρέχει τον λεγόμενο επιδερμικό φραγμό (epidermal barrier), ο οποίος διαδραματίζει σημαντικό προστατευτικό και αμυντικό ρόλο για τον έλεγχο και την ρύθμιση της απορρόφησης και της απώλειας νερού. Το πάχος της επιδερμίδας κυμαίνεται από 0,027mm έως 0,15mm [2]. Αποτελείται από τις παρακάτω στιβάδες κυττάρων, στέρα συνδεδεμένων μεταξύ τους, από την επιφανειακή στην πιο εσωτερική: τη Κεράτινη στιβάδα (Stratum corneum), τη Διανγή στιβάδα (Stratum lucidum) -συναντάται μόνο στις παλάμες των χεριών και στα πέλματα των ποδιών-, τη Κοκκώδη στιβάδα (Stratum granulosum), την Ακανθωτή στιβάδα (Stratum spinosum) και την Βασική στιβάδα (Stratum basale -or- Stratum Germinativum) [3]. Σχήμα 2.2.

Η επιδερμίδα συνίσταται κυρίως από κερατινοκύτταρα, μελανοκύτταρα, κύτταρα Langerhans και κύτταρα Merkel. Συγκεκριμένα, η βασική στιβάδα, η βαθύτερη υποστιβάδα της επιδερμίδας, αποτελείται κατά 90% από κερατινοκύτταρα, τα οποία παράγονται εδώ, ενώ διαθέτει και μελανοκύτταρα, τα οποία



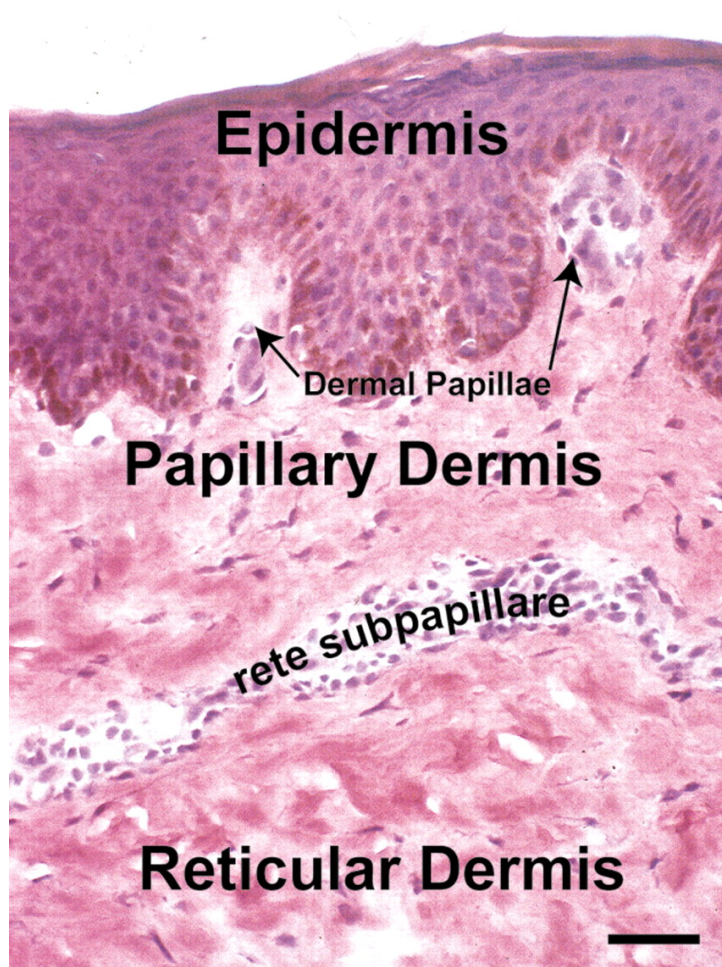
Σχήμα 2.2: Στιβάδες της επιδερμίδας

παράγουν μελανίνη, μια σκούρα χρωμοφόρα, που είναι υπεύθυνη για το χρώμα του δέρματος. Επιπλέον, τα κύτταρα Langerhans είναι ανοσιακά κύτταρα του δέρματος, τα οποία μπορούν να βρεθούν σε όλα τα στρώματα, ειδικά στην ακανθωτή στιβάδα, και τέλος, τα κύτταρα Merkel είναι απαραίτητα για την ελαφριά αίσθηση της αφής και τα περισσότερα βρίσκονται στο βασικό στρώμα.

Όλα τα κύτταρα της επιδερμίδας προέρχονται από τα κύτταρα της βασικής στιβάδας, τα οποία διαφοροποιούμενα, μετακινούνται προς τις εξωτερικές στιβάδες της επιδερμίδας. Ο σκοπός της πορείας του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των κυττάρων της επιδερμίδας είναι ο σχηματισμός του επιδερμικού φραγμού, που αποτελεί ουσιαστικά μια αδιάβροχη και προστατευτική ασπίδα. Η επιδερμίδα δεν περιέχει αιμοφόρα αγγεία, οπότε και τρέφεται με διάχυση από το χόριο. Ο κύκλος ζωής των κερατινοκυττάρων χωρίζεται σε τρεις φάσεις. Η πρώτη φάση αρχίζει στη βασική στιβάδα, όπου τα κύτταρα σχηματίζονται μέσω της μίτωσης (mitosis). Στη συνέχεια, τα επιδερμικά κύτταρα μεταναστεύουν από την βασική στιβάδα προς τα πάνω, χάνουν το μιτωτικό δυναμικό τους σε μεγάλο βαθμό και η επιφάνειά τους μεταβάλλεται, ενώ οι πυρήνες και τα κυτταροπλασματικά οργανίδια χάνονται. Με την μετάβασή τους από στρώμα σε στρώμα, τα κύτταρα σταδιακά πεθαίνουν λόγω απομόνωσης από την πηγή του αίματος. Αυτή η δεύτερη φάση ονομάζεται διαφοροποίηση ή κερατινοποίηση (differentiation or keratinization). Στο τέλος της διαφοροποίησης, τα κερατινοποιημένα κύτταρα γίνονται μια συμπαγής μάζα σχηματίζοντας την κεράτινη στιβάδα, ενσωματωμένα σε μια λιπιδική μήτρα (lipid matrix). Αυτή η φάση ονομάζεται απολέπιση (exfoliation) [4].

2.1.2 Χόριο

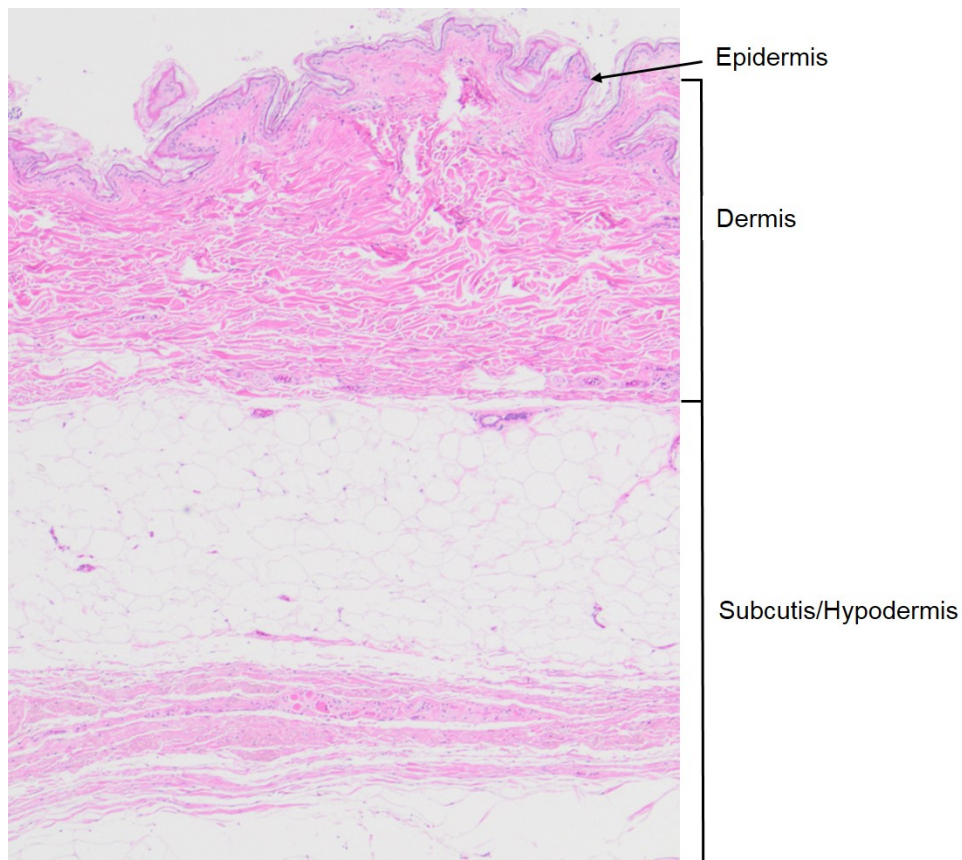
Το χόριο (dermis) βρίσκεται κάτω από την επιδερμίδα, από την οποία χωρίζεται χάρη στην βασική μεμβράνη (basement membrane) και έχει πάχος 2.0-3.0mm. Αποτελείται από δύο στρώματα: τη θηλώδη υποστιβάδα (papillary layer) και τη δικτυωτή υποστιβάδα (reticular layer) πιο εσωτερικά. Το χόριο είναι ένα στρώμα συνδετικού ιστού, πυκνού και ακανόνιστου, το οποίο περιέχει ίνες κολλαγόνου και ελαστίνης, ινοβλάστες, μακροφάγα και λιποκύτταρα, καθώς και νεύρα, αδένες και θυλάκια τρίχας. Τα νεύρα και τα αιμοφόρα αγγεία είναι μικρότερα στη θηλώδη και μεγαλύτερα στη δικτυωτή υποστιβάδα. Είναι το στρώμα που χαρίζει στο δέρμα την ελαστικότητα (elasticity) και την αντοχή της (strength). Στο σχήμα 2.3 παρατηρούμε πως ανάμεσα στην επιδερμίδα και τη θηλώδη υποστιβάδα μπορεί να υπάρχουν μικρές επεκτάσεις δέρματος, ονόματι dermal papillae, που δημιουργούν το αποτύπωμα του δέρματος, όπως τα δαχτυλικά αποτυπώματα. Τέλος, ανάμεσα στη θηλώδη και στην δικτυωτή υποστιβάδα υπάρχει ένα αγγειακό πλέγμα, το rete subpapillare. [18].



Σχήμα 2.3: Το χόριο

2.1.3 Υποδόριος Ιστός

Ο υποδόριος ή λιπώδης ιστός (hypodermis or subcutaneous tissue) συχνά δεν θεωρείται τμήμα του δέρματος. Σε αυτόν τον ιστό παρουσιάζονται σημαντικές εναποθέσεις λευκού λίπους, τα κύτταρα του οποίου ομαδοποιούνται. Το μέγεθός του ποικίλλει αφού μπορεί να φτάσει μέχρι 3cm παχύ στην κοιλιά ή να απουσιάζει στα βλέφαρα. Αυτές οι εναποθέσεις λευκού λίπους είναι και ο λόγος που το μεγαλύτερο μέρος του ορατού φωτός αντανακλάται προς τα πάνω, δηλαδή προς τα πιο επιφανειακά στρώματα [2]. Σχήμα 2.4. [26].



Σχήμα 2.4: Ο υποδόριος ιστός

2.2 Χρωμοφόρες του δέρματος

Το δέρμα περιέχει διάφορους τύπους χημικών ενώσεων απορρόφησης του φωτός, τις χρωμοφόρες. Κάθε χρωμοφόρα έχει διαφορετικό φάσμα απορρόφησης του φωτός. Οι χρωμοφόρες είναι ο λόγος για τον οποίο το δέρμα χρωματίζεται. Μεταξύ αυτών των χρωμοφόρων ιδιαίτερα σημαντικές για την κατανόηση της εμφάνισης του δέρματος είναι η μελανίνη (melanin) κι η αιμοσφαιρίνη (hemoglobin), τις οποίες μελετάμε σε αυτή την εργασία, καθώς απορροφούν το φως ιδιαίτερα στην ορατή περιοχή του φάσματος. Άλλες σημαντικές χρωμοφόρες είναι η χολερυθρίνη (bilirubin), τα λιπίδια (lipids), το νερό (water), τα κυτοχρώματα (cytochromes) και τα καροτενοειδή (carotenoids) και άλλα. Στο σχήμα 2.5 φαίνονται οι βασικές χρωμοφόρες του ανθρώπινου δέρματος, το εύρος του φάσματος απορρόφησης της κάθε μιας σε ποιες περιοχές κυμαίνεται, αν είναι απορροφητής, σκεδαστής ή φθοριστής, και τέλος που το φάσμα απορρόφησης της εκάστοτε χρωμοφόρας δημιουργεί τοπικά μέγιστα [5].

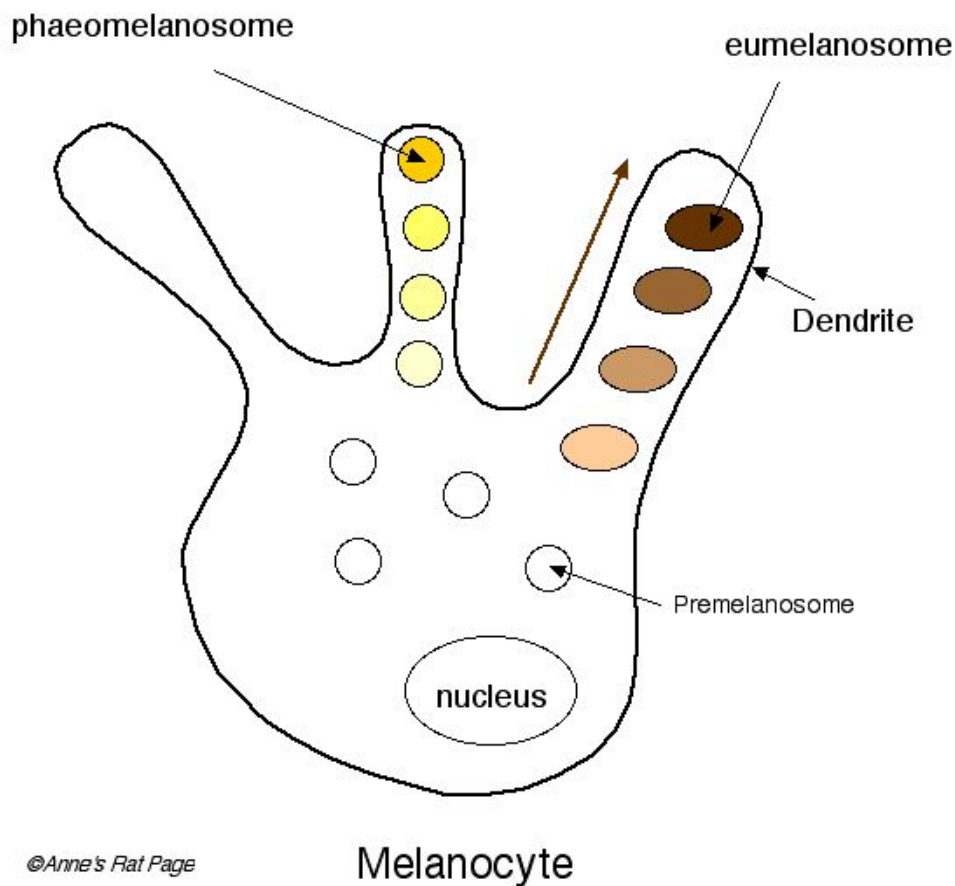
Skin chromophore	Spectral range of activity	Abs/Scat/Fluo	Principal spectral features—maxima, (nm)
Oxyhemoglobin	UV–Vis	Abs	412, 542, 577
Deoxyhemoglobin	UV–Vis	Abs	430, 555, 760
Melanin	UV–Vis	Abs/Scat	Monotonic increase to short wavelengths
Water	Vis–near infrared	Abs	760, 900, 1250, 1400, etc
Porphyrin	Vis	Fluo/Abs	Ex: ~405; Em: 620
Bilirubin	Vis	Abs	460
Nicotinamide adenine dinucleotide/reduced form of nicotinamide adenine dinucleotide	UV–Vis	Fluo/Abs	Ex: ~350; Em: 460
DNA/RNA	UV	Abs	260 (principal), 290 (weak)
Tryptophan	UV	Fluo/Abs	Ex: ~295; Em: 340–350
Urocanic acid	UV	Abs	280
Collagen cross-links	UV–Vis	Fluo/Abs	Ex: 335; Em: 380 Ex: 370; Em: 460
Elastin cross-links	UV–Vis	Fluo/Abs	Ex: 420; Em: 500 Ex: 460; Em: 540
Keratin (in corneocytes)	UV	Fluo/Abs	Ex: 370; Em: 460
Keratin (in horn)	UV–Vis	Fluo/Abs	Ex: ~405; Em: 460–650; Ex: ~370; Em: 460
Erythrocyte ghosts	UV–Vis	Scat	Broad over UV–Vis
Corneocytes	UV–Vis	Scat	Broad over UV–Vis

Σχήμα 2.5: Χρωμοφόρες του δέρματος

2.2.1 Μελανίνη

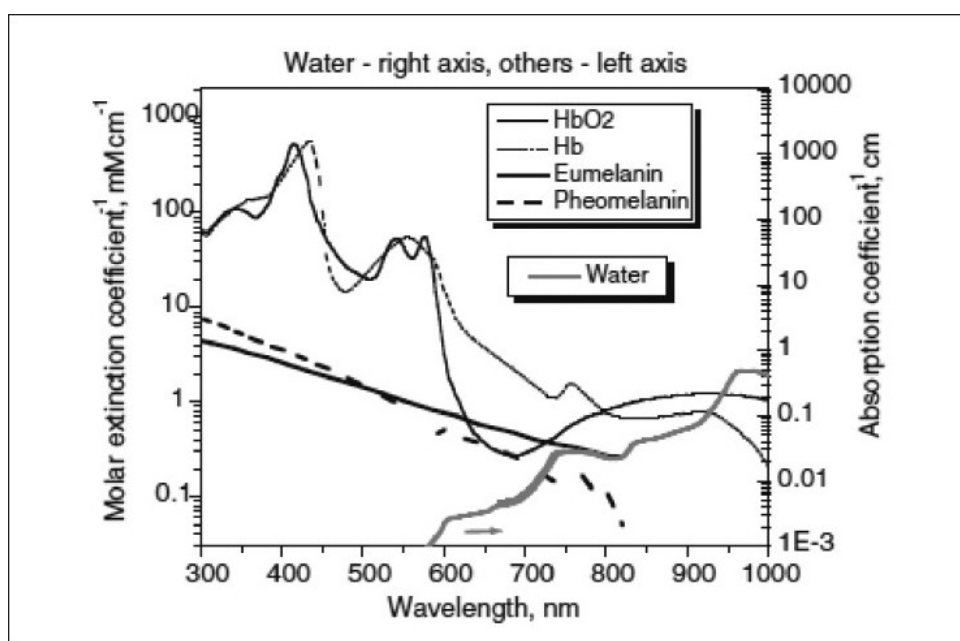
Η μελανίνη είναι η κυρίαρχη χρωμοφόρα της επιδερμίδας, ενώ μπορεί να βρεθεί και στις τρίχες. Παράγεται στα μελανοκύτταρα. Υπάρχουν δύο τύποι μελανίνης στο δέρμα, η ερυθρο/κίτρινη φαιομελανίνη (red/yellow pheomelanin) και η καφεΐνη/οπίσθια ευμελανίνη (brown/back eumelanin). Η νευρομελανίνη (neuromelanin), μια σκούρα χρωμοφόρα, είναι ο τρίτος τύπος που, όμως, δε θα μας απασχολήσει, αφού

βρίσκεται μόνο σε ορισμένα μέρη του εγκεφάλου [7]. Η φαιομελανίνη βρίσκεται κυρίως σε κόκκινα μαλλιά ενώ η ευμελανίνη σε σκούρα μαλλιά και μάτια. Το φυσιολογικό δέρμα συνήθως περιέχει κάποια ποσότητα ευμελανίνης και, για αυτό το λόγο, στις περισσότερες μελέτες αναφέρεται ως μελανίνη. Η φυσιολογική λειτουργία της μελανίνης είναι να προστατεύει το εσωτερικό του δέρματος απορροφώντας και σκεδάζοντας το υπεριώδες φως. Όταν τα μελανοκύτταρα εκτίθενται στο ηλιακό φως, αρχίζουν να παράγουν μελανίνη. Τα μελανοκύτταρα είναι διακλαδισμένες δομές αποτελούμενες από ένα κεντρικό κυτταρικό σώμα και τους πολυάριθμους δενδρίτες. Το χρώμα του δέρματος εξαρτάται από το κλάσμα του όγκου των μελανοσωμάτων, τα οποία παράγονται και ωριμάζουν, περνώντας διάφορα αναπτυξιακά στάδια, μέσα στα μελανοκύτταρα, και στην συνέχεια περνούν στα εξωτερικά άκρα των δενδριτών από όπου μεταφέρονται στα άλλα κύτταρα του δέρματος της επιδερμίδας. Τα μελανοκύτταρα μπορούν να παράγουν είτε φαιομελανοσώματα είτε ευμελανοσώματα, όχι ταυτόχρονα αλλά σε διαφορετικές χρονικές περιόδους, μεταπίπτοντας από το ένα στο άλλο [6]. Σχήμα 2.6.



Σχήμα 2.6: Ανάπτυξη μελανοσωμάτων εντός των μελανοκυττάρων

Παρόλο που σχεδόν όλοι οι άνθρωποι έχουν την ίδια ποσότητα μελανοκυττάρων, το ποσοστό και το μέγεθος των μελανοσωμάτων και των σωματιδίων μελανίνης που παράγονται μπορεί να διαφέρει σημαντικά, με αποτέλεσμα τις διαφορετικές αποχρώσεις δέρματος ανά τις φυλές του κόσμου [6]. Στο ανοιχτόχρωμο δέρμα των Καυκάσιων, το ποσοστό είναι μόνο μεταξύ 1% και 3%. Στο σκουρόχρωμο δέρμα των Καυκάσιων και στο δέρμα των πληθυσμών των Μεσογειακών χωρών, το ποσοστό αυξάνεται σε 11 έως 16%. Στη σκουρόχρωμη αφρικάνικη επιδερμίδα, φτάνει μέχρι το 43% [1]. Η μελανίνη δεν παρουσιάζει κάποιο χαρακτηριστικό μέγιστο στο φάσμα της, αλλά παρουσιάζει μια γνησίως μονότονη αύξηση σε μικρά μήκη κύματος. Αν και η μελανίνη παρουσιάζει χαμηλή απορρόφηση στην κόκκινη περιοχή του φάσματος, όπως και η οξυγονωμένη και μη αιμοσφαιρίνη, η απορρόφησης της επικρατεί στη συγκεκριμένη φασματική περιοχή. Έτσι η περιοχή αυτή προσφέρεται για ποσοτική εκτίμηση των χρωμοφόρων.[8] Σχήμα 2.7 [19].

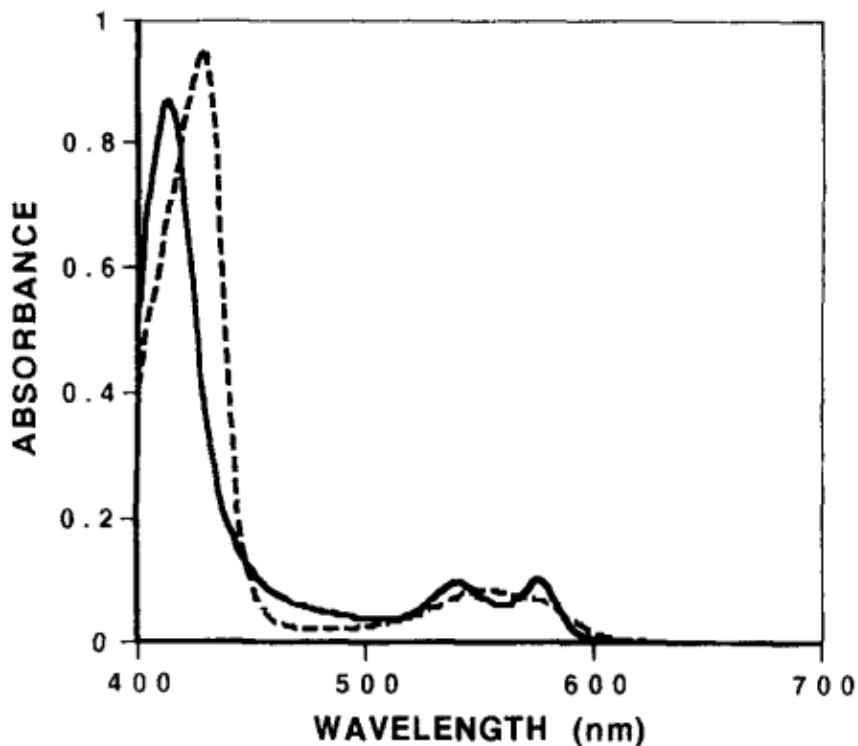


Σχήμα 2.7: Φάσμα απορρόφησης βασικών χρωμοφόρων

2.2.2 Αιμοσφαιρίνη

Η αιμοσφαιρίνη είναι μια κόκκινη χρωμοφόρα, που βρίσκεται στα ερυθροκύτταρα (erythrocytes) [1]. Είναι η βασική χρωμοφόρα στο χόριο και συναντάται είτε ως οξυγονωμένη (oxyhemoglobin) είτε ως μη-οξυγονωμένη (deoxyhemoglobin) αιμοσφαιρίνη. Τα φάσματα απορρόφησης και της οξυγονωμένης και της μη-οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης έχουν ένα χαρακτηριστικό μέγιστο στο ορατό. Η ερυθρότητα που αντιλαμβανόμαστε δημιουργείται λόγω της απορρόφησης του προσπίπτοντος φωτός από την αιμοσφαιρίνη, η οποία βρίσκεται στα τριχοειδή αγγεία και στο επιφανειακό αγγειακό πλέγμα του δέρματος [9].

Η οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη παρουσιάζει ένα χαρακτηριστικό μέγιστο στην απορρόφηση της στα 412nm (γνωστό σαν Soret Band) και τοπικά μέγιστα στα 542 και 577 nm (γνωστά σαν alpha-beta ή q-bands). Ο συντελεστής μοριακής απορρόφησης της οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης μειώνεται σε περιοχές του φάσματος μεγαλύτερες από 600 nm, κάτι το οποίο ερμηνεύει και το κόκκινο χρώμα που εμφανίζεται στα ερυθήματα (erythemas). Σχήμα 2.8 [9].



Σχήμα 2.8: Φάσμα απορρόφησης του φωτός από την οξυγονωμένη (ενιαία γραμμή) και από την μη-οξυγονωμένη (διακεκομμένη γραμμή) αιμοσφαιρίνη

2.3 Φως και δέρμα

Είναι γνωστή η διττή φύση του φωτός. Το φως είναι ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, η οποία αποτελείται από διακριτά πακέτα ενέργειας, τα λεγόμενα φωτόνια. Αυτή η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία έχει και χαρακτήρα κύματος και η ενέργεια των φωτονίων σχετίζεται με το μήκος κύματος και τη συχνότητα της ακτινοβολίας σύμφωνα με τον τύπο:

$$E = h \cdot f = h \cdot \frac{c}{\lambda}$$

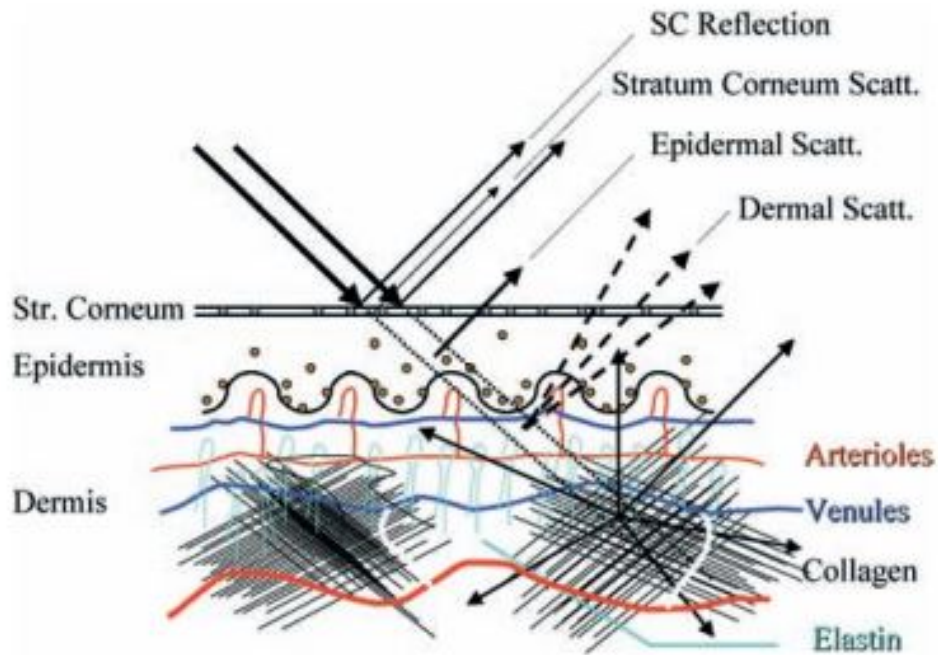
όπου E είναι η ενέργεια των φωτονίων, h είναι η σταθερά του Planck ($6.62607004 \times 10^{-34} m^2 \cdot kg/s$), f είναι η συχνότητα του κύματος, c είναι η ταχύτητα του φωτός ($299,792,458 m/s \simeq 300,000 km/s$) και λ είναι το μήκος κύματος.

Το δέρμα έχει μερικώς ημιδιαφανή και θολή δομή. Το φως αλληλεπιδρά με τις δομές της επιφάνειας του δέρματος με τους εξής τρόπους:

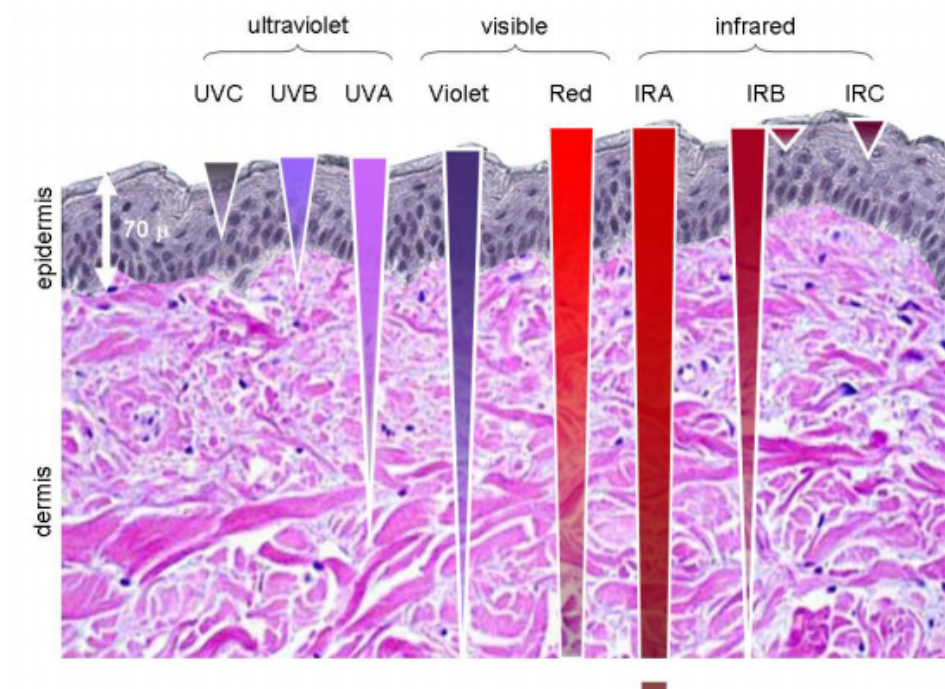
- **Απορρόφηση (absorption)**, όπου οι χρωμοφόρες απορροφούν την ενέργεια των φωτονίων και την μετατρέπουν σε θερμότητα.
- **Ελαστική σκέδαση (elastic scattering)**, όπου γίνονται αλλαγές στην πορεία του φωτός λόγω των διαφορών στον δείκτη διάθλασης του μέσου διάδοσης.
- **Φθορισμός (fluorescence)**, όπου τα φωτόνια δίνουν ενέργεια σε ηλεκτρόνια να μετατραπούν σε μόρια και, στη συνέχεια, εκπέμπονται φωτόνια χαμηλότερης ενέργειας και μεγαλύτερου μήκους κύματος.
- **Ανελαστική σκέδαση (inelastic scattering)**, όπου τα φωτόνια χάνουν ενέργεια σε κραδασμικές καταστάσεις (vibrational states) και, στη συνέχεια, εκπέμπονται φωτόνια χαμηλότερης ενέργειας και μεγαλύτερου μήκους κύματος.

Οι πιο συνηθισμένες αλληλεπιδράσεις είναι η απορρόφηση και η ελαστική σκέδαση. Ο φθορισμός εμφανίζεται συχνά αλλά με 10-100 φορές χαμηλότερη ένταση [10]. Σχήμα 2.9 [5].

Συνεπώς, το βάθος διείσδυσης του φωτός στον ιστό του δέρματος, ουσιαστικά εξαρτάται από την σκέδαση και την απορρόφηση, οι οποίες με την σειρά τους εξαρτώνται από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας λ . Άρα το βάθος διείσδυσης του φωτός εξαρτάται από το μήκος κύματος. Συγκεκριμένα, παρατηρείται εξασθένιση έως 1% για τα μήκη κύματος φωτός 250-280nm σε βάθος περίπου 40μm, για τα 300nm σε βάθος 100μm, για τα 360nm σε βάθος 190μm, για τα 400nm σε βάθος 250μm, για τα 700 nm σε βάθος 400 μm, για τα 1,2 μm σε βάθος 800 μm, για τα 2 μm στα 400 μm, για τα 2,5 μm σε βάθος 1 μm και για τα 400μm σε βάθος 30μm. Σχήμα 2.10. [25]



Σχήμα 2.9: Σχηματική αναπαράσταση του δέρματος και της αλληλεπίδρασης του φωτός με αυτό.

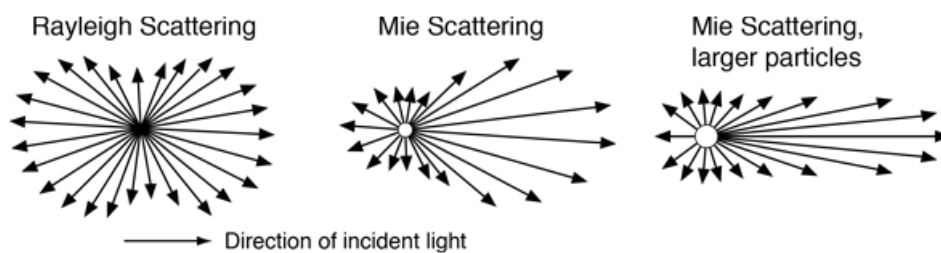


Σχήμα 2.10: Η διείσδυση του φωτός στο δέρμα στα διαφορετικά μήκη κύματος

2.3.1 Σκέδαση

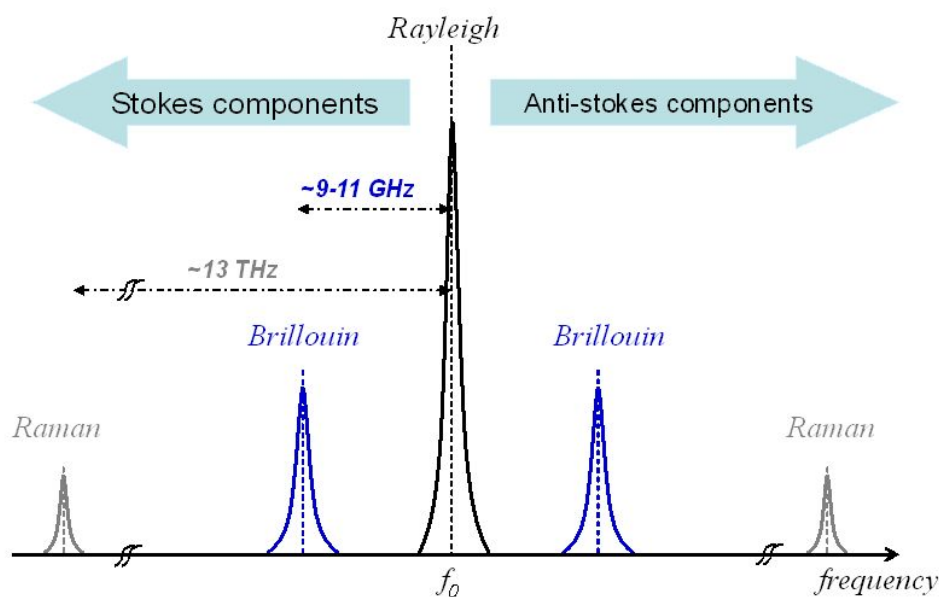
Όταν η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία περνάει μέσα από την ύλη, το μεγαλύτερο μέρος της ακτινοβολίας συνεχίζει στην αρχική του κατεύθυνση, αλλά ένα μικρό ποσοστό σκεδάζεται προς άλλες κατευθύνσεις. Υπάρχουν δύο είδη σκέδασης: η ελαστική και η ανελαστική.

Στην ελαστική σκέδαση, δεν υπάρχει αλλαγή στην ενέργεια και το φως που σκεδάζεται και έχει το ίδιο μήκος κύματος με το εισερχόμενο στην ύλη φως ($\lambda_{in} = \lambda_{out}$). Η ελαστική σκέδαση όπου το μέγεθος των σωματιδίων είναι πολύ μικρότερο από το μήκος κύματος ($\ll \lambda$), όπως, για παράδειγμα, άτομα ή μόρια, ονομάζεται σκέδαση Rayleigh και λαμβάνει χώρα προς όλες τις κατευθύνσεις ομοιόμορφα, ενώ η ελαστική σκέδαση όπου το μέγεθος των σωματιδίων είναι συγκρίσιμο με αυτό του μήκους κύματος (Debye) ή πολύ μεγαλύτερο (Mie) ($\geq \lambda$) και λαμβάνει χώρα προς όλες τις κατευθύνσεις ανομοιόμορφα ονομάζεται σκέδαση Debye ή Mie. Σχήμα 2.11. [24].



Σχήμα 2.11: Σκέδαση Rayleigh και σκέδαση Mie

Αντίθετα, στην ανελαστική σκέδαση υπάρχει απορρόφηση της ενέργειας των φωτονίων από τον σκεδαστή με αποτέλεσμα το μήκος κύματος του εξερχόμενου να είναι μικρότερο από αυτό του εισερχόμενου στην ύλη φωτός ($\lambda_{in} > \lambda_{out}$). Συνήθως συμβαίνει σε μικρά μήκη κύματος όπως στο υπεριώδες φως και σε ακτίνες X (UV and X-ray)[24]. Τέτοιες ανελαστικές σκεδάσεις είναι η σκέδαση Brillouin, όπου η συχνότητα της ανακλώμενης ακτινοβολίας μεταβάλλεται είτε από τα θερμικά ηχητικά κύματα (thermal sound waves) είτε από την περιστροφική κίνηση (spin) των μορίων, κι η σκέδαση Raman, όπου η συχνότητα της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας μεταβάλλεται είτε από κερδισμένη είτε από χαμένη κβαντική ενέργεια των κραδασμών (vibrational quantum of energy) στα μόρια της διαλυόμενης ουσίας ή στα οπτικά φωτόνια [22]. Η σκέδαση Brillouin τυπικά μετατοπίζεται κατά 0,1 έως 1cm^{-1} από το προσπίπτον φως, ενώ η Raman μετατοπίζεται κατά 4000cm^{-1} από το προσπίπτον φως [21]. Η σκέδαση Brillouin συμβαίνει σε συχνότητες έως μερικών THz (10^{12}Hz) ενώ η Raman κάτω των $\sim 500\text{GHz}$ ($500 \cdot 10^9\text{Hz}$). Στο σχήμα 2.12 έχουμε το φάσμα της σκέδασης του φωτός με Brillouin, Raman και Rayleigh σκέδαση σε οπτικές ίνες, με τη συχνότητα $f > f_o$ να αντιστοιχεί στα anti-stokes μέρη και με $f < f_o$ στα stokes. Με την αύξηση της θερμοκρασίας T στη σκέδαση Brillouin αυξάνεται η απόλυτη τιμή της διαφοράς της συχνότητας $|f_o - f|$, ενώ στην σκέδαση Raman αυξάνεται το πλάτος της συχνότητας f . [23].



Σχήμα 2.12: Σκέδαση Brillouin, Raman και Rayleigh

2.3.2 Απορρόφηση του φωτός

Η απορρόφηση (absorption) του φωτός, δηλαδή της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, είναι ο τρόπος με τον οποίο η ενέργεια ενός φωτονίου απορροφάται από την ύλη. Με την απορρόφηση η ηλεκτρομαγνητική ενέργεια μετατρέπεται σε εσωτερική ενέργεια του απορροφητή. Η μετατροπή μπορεί να περιγραφεί ως η διέγερση των ηλεκτρονίων από μια χαμηλότερη σε μια υψηλότερη ενεργειακή στάθμη. Η διέγερση εξαρτάται από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας. Για παράδειγμα, η ακτινοβολία που ανήκει στο υπεριώδες και στο ορατό φάσμα διεγείρει τα ηλεκτρόνια, έτσι ώστε αυτά να μεταπέσουν σε τροχιά υψηλότερης ενεργειακής στάθμης, η ακτινοβολία που ανήκει στο υπέρυθρο τα διεγείρει προκαλώντας τους δονητικές μεταπτώσεις, ενώ η ακτινοβολία που ανήκει στα μικροκύματα τα διεγείρει προκαλώντας τους περιστροφικές μεταπτώσεις. Όσον αφορά τις χρωμοφόρες, η ενέργεια των φωτονίων μετατρέπεται σε θερμότητα. Η απορρόφηση αυτή εξαρτάται από την σύνθεση του δέρματος, τα φάσματα απορρόφησης, στα οποία αναφερθήκαμε, και την ποσότητα των χρωμοφόρων.

Η σύνθεση του δέρματος χαρακτηρίζεται από:

- α) την δομή της επιφάνειάς του (όπως το πάχος του δέρματος, τις ρυτίδες, τις τρίχες κ.ά.),
- β) τη συγκέντρωση και την κατανομή των απορροφητών (absorbers) στην κεράτινη στιβάδα (μελανίνη), στην επιδερμίδα (μελανίνη), στο χόριο (αιμοσφαιρίνη, μελανίνη, χολερυθρίνη), και
- γ) τη συγκέντρωση και την κατανομή των σκεδαστών (scatters) στην κεράτινη στιβάδα (μελανίνη), στην

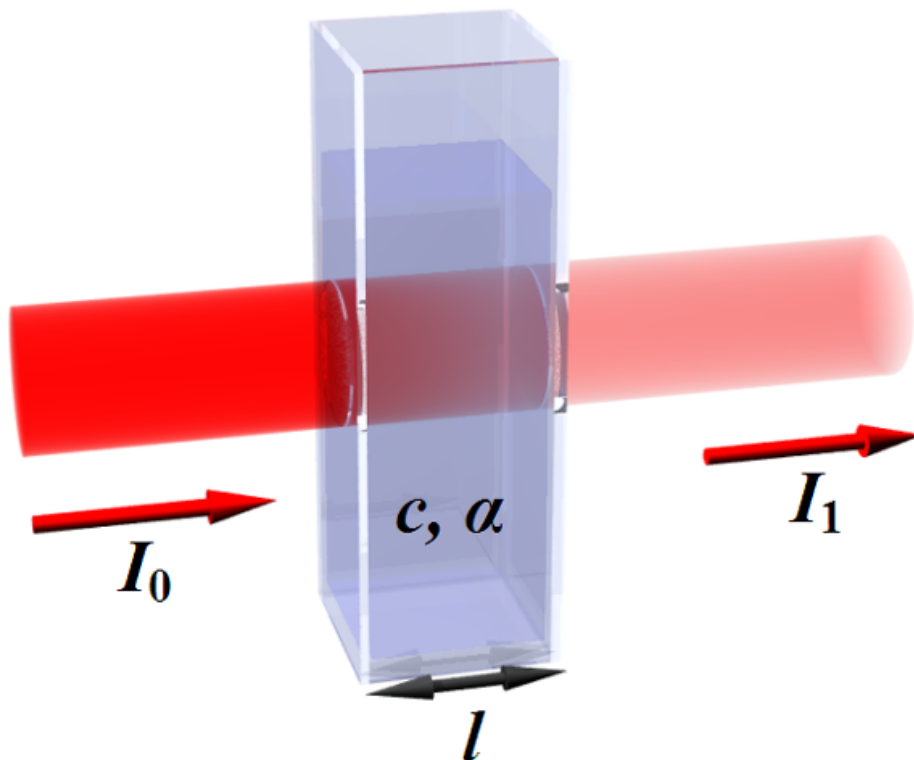
επιδερμίδα (μελανίνη, κυτταρικές δομές), στο χόριο (κολλαγόνο, μελανίνη σε μακροφάγα, ερυθροκύτταρα, κ.τ.λ) [9].

Στην φασματοφωτομετρία (spectrophotometry) για την μέτρηση της συγκέντρωσης ενός απορροφητή χρησιμοποιείται ο νόμος του Beer-Lambert (Beer-Lambert law). Η απορρόφηση A είναι αδιάστατο μέγεθος. Για τον υπολογισμό της χρειάζεται να ξέρουμε τη συγκέντρωση του υλικού C , μετρούμενη συνήθως σε μονάδες mol/L (M), την οπτική διαδρομή l , μετρούμενη συνήθως σε εκατοστόμετρα (cm) και τη μοριακή απορροφητικότητα ε , δηλαδή την απορρόφηση που θα έχει το διάλυμα μια ουσίας του ενός mol/L , μετρούμενη σε $L/mol \cdot cm$. Ο γενικός τύπος του νόμου Beer-Lambert, όπου $a(\lambda)$ ο εξαρτώμενος από το μήκος κύματος λ συντελεστής απορρόφησης, γράφεται ως

$$A = a(\lambda) \cdot l \cdot C$$

Θέτοντας ως I την ένταση της ακτινοβολίας που διαπερνά το διάλυμα και ως I_0 την ένταση της ακτινοβολίας που προσπίπτει στο διάλυμα, ο λόγος $\frac{I}{I_0}$ δίνει την διαπερατότητα T (transmittance) του διαλύματος. Και επειδή

$$I = I_0 \times 10^{-\varepsilon \cdot C \cdot l} \Leftrightarrow \log_{10} \left(\frac{I}{I_0} \right) = -\varepsilon \cdot C \cdot l \Leftrightarrow \log_{10}(T) = -\varepsilon \cdot C \cdot l$$



Σχήμα 2.13: Νόμος Beer-Lambert

Η απορρόφηση σε σχέση με την ουσία στην οποία προσπίπτει το φως δίνεται και από την παρακάτω σχέση, η οποία χρησιμοποιείται περισσότερο από τον γενικό τύπο λόγω της ευκολίας που προσφέρει η χρήσης μονάδων mol:

$$A = -\log_{10} T \Leftrightarrow A = -\log_{10} \left(\frac{I}{I_0} \right) \Leftrightarrow A = \varepsilon \cdot C \cdot l$$

Η γραμμικότητα του νόμου Beer-Lambert περιορίζεται από διάφορους παράγοντες. Οι αιτίες της μη γραμμικότητας περιλαμβάνουν:

- α) Αποκλίσεις στους συντελεστές απορρόφησης σε υψηλές συγκεντρώσεις ($C > 0,01M$) λόγω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ μορίων σε στενή εγγύτητα
- β) Σκέδαση του φωτός λόγω σωματιδίων στο δείγμα
- γ) Φθορισμό ή φωσφορισμό του δείγματος
- δ) Μεταβολές του δείκτη διάθλασης σε υψηλές συγκεντρώσεις της διαλυόμενης ουσίας
- ε) Μετατοπίσεις της χημικής ισορροπίας ως συνάρτηση της συγκέντρωσης
- στ) Μη μονοχρωματική ακτινοβολία, οι αποκλίσεις μπορούν να ελαχιστοποιηθούν χρησιμοποιώντας ένα επίπεδο τμήμα του φάσματος απορρόφησης, όπως το μέγιστο μιας ζώνης απορρόφησης
- ζ) Φως, πέραν της προμελετημένης δέσμης με διαφορετική τροχιά από αυτήν. [21].

Πιο συγκεκριμένα, η μοριακή απορροφητικότητα ε μεταβάλλεται σε πυκνά διαλύματα ($C > 0.01M$), επειδή οι αποστάσεις των μορίων είναι τόσο μικρές ώστε να αλληλοεπηρεάζονται τα γειτονικά μόρια ως προς την ικανότητα απορρόφησης. Στην περίπτωση αυτή, προκαλείται έντονο φαινόμενο σκέδασης, οπότε είναι αναγκαίο να τροποποιηθεί ο νόμος Beer-Lambert ως εξής:

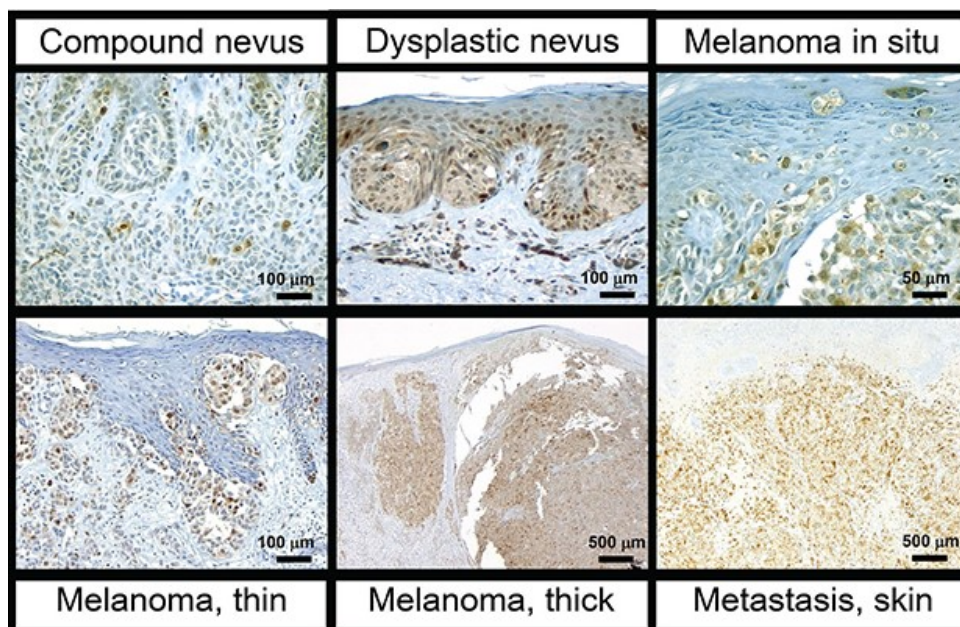
$$A = \log_{10} \left(\frac{I}{I_0} \right) = a \cdot C \cdot l \cdot DPF + G$$

όπου G είναι οι απώλειες λόγω σκέδασης και DPF είναι ο συντελεστής διαφορικού μήκους διαδρομής (differential pathlength factor), ο οποίος μετράει την αύξηση της διαδρομής του φωτός λόγω του φαινομένου της σκέδασης και υπάρχουν διάφορες τεχνικές για τον υπολογισμό του. Επειδή οι απώλειες G εξαρτώνται από το είδος και το σχήμα του ιστού, δεν είναι γνωστές, διατηρώντας το G σταθερό μεταξύ δύο μετρήσεων μπορούμε να υπολογίσουμε την διαφορά στην συγκέντρωση μιας χρωμοφόρας ($C - C_0$) σε σχέση με την διαφορά στην απορρόφηση ($A - A_0$)

$$(A - A_0) = a \cdot (C - C_0) \cdot l \cdot DPF + G$$

2.4 Σπίλοι

Στην παρούσα εργασία εξετάσαμε υπερφασματικούς κύβους από σπίλους, συγκεκριμένα από ένα μελάνωμα (melanoma), επτά δυσπλαστικούς σπίλους (dysplastic nevi), ένα συνδεσμικό σπίλο (junctional nevus) και εννέα μικτούς σπίλους (compound nevi).



Σχήμα 2.14: Κυτταρολογική έκφραση της ανάπτυξης μελανώματος.

2.4.1 Μελάνωμα

Το μελάνωμα (κακήθες μελάνωμα) είναι ο όγκος των μελανοκυττάρων. Αν και ο λιγότερο συχνός μεταξύ των καρκίνων του δέρματος, είναι ο κακοηθέστερος όλων, αφού σχετίζεται με το 75% περίπου των θανάτων που προέρχονται από καρκίνο του δέρματος. Το μελάνωμα μπορεί να εμφανιστεί είτε ως συνέχεια στην ανάπτυξη ενός σπίλου είτε σε οποιοδήποτε σημείο του σώματος επί του φυσιολογικού δέρματος.

Οι ενδείξεις μελανώματος αντιπροσωπεύονται από τον κανόνα A, B, C, D, E. Σχήμα 2.15. [20].

Asymmetry: δηλαδή ασυμμετρία, που σημαίνει ότι η μισή βλάβη είναι διαφορετική από την άλλη μισή.

Borders: όρια, τα οποία παρουσιάζονται ασαφή.

Color: το χρώμα δεν είναι ομοιόμορφο.

Diameter: διάμετρος μεγαλύτερη από 6 mm.

Evolving: παρουσιάζει γρήγορη εξέλιξη στο πέρασμα το χρόνου.



Σχήμα 2.15: Ενδείξεις μελανώματος - κανόνας A, B, C, D, E.

Σύμφωνα με το μοντέλο του Clark, η ανάπτυξη ενός όγκου μελανώματος έχει τα εξής στάδια. Σχήμα 2.16. Αρχικά, καλοήγη εμβρυακά μελανοκυτταρικά πολλαπλασιάζονται ελεγχόμενα με σκοπό την παραγωγή ενός καλοήθους σπίλου. Στο σχήμα βλέπουμε πως στο δεύτερο στάδιο περνάμε με μια BRAF μετάλλαξη (BRAF mutation), η οποία αφορά ένα γονίδιο που ανήκει στην οικογένεια των ογκογονιδίων (oncogenes).

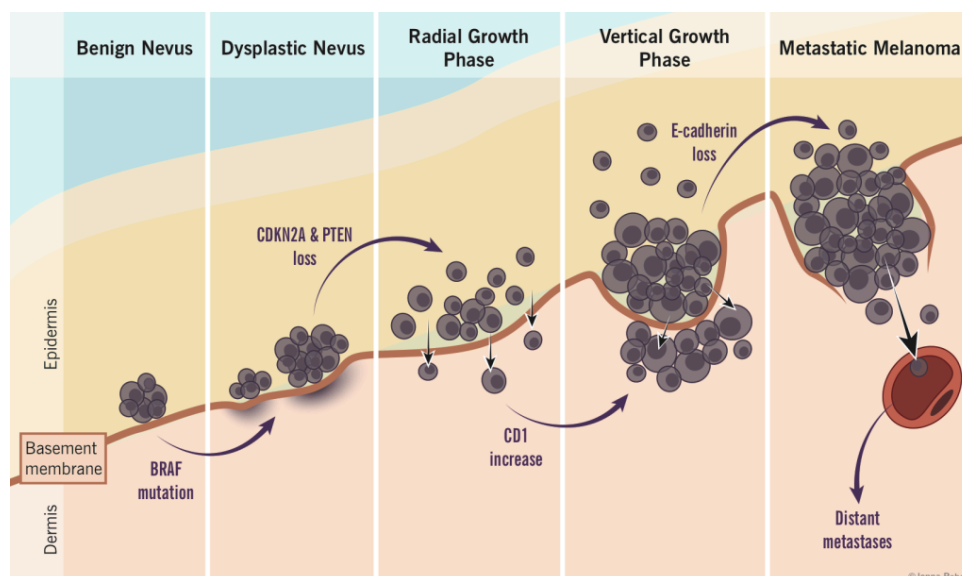
Στο δεύτερο στάδιο, έχουμε μια ανώμαλη ανάπτυξη μελανοκυττάρων, είτε σε έναν σπίλο που προϋπήρχε, είτε σε μια νέα τοποθεσία, που έχει ως αποτέλεσμα μια προ-κακοήγη βλάβη με τυχαία κυταρολογική δυσπλασία, που ονομάζεται άτυπος ή δυσπλαστικός σπίλος. Είναι επίπεδες κηλίδες μεγαλύτερες των 5 mm με ακανόνιστο περίγραμμα και μεταβλητό χρωματισμό. Με την απώλεια των γονιδίων CDKN2A

και PTEN περνάμε στο τρίτο στάδιο.

Στο τρίτο στάδιο, έχουμε την φάση της ακτινικής ανάπτυξης (Radial Growth Phase - RGP). Τα μελανοκύτταρα αποκτούν την ικανότητα να πολλαπλασιάζονται οριζόντια στην επιδερμίδα και να εμφανίζουν ιστολογικά συνεχή δυσπλασία (melanoma in situ). Η πρωτεΐνη e-cadherin βοηθάει να περιοριστούν τα κύτταρα ενδοεπιθημικώς, αλλά μερικά κύτταρα μπορεί να εισβάλλουν στο θηλώδες χόριο.

Στην τέταρτη φάση, αυτήν της κάθετης ανάπτυξης (Vertical Growth Phase - VGP), πολλές βιοχημικές διαταραχές, όπως η απώλεια της πρωτεΐνης e-cadherin και η έκφραση της πρωτεΐνης n-cadherin, επιτρέπουν στα κακοήγη κύτταρα να εισβάλλουν στη βασική μεμβράνη και να πολλαπλασιάζονται κατακόρυφα στο χόριο ως διαστελλόμενο οζίδιο εν δυνάμει μεταστατικό.

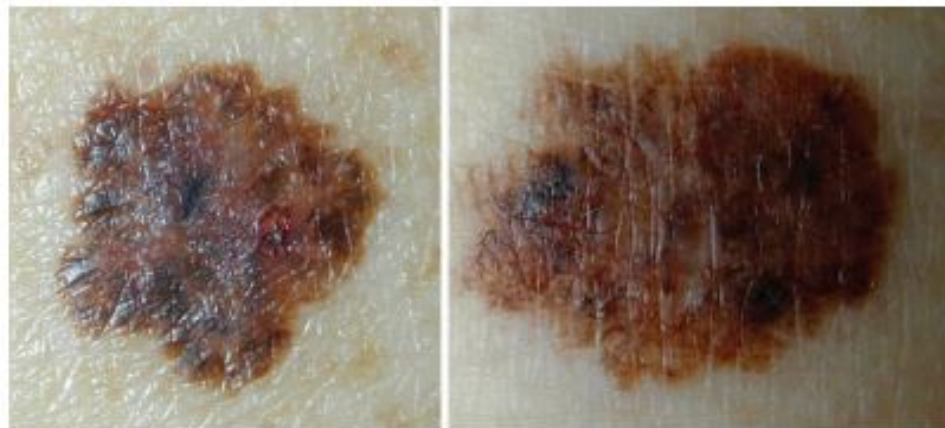
Στο τελευταίο στάδιο, το μεταστατικό μελάνωμα αποτελείται από κακοήγη μελανοκύτταρα που εξαπλώνονται σε άλλες περιοχές του σώματος, συνήθως πρώτα στους λεμφαδένες και στη συνέχεια στο δέρμα, τον υποδόριο μαλακό ιστό, τους πνεύμονες και τον εγκέφαλο. [27].



Σχήμα 2.16: Στάδια εξέλιξης μελανώματος.

2.4.2 Δυσπλαστικοί σπίλοι

Ο άτυπος ή δυσπλαστικός σπίλος ή σπίλος του Clark (dysplastic nevus ή atypical mole) έχει διαφορετική εικόνα από τους συνηθισμένους σπίλους και μοιάζει με κακήηθες μελάνωμα. Συνήθως είναι μεγαλύτερος από τους κοινούς σπίλους, με τα όριά του να είναι σαφή και το χρώμα του να είναι από ροζ έως σκούρο καφέ. Πιο συχνά είναι επίπεδος αλλά μερικές φορές μπορεί να προεξέχει από την επιφάνεια του δέρματος. Αν και η συντριπτική πλειονότητα των σπίλων αυτών δεν θα μετατραπούν σε κακοήθειες, έχουν πολύ περισσότερες πιθανότητες να αναπτυχθούν σε μελάνωμα ενώ τα μισά περίπου μελανώματα προέρχονται από άτυπους σπίλους. Σχήμα 2.17 [34]



Σχήμα 2.17: Μελανοκυτταρικές βλάβες, των οποίων τα χαρακτηριστικά υπερκαλύπτονται από τον κανόνα ABCD (ασυμμετρία, ακανόνιστα περιγράμματα, ποικίλος χρωματισμός, διάμετρος μεγαλύτερη από 6 mm): Αριστερά - δυσπλαστικός σπίλος. Δεξιά - Δερματικό μελάνωμα.

2.4.3 Συνδεσμικοί σπίλοι

Τα κύτταρα των συνδεσμικών σπίλων (junctional nevi) βρίσκονται στο όριο που χωρίζει την επιδερμίδα και το χόριο. Είναι μικρότεροι από 5mm, συνήθως σκουρόχρωμοι κι επίπεδοι, ενώ μπορεί να προεξέχουν ελαφρώς ή και να αποτελούνται από συνδυασμό δύο χρωμάτων. Έχουν σχήμα στρογγυλό ή ωοειδές και ομοιογενές σχήμα. Σπανίως όμως μπορεί να μετατραπεί σε κακόηθες μελάνωμα.

2.4.4 Μικτοί σπίλοι

Οι μικτοί σπίλοι (compound nevi) έχουν σπιλοκύτταρα στο όριο μεταξύ επιδερμίδας και χορίου καθώς και μέσα στο χόριο. Είναι ένα είδος μελαγχρωματικού σπίλου, που αποτελείται από μία κεντρική περιοχή που προεξέχει κι η οποία συχνά περιτριγυρίζεται από μία επίπεδη σκουρόχρωμη επιφάνεια. Από την επιφάνειά τους μπορεί να προβάλλουν τρίχες. Οι μικτοί σπίλοι προέρχονται από έναν επίπεδο συνδεσμικό σπίλο που προϋπήρχε, στον οποίο η κεντρική περιοχή άρχισε να διογκώνεται παρουσιάζοντας πιο έντονη χρώση σκούρου καφέ χρώματος. Η χρώση μπορεί να είναι διαφορετική σε σημεία της επιφάνειας του σπίλου, αλλά συνήθως είναι συμμετρικά κατανομημένη. Το σχήμα είναι στρογγυλό ή ωοειδές και η διάμετρος 2-7mm. Το όνομά τους προέρχεται από το γεγονός ότι περιέχουν μελανοκύτταρα συνδεσμικά (που ευθύνονται για την χρώση τους) και μελανοκύτταρα ενδοδερμικά, που ευθύνονται για την έπαρση (προεξέχουσα θέση) της βλάβης. Σχήμα 2.18 [28].



Σχήμα 2.18: Γενική παθολογία της ανάπτυξης τμημάτων όγκου.

Κεφάλαιο 3

Συστήματα Υπερφασματικής Απεικόνισης

Απεικόνιση ονομάζεται η οπτική αναπαράσταση ή η αναπαραγωγή ενός αντικειμένου. Συγκεκριμένα, η ψηφιακή απεικόνιση είναι η πλέον εξελιγμένη και εφαρμόσιμη μέθοδος όπου τα δεδομένα καταγράφονται με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή.

Η φασματική απεικόνιση (Spectral Imaging) συνδυάζει την φασματοσκοπία (spectroscopy) με την απεικόνιση (imaging) και αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη μέθοδο στον τομέα της βιοϊατρικής οπτικής απεικόνισης (biomedical optical imaging). Η φασματική απεικόνιση μπορεί να χρησιμοποιεί φως από το υπέρυθρο (infrared), το ορατό (visible), το υπεριώδες (ultraviolet), τις ακτίνες X ή κάποιο συνδυασμό αυτών.

Η υπερφασματική απεικόνιση (Hyperspectral Imaging), αν και συλλέγει και επεξεργάζεται πληροφορίες όπως η φασματική απεικόνιση, χρησιμοποιεί φως από όλο το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα [13].

3.1 Φασματοσκοπία

Η φασματοσκοπία μελετά την αλληλεπίδραση μεταξύ της ύλης και της ενέργειας της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Αρχικά, ο τομέας της φασματοσκοπίας εστίαζε στη διασπορά του ορατού φωτός ανάλογα με το μήκος κύματος του, στην συνέχεια όμως επεκτάθηκε σε οποιαδήποτε αλληλεπίδραση της ακτινοβολίας με την ύλη ως συνάρτηση του μήκους κύματος ή της συχνότητας. Οι πειραματικές μετρήσεις στην φασματοσκοπία γίνονται με την χρήση φασματοσκοπικών συσκευών, όπως είναι ο φασματογράφος (spectrograph), ο οποίος διαχωρίζει το φως στα μήκη κύματός του και τα καταγράφει. Μια ακόμα συσκευή είναι το φασματόμετρο (spectrometer), που ονομάζεται και φασματοσκόπιο απορρόφησης, και χρησιμοποιείται για την ανάλυση του φάσματος του φωτός αφού αυτό αλληλεπιδράσει με την ύλη, μετρώντας ουσιαστικά την απορρόφηση μιας δέσμης φωτός συγκεκριμένου μήκους κύματος από ένα υλικό, και κατασκευάζοντας, τελικά, την καμπύλη απορρόφησης-συγκέντρωσης. Τέλος, άλλα δύο όργανα μέτρησης είναι το φασματοφωτόμετρο (spectrophotometer), το οποίο χρησιμοποιείται για την

μέτρηση της διαπερατότητας ή της ανάκλασης διαλυμάτων, διαφανών ή αδιαφανών στερεών ή αέριων, και ο φασματικός αναλυτής (spectrum analyzer), ο οποίος απεικονίζει την ένταση ενός στιγμιότυπου κάποιου σήματος συναρτήσει της συχνότητας του.

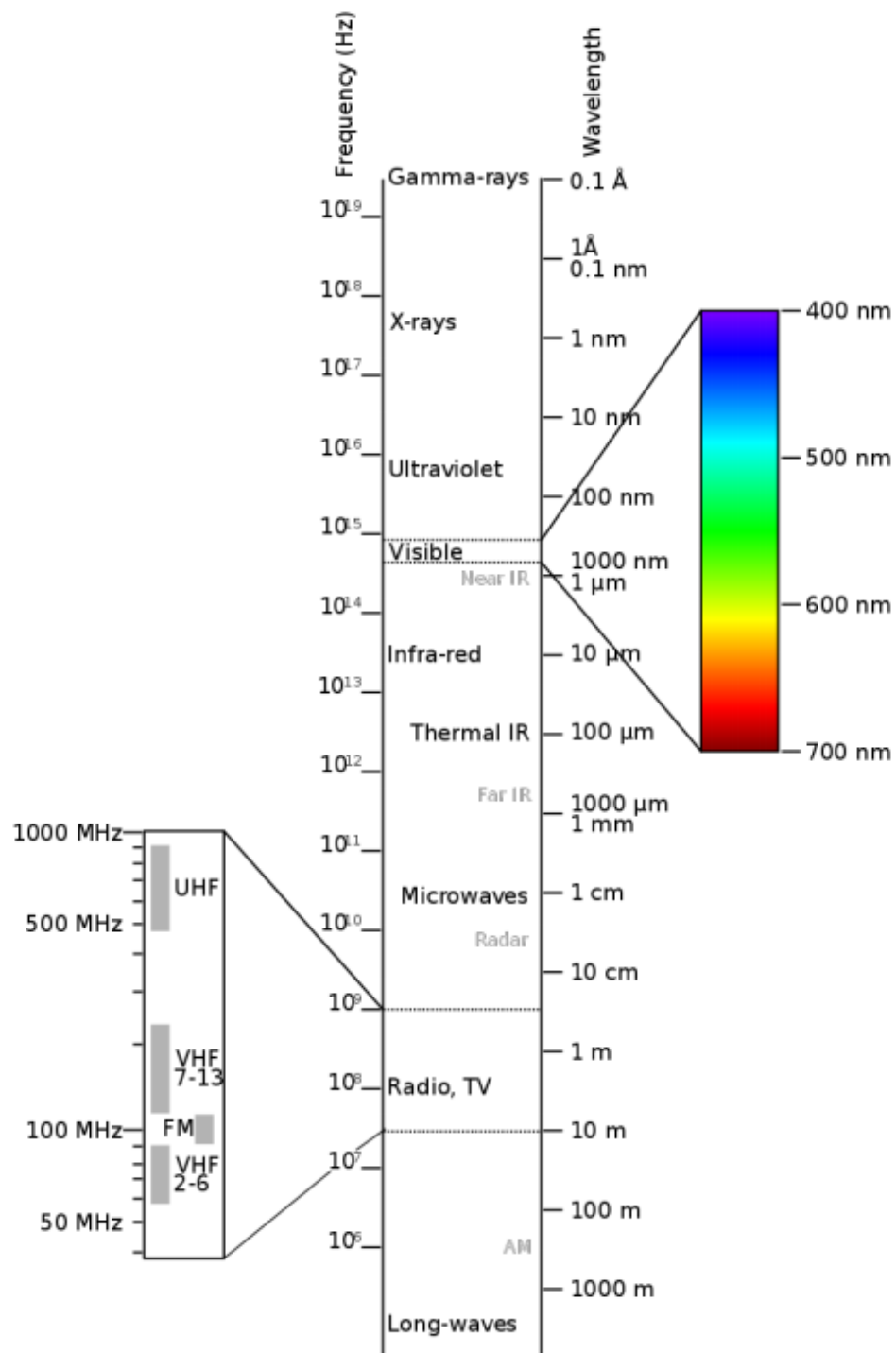
3.2 Ηλεκτρομαγνητικό Φάσμα

Όπως αναφέρεται στην παράγραφο 2.3, το φως είναι ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία και περιγράφεται από οποιαδήποτε από τις ακόλουθες τρεις φυσικές ιδιότητες: τη συχνότητα f , το μήκος κύματος λ ή την ενέργεια φωτονίων E . Με h να είναι η σταθερά του Planck ($6.62607004 \times 10^{-34} \text{ m}^2 \cdot \text{kg/s}$) και c η ταχύτητα του φωτός ($299,792,458 \text{ m/s} \simeq 300,000 \text{ km/s}$) έχουμε τον τύπο:

$$E = h \cdot f = h \cdot \frac{c}{\lambda}$$

Το μήκος κύματος είναι αντιστρόφως ανάλογο της συχνότητας του κύματος, έτσι οι ακτίνες γάμμα, με συχνότητα της τάξης των exahertz (EHz) έχουν πολύ μικρά μήκη κύματος, που είναι κλάσματα μεγέθους ατόμων, ενώ το μήκος κύματος, στο αντίθετο άκρο του φάσματος, στα μακρά κύματα με συχνότητα της τάξης των megahertz (MHz) μπορεί να είναι χιλιάδες χιλιόμετρα. Η ενέργεια του φωτονίου είναι άμεσα ανάλογη με τη συχνότητα των κυμάτων, επομένως τα φωτόνια ακτίνων γάμμα έχουν την υψηλότερη ενέργεια της τάξης των 10^9 eV , ενώ τα φωτόνια ραδιοκυμάτων έχουν πολύ χαμηλή ενέργεια της τάξης των $\text{feV} = 10^{-15} \text{ eV}$, με $1 \text{ eV} = 1.60217653(14) \times 10^{-19} \text{ J}$. Σχήμα 3.1 [30].

Ακτινοβολία	Μήκος κύματος	Συχνότητα	Ενέργεια φωτονίων
Gamma ray	less than 0.01 nm	more than 30 EHz	more than 124 keV
X-ray	0.01 nm – 10 nm	30 EHz – 30 PHz	124 keV – 124 eV
Ultraviolet	10 nm – 400 nm	30 PHz – 790 THz	124 eV – 3.3 eV
Visible	400 nm – 700 nm	790 THz – 430 THz	3.3 eV – 1.7 eV
Infrared	700 nm – 1 mm	430 THz – 300 GHz	1.7 eV – 1.24 meV
Microwave	1 mm – 1 meter	300 GHz – 300 MHz	1.24 meV – 1.24 μeV
Radio	1 meter – 100,000 km	300 MHz – 3 Hz	1.24 μeV – 12.4 feV
$\text{MHz}(\text{megahertz}) = 10^6 \text{ Hz}$ $\text{GHz}(\text{gigahertz}) = 10^9 \text{ Hz}$ $\text{THz}(\text{terahertz}) = 10^{12} \text{ Hz}$ $\text{PHz}(\text{petahertz}) = 10^{15} \text{ Hz}$ $\text{EHz}(\text{exahertz}) = 10^{18} \text{ Hz}$		$\text{nm}(\text{nanometer}) = 10^{-9} \text{ m}$ $\text{keV}(\text{kiloelectronvolt}) = 10^3 \text{ eV}$ $\text{meV}(\text{milielelectronvolt}) = 10^{-3} \text{ eV}$ $\mu\text{eV}(\text{microelectronvolt}) = 10^{-6} \text{ eV}$ $\text{feV}(\text{femptoelectronvolt}) = 10^{-15} \text{ eV}$	



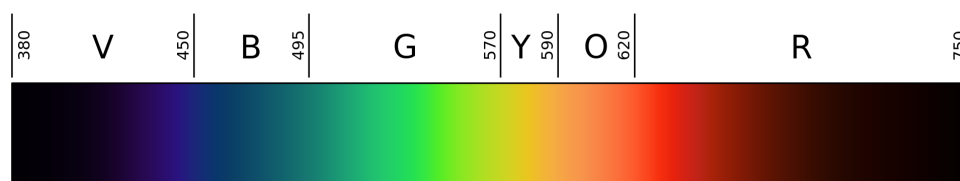
Σχήμα 3.1: Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα

Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα είναι το πλήρες φάσμα των μηκών κύματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, ξεκινώντας από τα ακραία κύματα με μήκος κύματος ως και $1000m$ και τα ραδιοκύματα με μήκος ως και $10m$. Στην συνέχεια αυξάνοντας την συχνότητα και μειώνοντας το μήκος κύματος, προχωράμε στα μικροκύματα, στην υπέρυθρη ακτινοβολία και στο ορατό φως, το οποίο αποτελεί ένα πολύ μικρό μέρος του φάσματος. Τέλος, συνεχίζουμε στο υπεριώδες, στις ακτίνες X και φτάνουμε μέχρι τις εξαιρετικά μικρές ακτίνες γάμμα, που δημιουργούνται λόγω ραδιενεργών ατόμων. Η φασματοσκοπία μπορεί να χρησιμοποιήσει σχεδόν όλα τα είδη ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας για τη μελέτη και το χαρακτηρισμό της ύλης.

Η ακτινοβολία αλληλεπιδρά με διάφορους τρόπους με την ύλη, είτε φυσικούς είτε χημικούς, όπως αναφέραμε και στην υποπαράγραφο 2.3.2. Για παράδειγμα, οι ακτίνες X μπορούν να προκαλέσουν μεταπτώσεις σε ηλεκτρόνια εσωτερικών στιβάδων, ενώ οι ακτίνες γάμμα αλλαγές μέσα στους πυρήνες των ατόμων. Επίσης, να σημειώσουμε πως η απορρόφηση της υπεριώδους ακτινοβολίας προκαλεί αλλαγές στη δόνηση των μορίων, ενώ η απορρόφηση της ορατής και της υπεριώδους ακτινοβολίας μεταβάλλει τις ενέργειες των χαλαρά κρατημένων εξωτερικών ηλεκτρονίων των ατόμων και των μορίων. Τέλος, η έκθεση στην ακτινοβολία ραδιοσυχνοτήτων χαμηλής ενέργειας σε ένα μαγνητικό πεδίο επαναπροσανατολίζει τους πυρήνες των μορίων, ενώ η έκθεση στην ακτινοβολία μικροκυμάτων ελαφρώς υψηλότερης ενέργειας αλλάζει την περιστροφική κίνηση (spin) των ηλεκτρονίων των μορίων με μη ζευγαρωμένα ηλεκτρόνια.

3.2.1 Φάσμα Ορατού Φωτός

Το ορατό φως ή απλά φως ονομάζεται έτσι αφού αυτό είναι που ανιχνεύεται από το ανθρώπινο μάτι με την όραση. Ένα φυσιολογικό ανθρώπινο μάτι ανταποκρίνεται σε μήκη κύματος από $380nm$ έως $740nm$. Το φάσμα δεν περιέχει όλα τα χρώματα που μπορεί να αντιληφθεί ο ανθρώπινος εγκέφαλος, διότι χρώματα, όπως το ματζέντα, απουσιάζουν από το φάσμα, αφού δημιουργούνται από τον συνδυασμό πολλών μηκών κύματος, και ονομάζονται ακόρεστα χρώματα. Τα χρώματα ενός μήκους κύματος ονομάζονται καθαρά χρώματα ή φασματικά χρώματα.



Σχήμα 3.2: Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα ορατού φωτός

Χρώμα	Μήκος κύματος	Συχνότητα	Ενέργεια φωτονίων
Ιώδες	380–450 nm	680–790 THz	2.95–3.10 eV
Κυανό	450–485 nm	620–680 THz	2.64–2.75 eV
Γαλάζιο	485–500 nm	600–620 THz	2.48–2.52 eV
Πράσινο	500–565 nm	530–600 THz	2.25–2.34 eV
Κίτρινο	565–590 nm	510–530 THz	2.10–2.17 eV
Πορτοκαλί	590–625 nm	480–510 THz	2.00–2.10 eV
Ερυθρό	625–740 nm	405–480 THz	1.65–2.00 eV

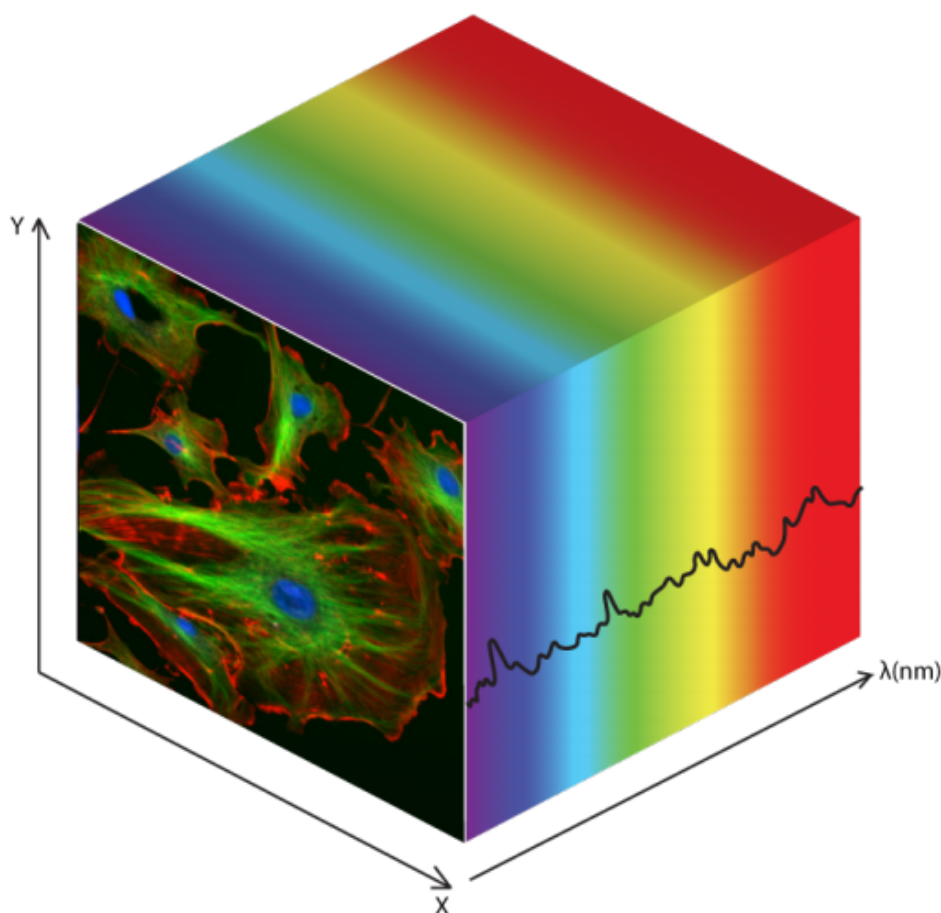
3.2.2 Φάσμα Υπέρυθρου Φωτός

Η υπέρυθη ακτινοβολία (infrared radiation - IR) αφορά το εύρος του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος με μήκη κύματος μεγαλύτερα από το ορατό φως. Το υπέρυθρο φως διαδέχεται το ορατό μετά τα ερυθρά χρώματα και έχει μήκος κύματος που ξεκινά από τα 700nm (με συχνότητα $f = 430$ THz) και φτάνει μέχρι τα 1000nm (με συχνότητα $f = 300$ GHz). Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα της υπέρυθρης ακτινοβολίας χωρίζεται επιπλέον στις εξής περιοχές:

- Κοντινό υπέρυθρο φως (Near Infrared -NIR), 700 - 1.000 nm.
- Μικρά υπέρυθρα κύματα (Short Wave Infrared - SWIR), 1.000 - 2.500 nm.
- Μεσαία υπέρυθρα κύματα (Mid Wave Infrared - MWIR), 3.000 - 5.000 nm.
- Μακρά υπέρυθρα κύματα (Long Wave Infrared - LWIR), 7.000 - 14.000 nm.

3.3 Υπερφασματικοί Κύβοι

Ένα σύστημα υπερφασματικής απεικόνισης (hyperspectral imager) δίνει την πληροφορία του φάσματος σε κάθε εικονοστοιχείο (pixel) σε ένα πίνακα δύο διαστάσεων (2D). Τα συστήματα υπερφασματικής απεικόνισης αποκτούν μια τρισδιάστατη (3D) δομή δεδομένων από φασματικές και χωρικές πληροφορίες (spectral and spatial information), γνωστό ως υπερφασματικό κύβο (hyperspectral cube). Ο υπερφασματικός κύβος είναι ουσιαστικά μια στοίβα εικόνων, κάθε μια από τις οποίες αφορά διαφορετικό μήκος κύματος. Σχήμα 3.3 [29]. Όπως αναφέραμε, το φως αλληλεπιδρά με το δέρμα με διάφορους τρόπους, όπως είναι η απορρόφηση, η σκέδαση κι ο φθορισμός. Το φασματόμετρο (spectrometer) καταγράφει την ένταση του φωτός που εκπέμπεται από το δέρμα ως συνάρτηση του μήκους κύματος [13].

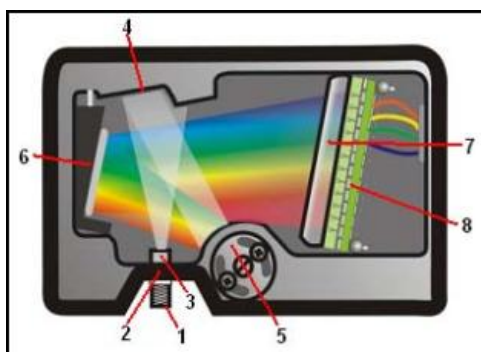


Σχήμα 3.3: Αναπαράσταση υπερφασματικού κύβου

Στην παρούσα εργασία οι υπερφασματικοί κύβοι ξεκινούν στα 420nm και φθάνουν έως τα 1000nm με βήμα 20nm. Στους αλγόριθμους, όπου γίνονται υπολογισμοί με μήκος κύματος που δεν υπάρχει στον κύβο επειδή βρίσκεται μεταξύ των βημάτων, χρησιμοποιούμε το αμέσως επόμενο μεγαλύτερο μήκος κύματος. Η φασματική πληροφορία των κύβων περιλαμβάνει το ορατό (visible) και το κοντινό υπέρυθρο (near- infrared NIR) μέρος του φάσματος (400–1000 nm).

3.4 Φασματόμετρο

Χρησιμοποιήθηκε το φασματόμετρο USB2000 Spectrometer της Ocean Optics. Εδώ μελετάμε τα επιμέρους στοιχεία που το αποτελούν και φαίνονται στο σχήμα 3.4. Το νούμερο 1 είναι ο SMA Connector, ο οποίος παρέχει ασφαλή σύνδεση της ίνας εισόδου του φωτός στο φασματόμετρο. Το νούμερο 2 ονομάζεται Slit κι είναι ένα σκοτεινό κομμάτι υλικού που περιέχει ένα ορθογώνιο διάφραγμα, τοποθετημένο ακριβώς πίσω από τον SMA Connector. Το μέγεθος του διαφράγματος ρυθμίζει την ποσότητα του φωτός που εισέρχεται στο οπτικό μέσο (optical bench) και ελέγχει τη φασματική ανάλυση. Το νούμερο 3 είναι το σημείο όπου μπορεί να τοποθετηθεί ένα φίλτρο, που περιορίζει την οπτική ακτινοβολία σε προκαθορισμένες περιοχές μήκους κύματος. Στο συγκεκριμένο φασματόμετρο τοποθετούνται δύο οπτικά φίλτρα: το φίλτρο που επιτρέπει να περάσουν μόνο τα μεγάλα μήκη κύματος (longpass wavelengths), δηλαδή το υπεριώδες, το ορατό και το υπέρυθρο (ultraviolet, visible, or infrared) και το φίλτρο που επιτρέπει μόνο μια συγκεκριμένη ζώνη μήκους κύματος (bandpass wavelengths). Το νούμερο 4 είναι ένα κάτοπτρο ευθυγράμμισης (Collimating Mirror), το οποίο ευθυγραμμίζει το εισερχόμενο στο φασματόμετρο φως προς το νούμερο 5. Το νούμερο 5 είναι ένα πλέγμα περίθλασης (Grating), το οποίο διαθλά το φως σε αρκετές δέσμες διαφορετικών κατευθύνσεων προς το νούμερο 6. Το νούμερο 6 είναι το κάτοπτρο εστίασης (Focusing Mirror), το οποίο εστιάζει το φως προς τον ανιχνευτή CCD υπεριώδους ή ορατού (CCD Detector UV or VIS). Ανάλογα με τη διαμόρφωση του φασματόμετρου, μπορεί να υπάρχει το νούμερο 7, ένας ανιχνευτικός φακός συλλογής L2 (L2 Detector Collection Lens), που είναι προαιρετικός και συνδέεται με τον CCD σε περιπτώσεις όπου το νούμερο 2 έχει μεγάλη διάμετρο ή σε εφαρμογές με χαμηλό επίπεδο φωτισμού. Στην συνέχεια είναι το νούμερο 8, ο ανιχνευτής CCD υπεριώδους ή ορατού (CCD Detector UV or VIS), ο οποίος συλλέγει το φως που λαμβάνεται από το κάτοπτρο εστίασης (Focusing Mirror) ή από τον ανιχνευτικό φακό συλλογής L2 (L2 Detector Collection Lens) και μετατρέπει το οπτικό σήμα σε ψηφιακό σήμα. Κάθε εικονοστοιχείο (pixel) στον ανιχνευτή CCD (CCD Detector UV or VIS) ανταποκρίνεται στο μήκος κύματος του φωτός που προσπίπτει στην επιφάνειά του δημιουργώντας μια ψηφιακή απάντηση. Στη συνέχεια το φασματόμετρο μεταδίδει το ψηφιακό σήμα στην εφαρμογή της Ocean Optics [14].

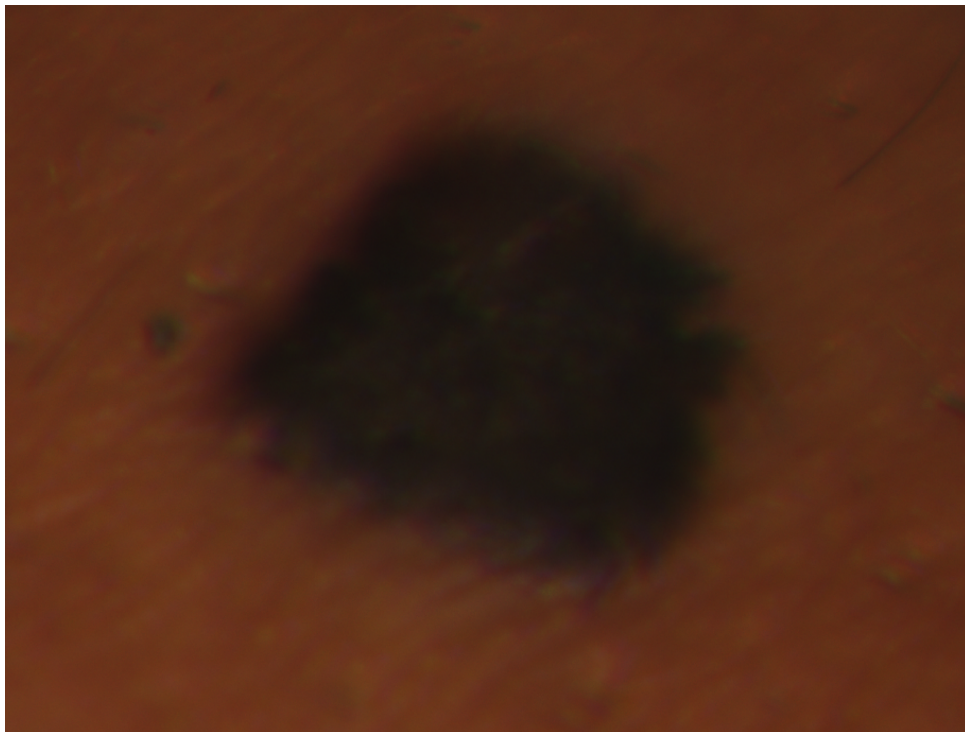


Σχήμα 3.4: Το φασματόμετρο USB2000 Spectrometer και τα στοιχεία του.

Κεφάλαιο 4

Αλγόριθμοι

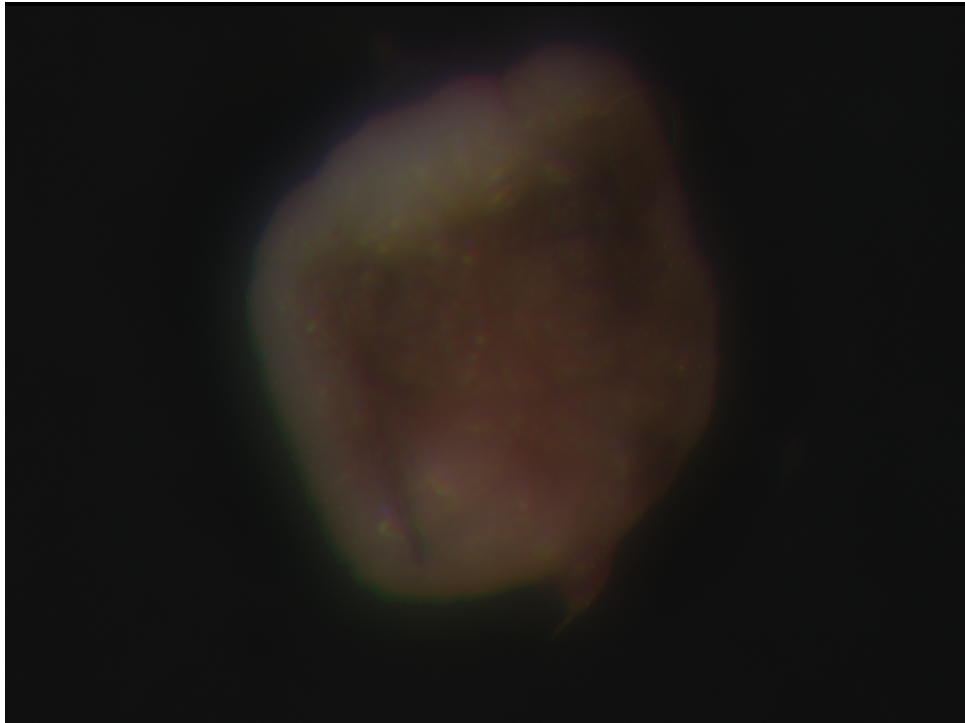
Στόχος μας είναι μετά την εφαρμογή των αλγορίθμων να μπορέσουμε εύκολα με τον ψευδοχρωματισμό να βγάλουμε ένα αξιόπιστο αποτέλεσμα. Για την εφαρμογή των αλγορίθμων χρησιμοποιούνται υπερφασματικοί κύβοι από σπίλους. Συγκεκριμένα, από τον πρώτο ασθενή (patient 1) εξετάζεται ένα μελάνωμα (melanoma) για το οποίο γνωρίζουμε ότι πρόκειται για έναν δυσπλαστικό συνδεσμικό σπίλος (μελάνωμα) με πάχος 1.500μm και διάχυτη κατανομή μελανίνης στο συνδεσμικό και στο χοριακό στοιχείο.



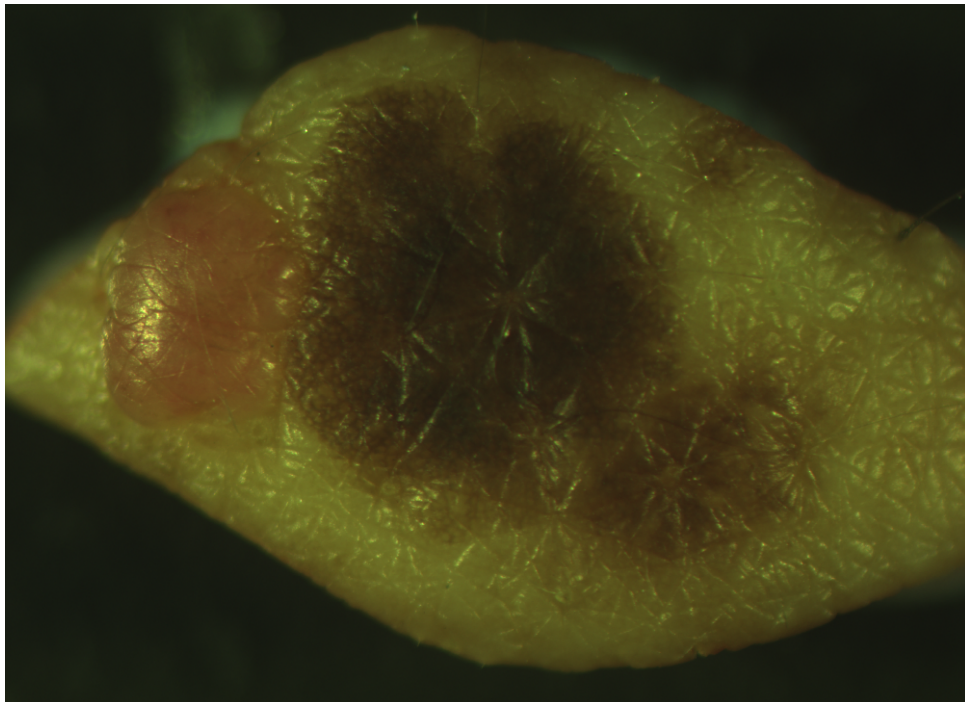
Σχήμα 4.1: Patient 1 Melanoma

Από τον ασθενή 2 (patient 2) ως και τον ασθενή 8 (patient 8) εξετάζονται δυσπλαστικοί σπίλοι (dysplastic nevi). Από τον ασθενή 9 (patient 9) εξετάζεται ένας συνδεσμικός σπίλος (junctional nevus) και από τον

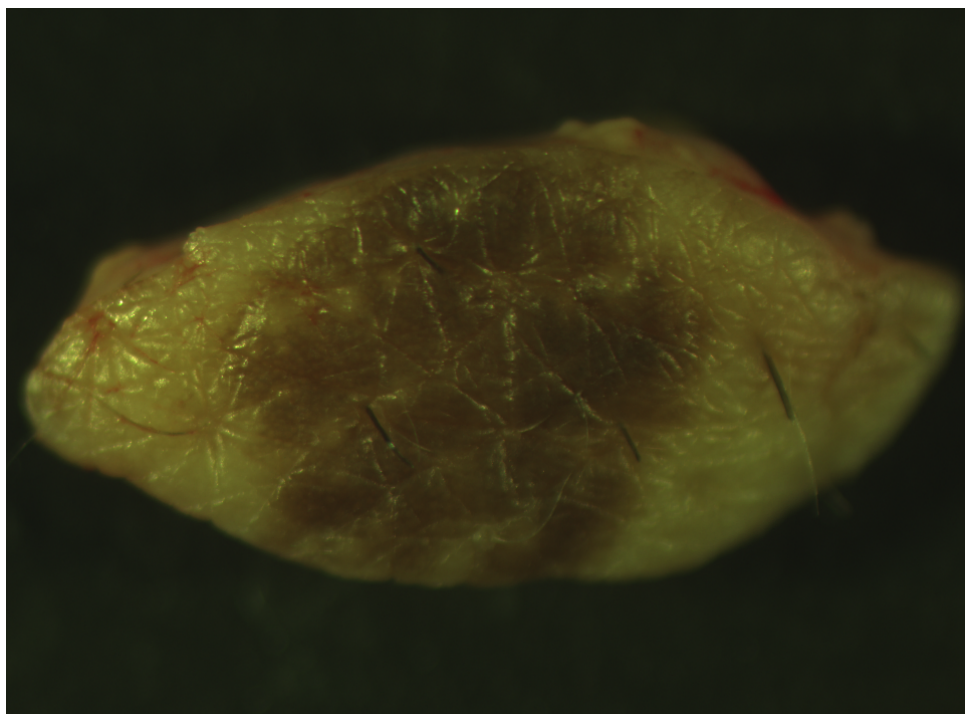
ασθενή 10 (patient 10) ως τον ασθενή 18 (patient 18) εξετάζονται μεικτοί σπίλοι (compound nevi). Παρακάτω παρουσιάζονται μερικοί από τους σπίλους σε έγχρωμη εικόνα, ώστε να γίνει καλύτερα αντιληπτό το φόντο, η αντανάκλαση της επιφάνειάς του, καθώς και το περίγραμμα των σπύλων, η εστίαση του φακού και κάποιες λεπτομέρειες, όπως είναι οι τρίχες, η δυσχρωμία κι οι ρυτίδες.



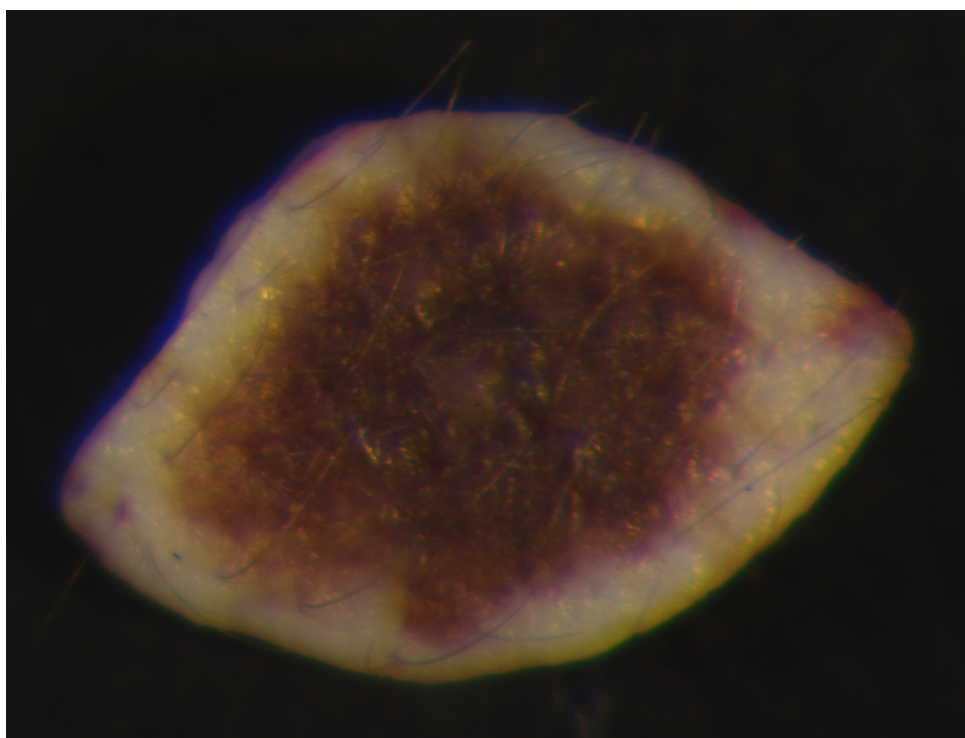
Σχήμα 4.2: Patient 2 Dysplastic nevus



Σχήμα 4.3: Patient 4 Dysplastic nevus

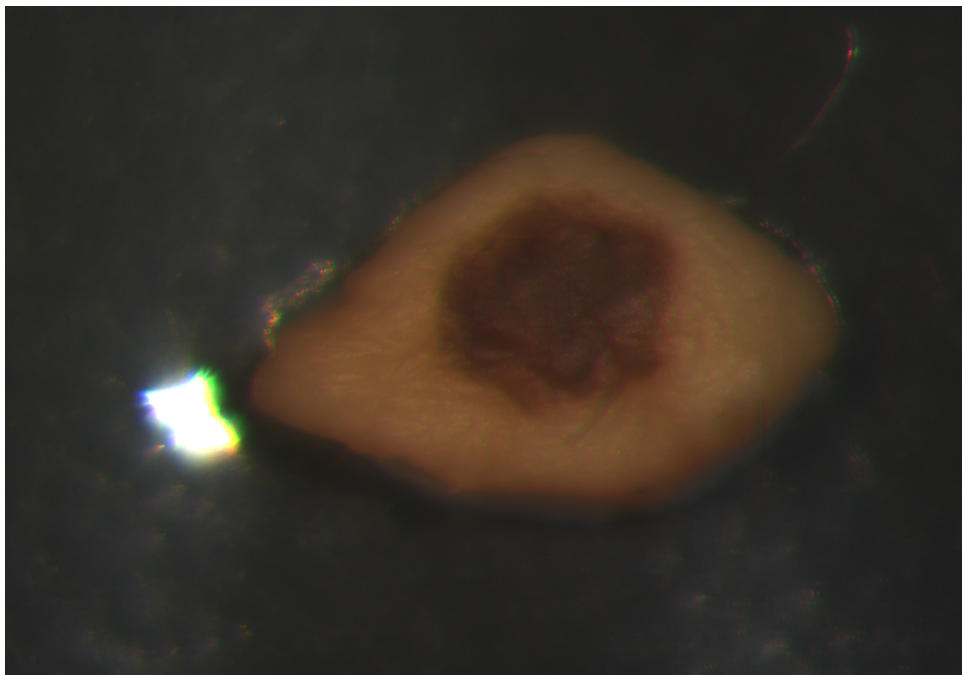


Σχήμα 4.4: Patient 5 Dysplastic nevus



Σχήμα 4.5: Patient 7 Dysplastic nevus

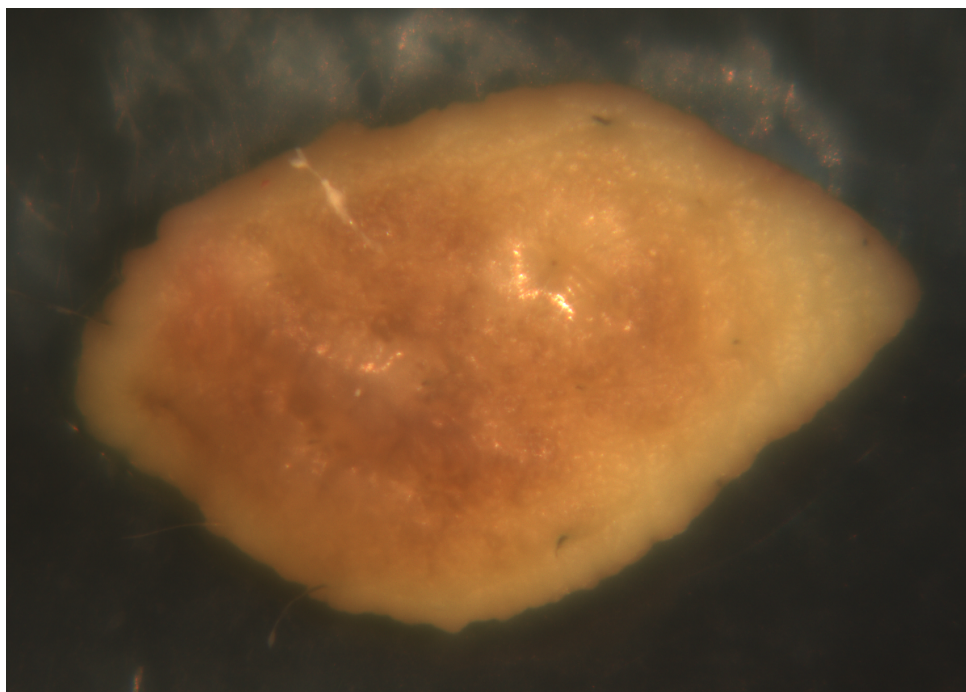
Να σημειωθεί ότι εκτός από τον υπερφασματικό κύβο του μελανώματος όπου υπάρχει δέρμα γύρω από το μελάνωμα, στους υπόλοιπους φασματικούς κύβους η χρήσιμη πληροφορία περιορίζεται εντός των ορίων των σπύλων. Αυτό προκαλεί μια αναστάτωση στα αποτελέσματα, καθώς ο ψευδοχρωματισμός δεν μπορεί να είναι συγκρίσιμος μεταξύ του εσωτερικού του εκάστοτε σπύλου με το περιβάλλον φυσιολογικό δέρμα, με εξαίρεση το μελάνωμα. Επίσης, θα πρέπει να ληφθεί υπόψιν ότι ο ψευδοχρωματισμός διαφέρει ανάλογα με τον φωτισμό του αντικειμένου, μια παράμετρος που διορθώνεται εν μέρει με την βαθμονόμηση εικόνας (image calibration), και, επιπλέον, διαφέρει από άνθρωπο σε άνθρωπο ανάλογα με την χρωματική απόχρωση του φυσιολογικού δέρματός του.



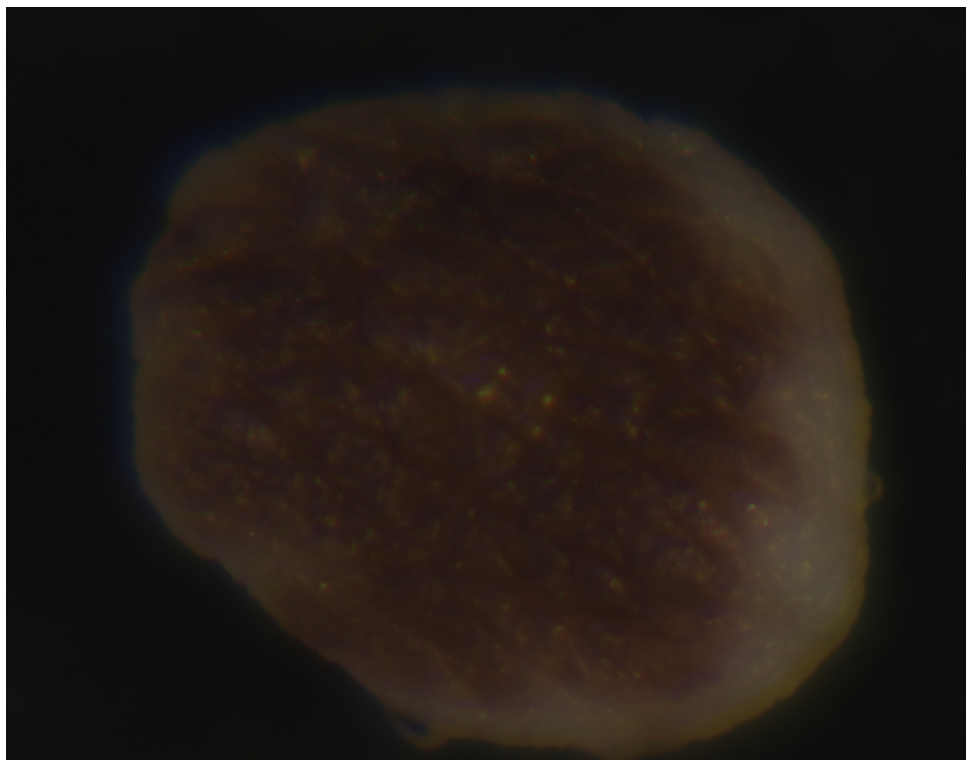
Σχήμα 4.6: Patient 10 Compound nevus

Άλλα μειονεκτήματα των φασματικών κύβων που χρησιμοποιούνται είναι πως ο καθένας ξεχωριστά χρειάζεται ευθυγράμμιση των εικόνων του (image registration) από τα διάφορα μήκη κύματος. Αυτό δημιουργεί περιγράμματα χωρίς πληροφορία, δηλαδή μαύρα εικονοστοιχεία, τα οποία πρέπει να αφαιρεθούν διότι μέσα από τους αλγόριθμους, οι οποίοι περιέχουν λογάριθμους, δημιουργούνται εικονοστοιχεία με άπειρη τιμή, δηλαδή ίση με \inf , προκαλώντας λανθασμένα αποτελέσματα και χαρτογράφηση.

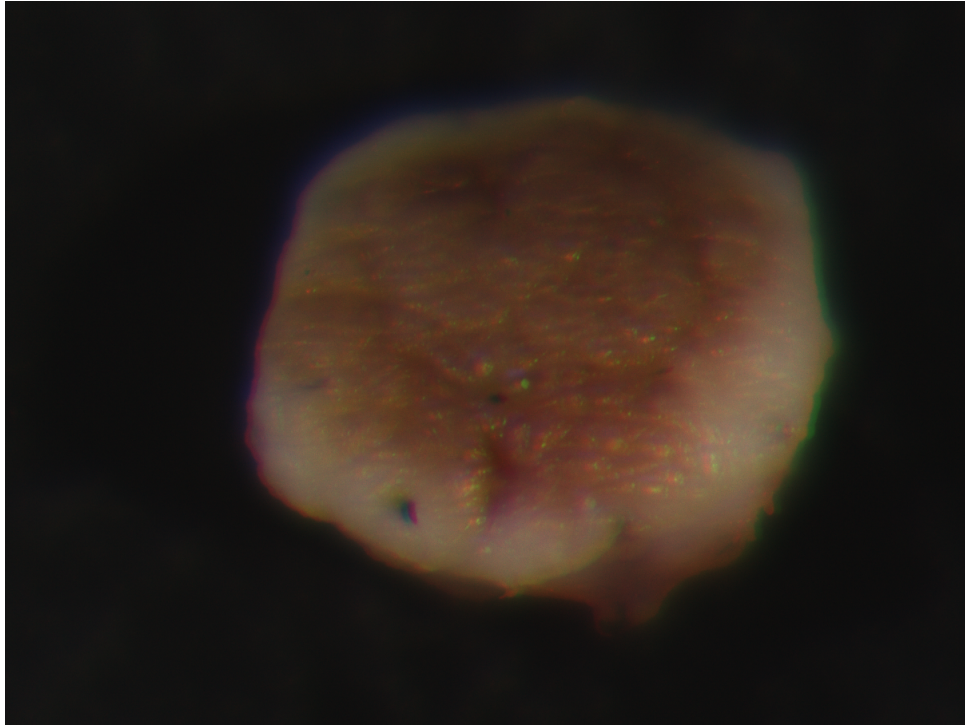
Οι αλγόριθμοι επιλέγονται βάσει συμπερασμάτων προηγούμενων εργασιών. Αρχικά, σε διπλωματική εργασία, η οποία διεξήχθη στο εργαστήριο Ηλεκτρονικής από την κ.Τσολάκη, εξετάσθηκε η επαναληψιμότητα αλγορίθμων ποσοτικού προσδιορισμού χρωμοφόρων βάσει της τυπικής απόκλισης (standard deviation), αξιόλογη μέτρηση για δύο μεταβλητές ίδιων μονάδων και σχεδόν ίσων μέσων τιμών, και βάσει του συντελεστή μεταβλητότητας (coefficient of variation), για μεταβλητές με διαφορετικές μέσες τιμές. Ανάμεσα στους 13 αλγόριθμους των Dawson, Feather, Ferguson-Pell, Hajizadeh-Saffar, Diffey,



Σχήμα 4.7: Patient 15 Compound nevus



Σχήμα 4.8: Patient 17 Compound nevus



Σχήμα 4.9: Patient 18 Compound nevus

Kollias-Baqer, Dolotov, Maglinski-Matcher, Wagner Jeniffer, Cotton Moncrieff, Sabine Van Huffel και το Erythema/Melanin Meter, εξήχθη το συμπέρασμα ότι για τον υπολογισμό της μελανίνης ομοιογένεια παρουσιάζει ο αλγόριθμος της Jennifer Wagner και για τον προσδιορισμό της αιμοσφαιρίνης αυτός του Shimada-Yamada, στα 546nm για την οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης (oxy-Hb) και στα 566nm για την μη-οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης (deoxy-Hb).

Ένας ακόμη αξιόλογος αλγόριθμος, που εφαρμόστηκε στην εργασία, είναι ο Melanoma - Nevus Differentiation, λόγω της σπουδαιότητάς του για τον διαχωρισμό σπύλων και μελανωμάτων.

4.1 Jennifer Wagner

4.1.1 Υπολογισμός melanin index (Mindex)

Η Jennifer Wagner (2002) [16] αναλύει πώς έγινε η επεξεργασία των μετρήσεων σε ένα δείγμα 397 εθελοντών πάνω στην συγκέντρωση της μελανίνης στο δέρμα, χρησιμοποιώντας το φασματόμετρο DermaSpectrometer. Η μέτρηση της συγκέντρωσης της μελανίνης περιλαμβάνει το melanin (M) index, το CIElab lightness metric (L^*) και το adjusted melanin (AM) index.

Ο δείκτης melanin index (Mindex) είναι αυτό που καθορίζεται απευθείας από το φασματόμετρο και σε αυτόν επικεντρωνόμαστε, αφού σκοπός μας είναι να εξάγουμε συμπεράσματα όσο απλούστερα και γρηγορότερα γίνεται απευθείας από τις εικόνες του φασματόμετρου.

Το φασματόμετρο DermaSpectrometer έχει την κόκκινη δίοδο κεντραρισμένη στα 655nm με μισό πλάτος (half width) 30nm, οπότε ο δείκτης Mindex υπολογίζεται από έναν σταθμισμένο μέσο όρο των δεδομένων από την ποσοστιαία ανάκλαση PR (percent reflectance) στα 640, 650, 660 και 670 nm χρησιμοποιώντας τους μαθηματικούς τύπους:

$$Eqn1 = \frac{(PR_{650nm} + PR_{660nm} + \frac{1}{2}PR_{640nm} + \frac{1}{2}PR_{670nm})}{3} \div 100$$

$$Mindex = 100 \times \log_{10} \frac{1}{Eqn1}$$

Να αναφέρουμε πως η ποσοστιαία ανάκλαση PR (percent reflectance) σε ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος υπολογίζεται από την συσχέτιση της ανάκλασης του αντικειμένου του ενδιαφέροντός μας σε αυτό το μήκος κύματος προς την ανάκλαση του λευκού σε αυτό το μήκος κύματος. Γίνεται μια συσχέτιση, λοιπόν, της ανακλαστικότητας του αντικειμένου με τη μέγιστη δυνατή ανακλαστικότητα.

Κυρίαρχες χρωμοφόρες στα μήκη κύματος που επιλέγονται είναι η αιμοσφαιρίνη και η μελανίνη, με επικρατέστερη την μελανίνη, όπως είδαμε στο σχήμα 2.7. Για την εύρεση του Mindex επιλέγονται εικόνες από το εύρος φάσματος από 640nm έως 680nm, διότι η συγκέντρωση της μελανίνης, αν και χαρακτηρίζεται από μια γνήσιως φθίνουσα συμπεριφορά, επικρατεί σε αυτό το εύρος φάσματος σε σχέση με την συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης, που παρουσιάζει απότομη μείωση.

Συνεπώς, ύστερα από την αλγοριθμική επεξεργασία στο λογισμικό Matlab, τα αποτελέσματα εμφανίζουν μαύρες τις περιοχές με μηδενικό Mindex, οι οποίες, στην συνέχεια, εφαρμόζοντας τον ψευδοχρωματισμό, χρωματίζονται κυανές. Οι περιοχές που καταγράφονται ως πιο φωτεινές ακόμα και άσπρες, είναι αυτές που εμφανίζουν μέγιστο Mindex, οι οποίες, με την εφαρμογή του ψευδοχρωματισμού, εμφανίζονται ως ερυθρές.

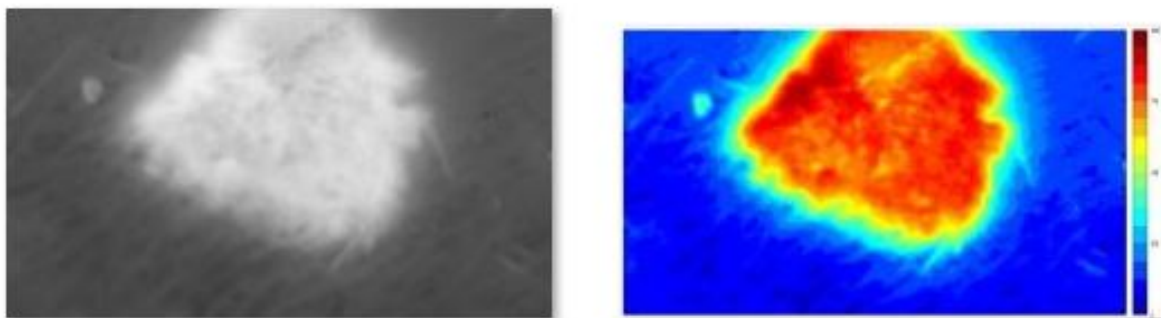
Επίσης, προσδιορίστηκε η φαινομενική απορρόφηση AA(apparent absorbance), για όλες τις μετρήσεις ανάκλασης σε κάθε αύξηση των 10 nm, ως ο λογάριθμος του λόγου της ανάκλασης του λευκού προς το αντικείμενο του ενδιαφέροντός μας, δηλαδή για παράδειγμα στα 580 nm:

$$AA_{580nm} = \log_{10} \left(\frac{PR_{580nm}Blank}{PR_{580nm}Object} \right)$$

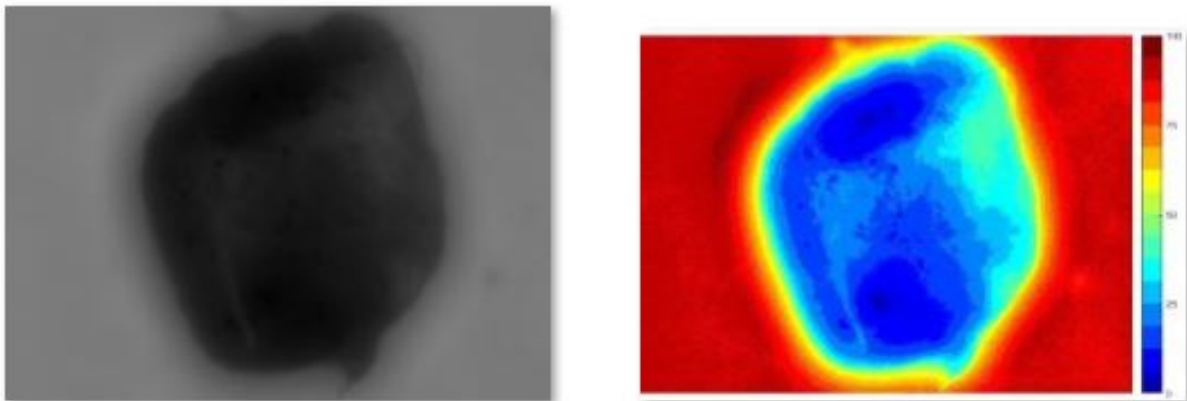
4.1.2 Αποτελέσματα αλγοριθμικής επεξεργασίας για την εύρεση του Mindex υπερφασματικών κύβων 18 σπίλων

Παρακάτω φαίνονται αναλυτικά τα αποτελέσματα του αλγορίθμου για κάθε ασθενή (patient). Οι ασπρόμαυρες εικόνες είναι τα πρότυπα αποτελέσματα του αλγορίθμου και οι έγχρωμες είναι τα αποτελέσματα ύστερα από ψευδοχρωματισμό με την παλέτα 16-χρωμάτων jet του λογισμικού Matlab.

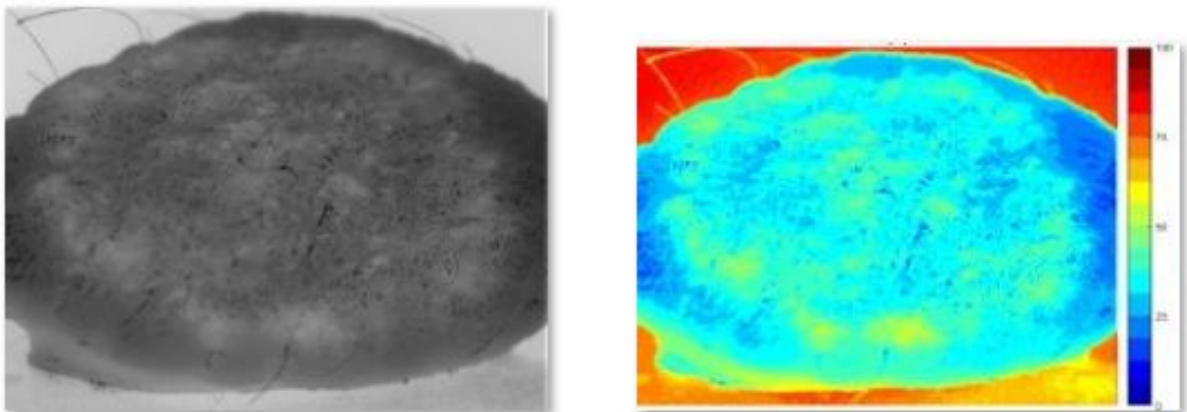
Ο ψευδοχρωματισμός, που φαίνεται παρακάτω, λαμβάνει υπόψιν το μέγιστο και το ελάχιστο της εκάστοτε εικόνας. Το μέγιστο απεικονίζεται με σκούρο κόκκινο και το ελάχιστο με σκούρο μπλε. Υπάρχουν επιπλέον επεξεργασίες, όπως ο ψευδοχρωματισμός των αποτελεσμάτων λαμβάνοντας υπόψιν την πληροφορία για την μέγιστη και την ελάχιστη τιμή από τα αποτελέσματα όλων των ασθενών (full dataset). Τα αποτελέσματα αυτά δεν είναι ιδιαίτερα αξιόλογα, επειδή υπάρχει μεγάλη διακύμανση στις τιμές από ασθενή σε ασθενή. Έτσι, ο ψευδοχρωματισμός σε ολόκληρη τη βάση δεδομένων δεν μπορεί να εκμεταλλευτεί όλη την κλίμακα των χρωμάτων στην κάθε εικόνα και, συνεπώς, χάνεται πληροφορία. Το ίδιο συνέβη και με τον ψευδοχρωματισμό με την χειροκίνητη επιλογή ορίων για κάθε χρώμα (manual color thresholds). Είναι σημαντικό να τονίσουμε πως οι διαφορές στον φωτισμό από σπίλο σε σπίλο, δεν μας δίνουν την δυνατότητα ικανοποιητικής σύγκρισης μεταξύ των σπίλων, ενώ η έλλειψη δέρματος γύρω από τους σπίλους δεν μας δίνει την δυνατότητα σύγκρισης του εσωτερικού του σπίλου με το περιβάλλον φυσιολογικό δέρμα, με εξαίρεση το μελάνωμα του ασθενή 1.



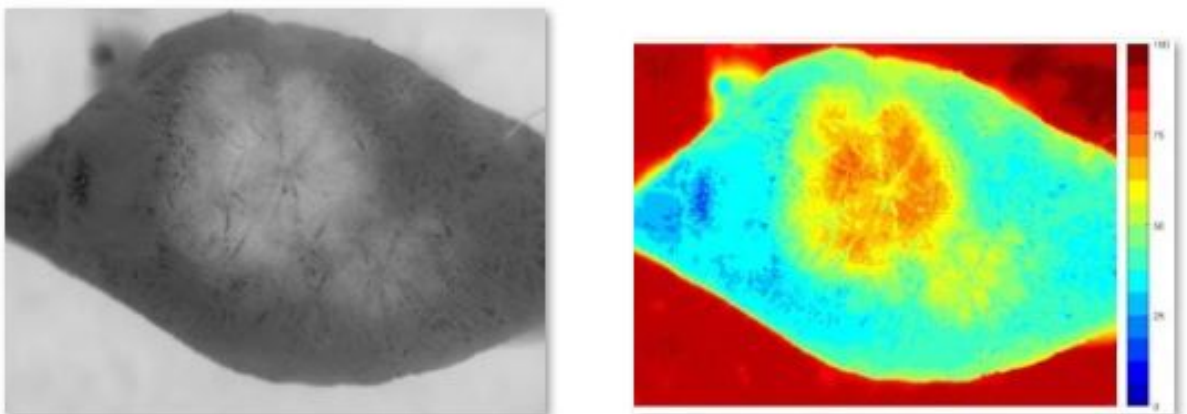
Σχήμα 4.10: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 1 Melanoma



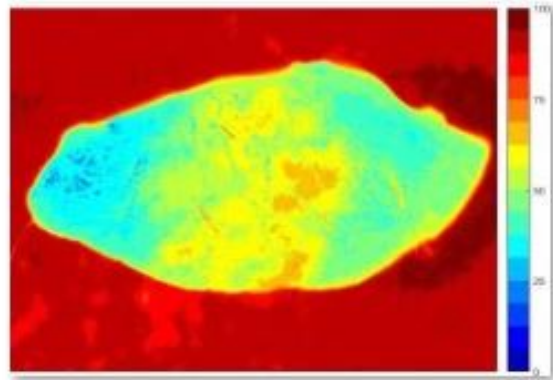
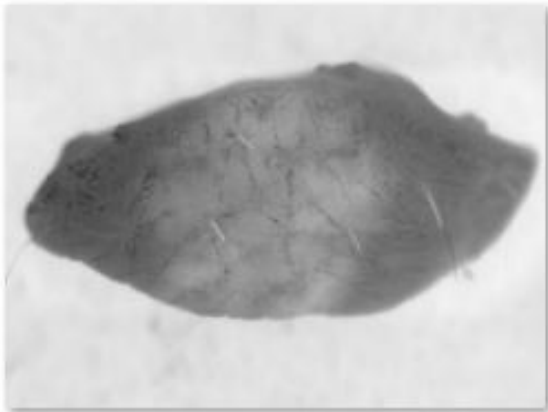
Σχήμα 4.11: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 2 Dysplastic



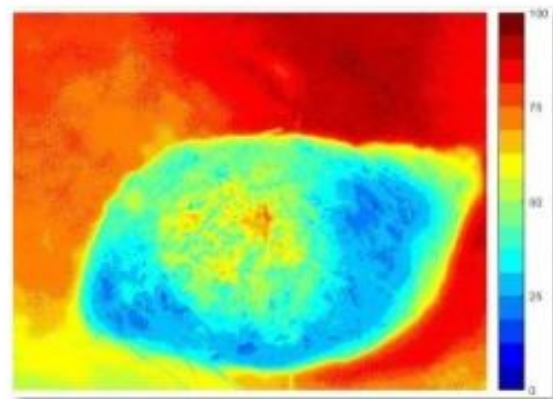
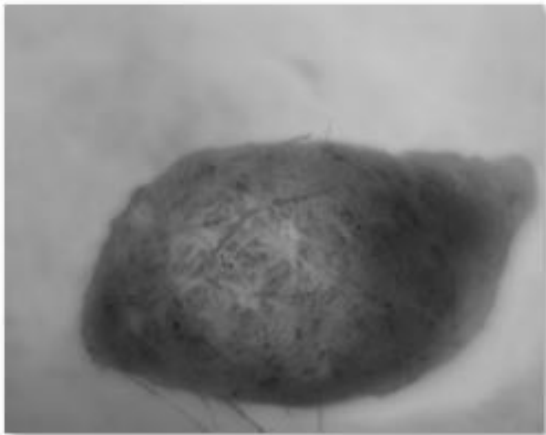
Σχήμα 4.12: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 3 Dysplastic



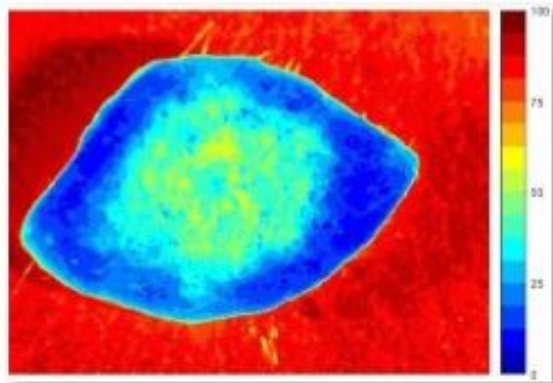
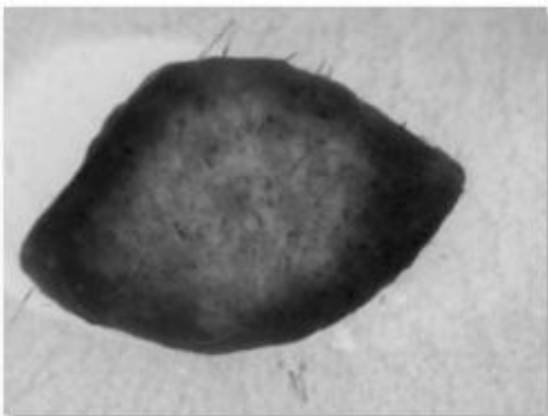
Σχήμα 4.13: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 4 Dysplastic



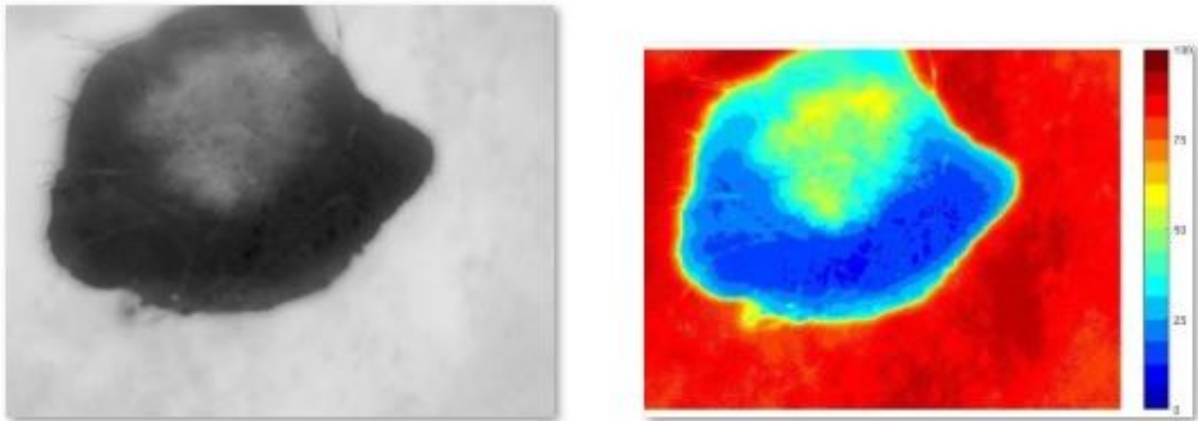
Σχήμα 4.14: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 5 Dysplastic



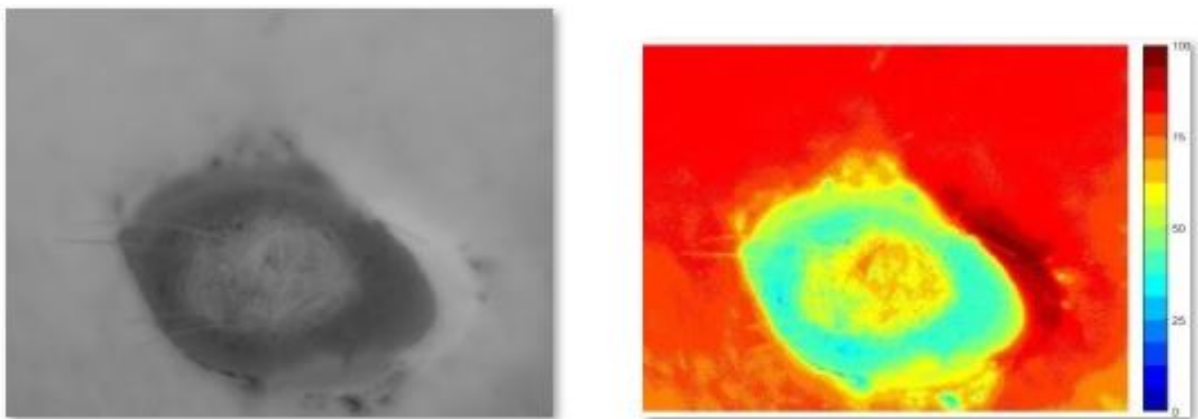
Σχήμα 4.15: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 6 Dysplastic



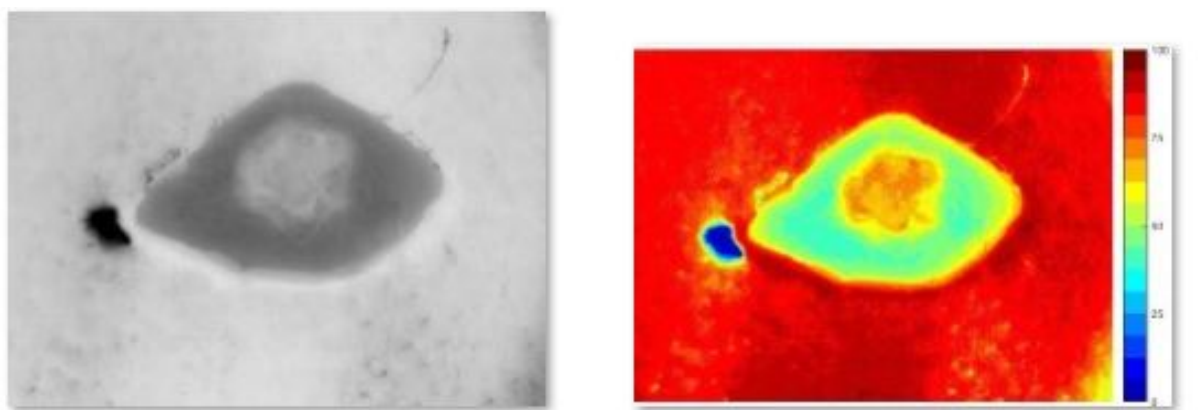
Σχήμα 4.16: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 7 Dysplastic



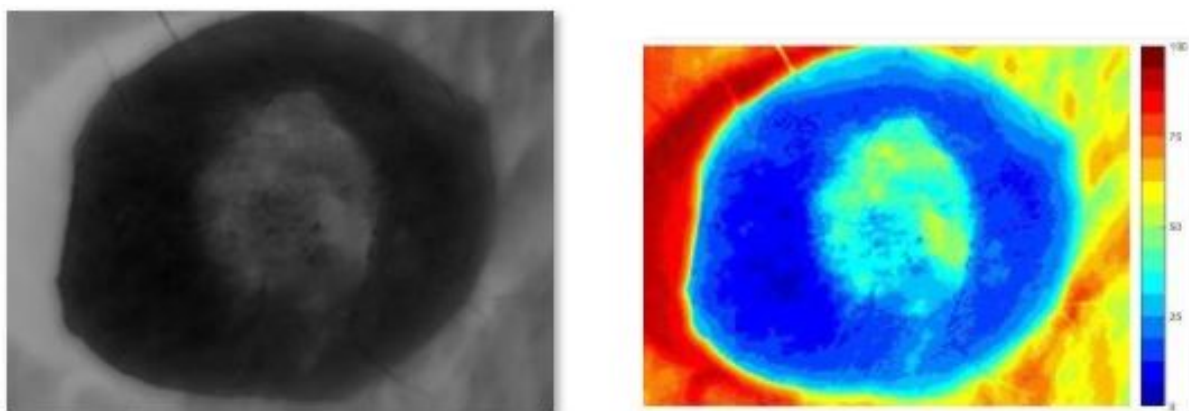
Σχήμα 4.17: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 8 Dysplastic



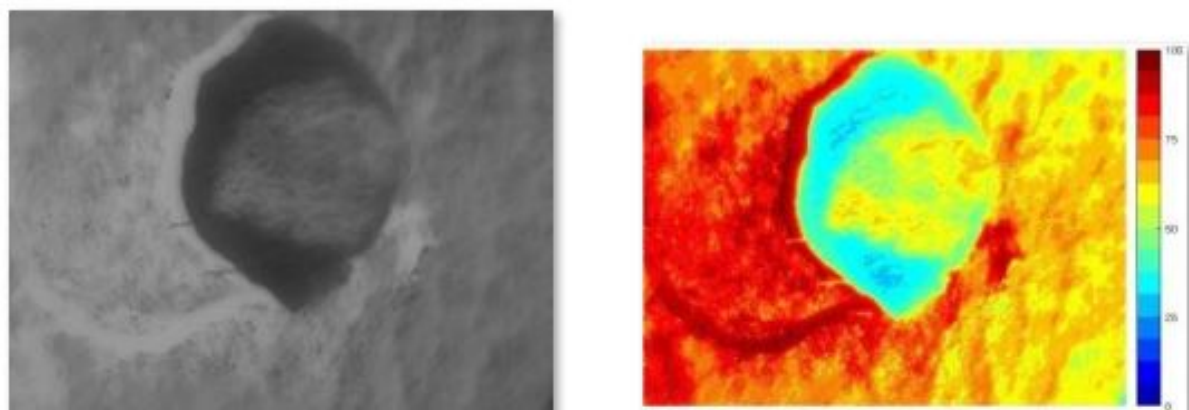
Σχήμα 4.18: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 9 Junctional



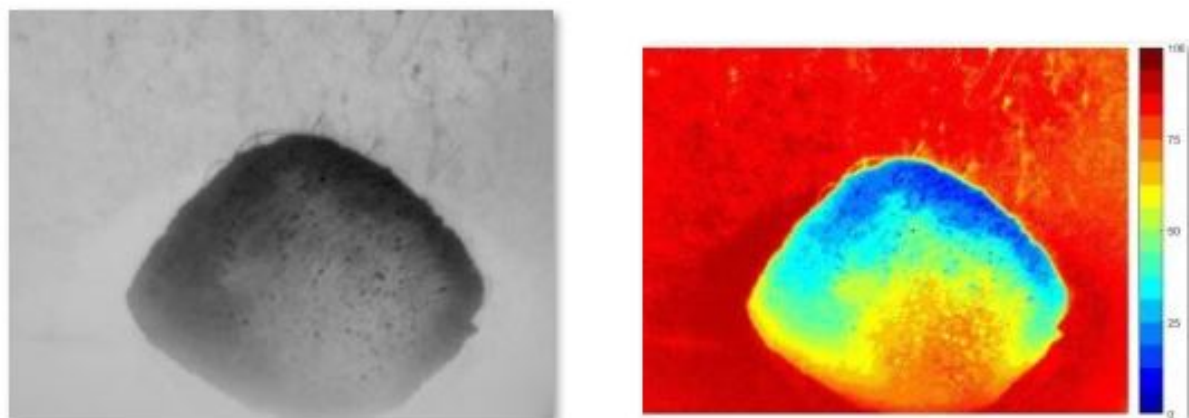
Σχήμα 4.19: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 10 Compound



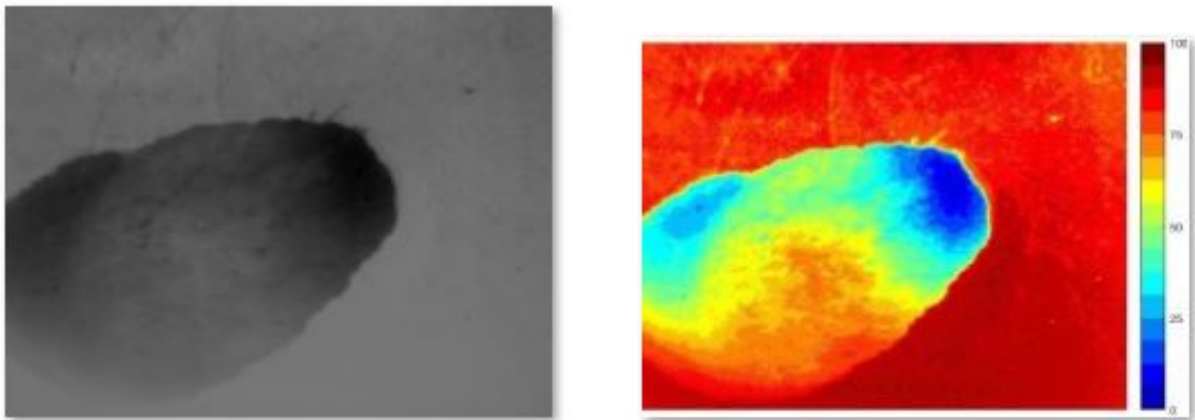
Σχήμα 4.20: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 11 Compound



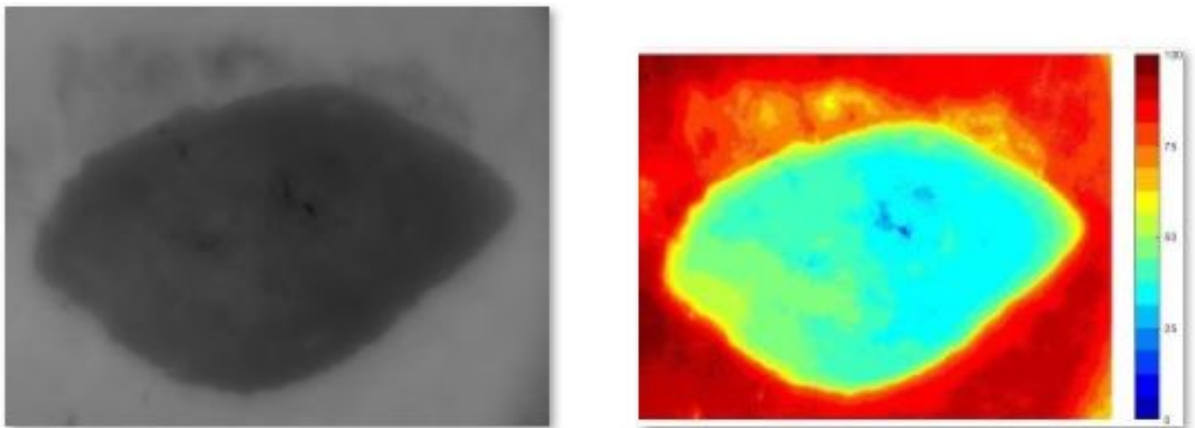
Σχήμα 4.21: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 12 Compound



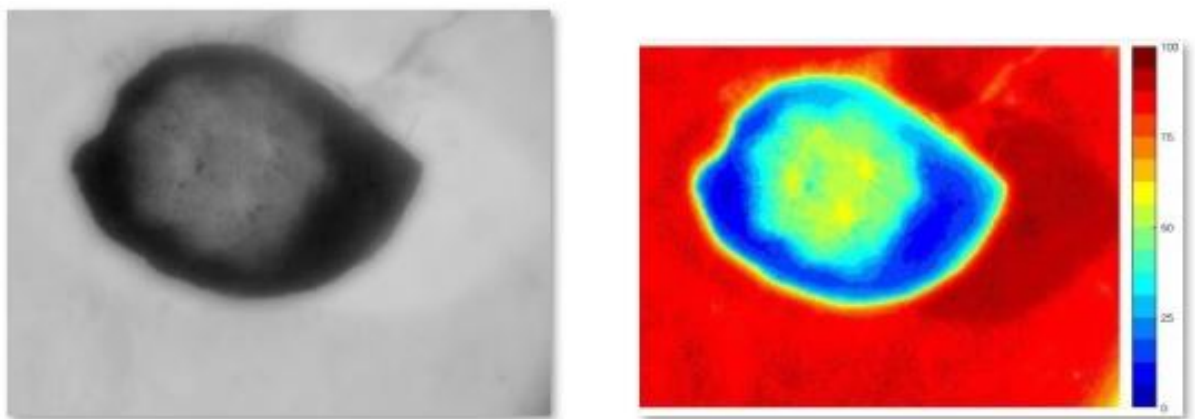
Σχήμα 4.22: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 13 Compound



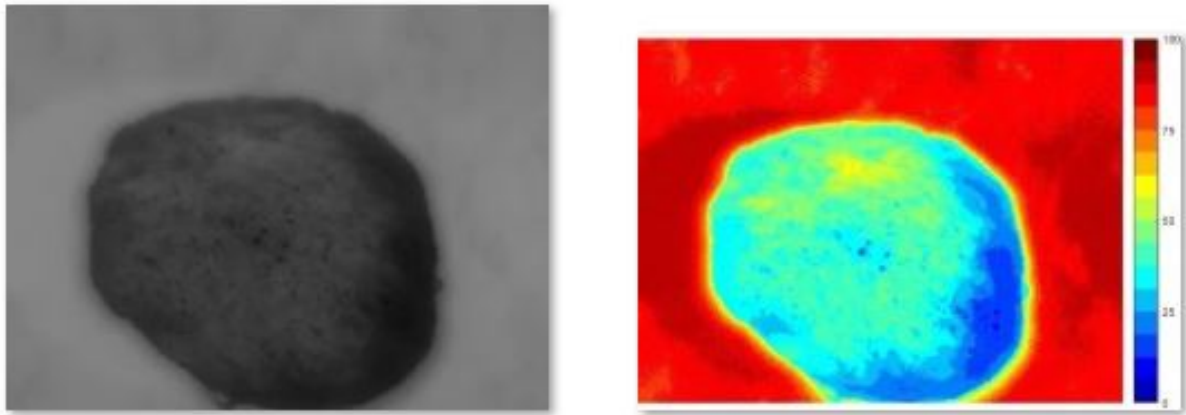
Σχήμα 4.23: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 14 Compound



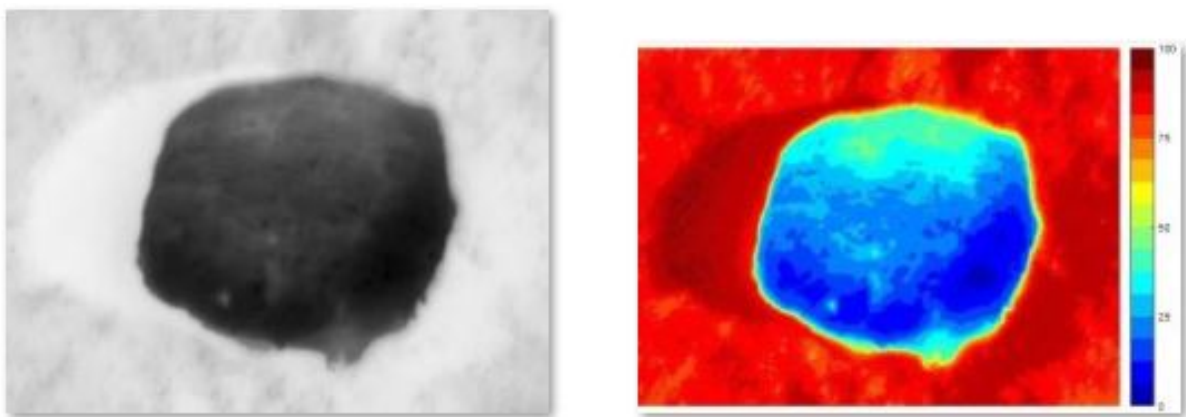
Σχήμα 4.24: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 15 Compound



Σχήμα 4.25: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 16 Compound



Σχήμα 4.26: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 17 Compound



Σχήμα 4.27: Jennifer Wagner - Mindex: Patient 18 Compound

Στον ασθενή 1 με το μελάνωμα 4.10 παρατηρούμε έντονη ανομοιομορφία στην κατανομή της μελανίνης, με αυτήν να συγκεντρώνεται περισσότερο στην πάνω αριστερή μεριά με μια μικρή επέκταση προς το κέντρο και στο κέντρο της δεξιάς μεριάς.

Στην συνέχεια εξετάζουμε δυσπλαστικούς σπίλους, οι οποίοι συνήθως μοιάζουν με κακήθες μελάνωμα, αφού είναι μεγαλύτεροι από τους κοινούς σπίλους, τα όρια τους όμως είναι σαφή και το χρώμα ποικίλει από ροζ έως σκούρο καφέ. Στον ασθενή 2 έχουμε μεγαλύτερη συγκέντρωση μελανίνης στις γαλάζιες περιοχές σε σχέση με τις σκούρες μπλε. Αντίστοιχα, στον ασθενή 3 μέγιστη είναι η συγκέντρωση στις κίτρινες αλλά και στις γαλάζιες περιοχές. Με το ίδιο σκεπτικό, στον ασθενή 4 μέγιστη συγκέντρωση έχουμε στην περιοχή με κόκκινο και κίτρινο χρώμα. Το ίδιο και στους ασθενείς 5 και 6 με μέγιστο να έχουν τα σημεία με κόκκινο και κίτρινο, ενώ στους ασθενείς 7 και 8 μέγιστο είναι τα σημεία με κίτρινο και γαλάζιο.

Οι συνδεσμικοί σπίλοι βρίσκονται μεταξύ επιδερμίδας και χορίου, σκουρόχρωμοι συνήθως, ενώ μπορεί να αποτελούνται από συνδυασμό χρωμάτων. Ο ασθενής 9 έχει έναν συνδεσμικό μελανοκυτταρικό σπίλο πάχους 800μm με διάχυτη κατανομή. Υψηλή συγκέντρωση μελανίνης παρατηρούμε στο κέντρο του συνδεσμικού στοιχείου, όπου ο ψευδοχρωματισμός δίνει κόκκινο και κίτρινο.

Τέλος, οι μεικτοί σπίλοι αποτελούνται από μια κεντρική προεξέχουσα περιοχή που περιτριγυρίζεται από μια επίπεδη σκουρόχρωμη επιφάνεια. Προέρχονται από έναν προϋπάρχον συνδεσμικό που διογκώθηκε στο κέντρο του, παρουσιάζοντας έντονη σκούρα καφέ χρώση. Στους ασθενείς 10, 11, 12 και 16 φαίνεται καθαρά η αύξηση της μελανίνης στην διόγκωση που παρουσιάζεται στο κέντρο των σπίλων. Σε αυτούς που δεν είναι τόσο εμφανής η διόγκωση είναι πιθανό να οφείλεται ο φωτισμός την ώρα της λήψης του υπερφασματικού κύβου.

4.1.3 Υπολογισμός erythema index (Eindex)

Στην συνέχεια αναλύεται, αντίστοιχα, ο αλγόριθμος που αφορά την αιμοσφαιρίνη και μετράει το ερύθημα (erythema), δηλαδή το πόση αιμοσφαιρίνη έχει το δέρμα, άρα και το πόσο ερυθρό δείχνει.

Η μέτρηση της συγκέντρωσης της μελανίνης περιλαμβάνει το erythema (E) index, το CIElab red-green metric (a^*) και το adjusted erythema (AE) index. Καθώς ο στόχος του Eindex είναι να ποσοτικοποιήσει μόνο την απορρόφηση του φωτός που προκαλείται από τη οξυγονωμένη και τη μη οξυγονωμένη αιμοσφαιρίνη, η απορρόφηση της μελανίνης στα αντίστοιχα μήκη κύματος πρέπει να ληφθεί υπόψιν.

Το φασματόμετρο DermaSpectrometer έχει την πράσινη δίοδο κεντραρισμένη στα 568nm με μισό πλάτος (half width) 30nm, οπότε ο δείκτης Eindex υπολογίζεται από έναν σταθμισμένο μέσο όρο των δεδομένων από την ποσοστιαία ανάκλαση PR (percent reflectance) στα 560, 570 και 580 nm χρησιμοποιώντας τους ακόλουθους τύπους:

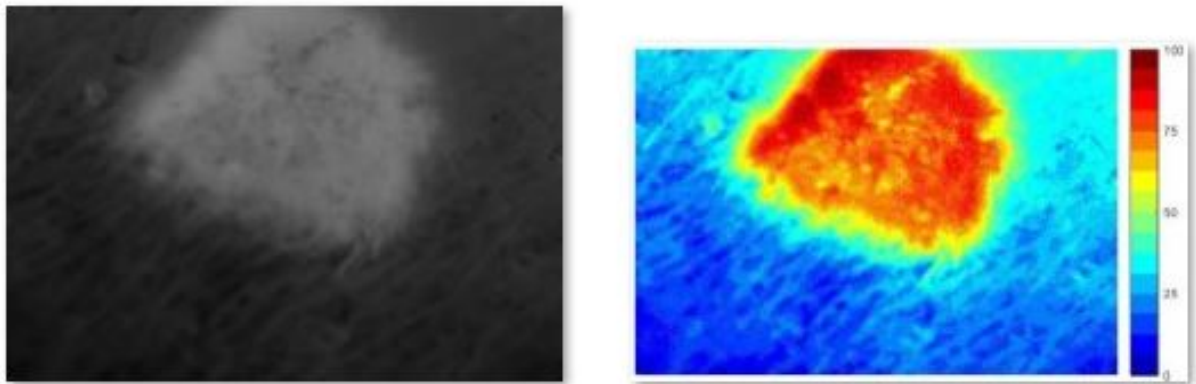
$$Eqn3 = \frac{(PR_{570nm} + \frac{1}{2}PR_{560nm} + \frac{1}{2}PR_{580nm})}{2} / 100$$

$$Eindex = 100 \times \log_{10} \left(\frac{1}{Eqn3} - \frac{1}{Eqn1} \right)$$

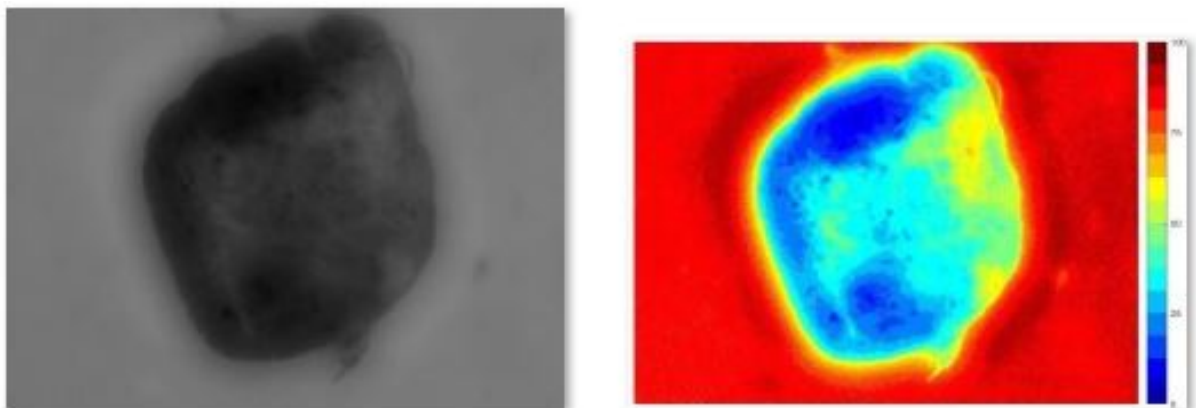
4.1.4 Αποτελέσματα αλγοριθμικής επεξεργασίας για την εύρεση του Eindex υπερφασματικών κύβων 18 σπίλων

Παρακάτω φαίνονται αναλυτικά τα αποτελέσματα του αλγορίθμου για κάθε ασθενή. Οι ασπρόμαυρες εικόνες είναι τα πρότυπα αποτελέσματα του αλγορίθμου και οι έγχρωμες είναι τα αποτελέσματα ύστερα από ψευδοχρωματισμό με την παλέτα 16-χρωμάτων jet του λογισμικού Matlab. Υπενθυμίζεται ότι εκτός από τον υπερφασματικό κύβο του μελανώματος που έχει δέρμα γύρω από το μελάνωμα, στους υπόλοιπους υπερφασματικούς κύβους η χρήσιμη πληροφορία περιορίζεται εντός των ορίων των σπίλων.

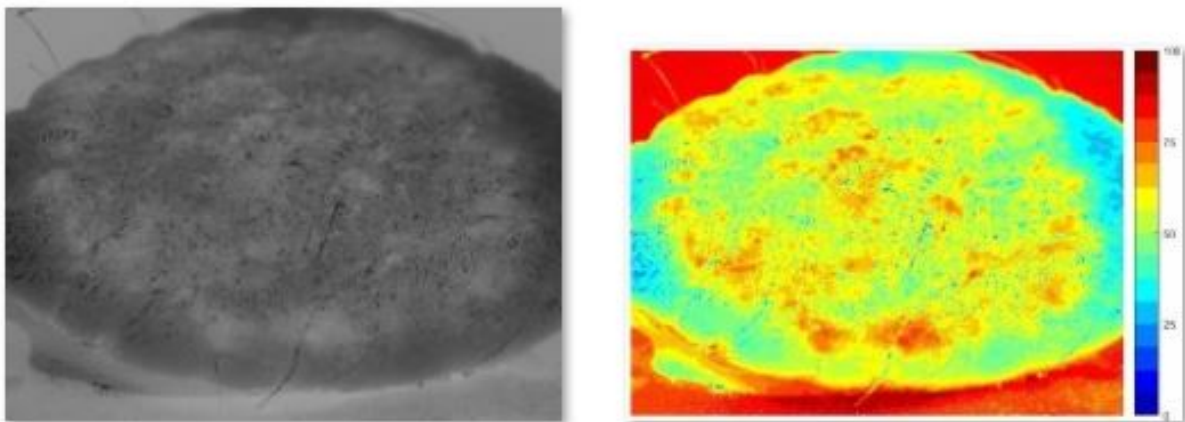
Συνεπώς, περιμένουμε οι φωτογραφίες να δείξουν περισσότερη αιμοσφαιρίνη εντός του μελανώματος σε σχέση με το δέρμα γύρω του, ενώ στους υπόλοιπους σπύλους βλέπουμε την διακύμανση της αιμοσφαιρίνης εντός του περιγράμματός του καθενός, με το Eindex να έχει την ελάχιστη τιμή στο μαύρο και τον ψευδοχρωματισμό να γίνεται κυανό, ενώ έχει την μέγιστη τιμή στις πιο ανοιχτόχρωμες περιοχές με ερυθρό ψευδοχρωματισμό.



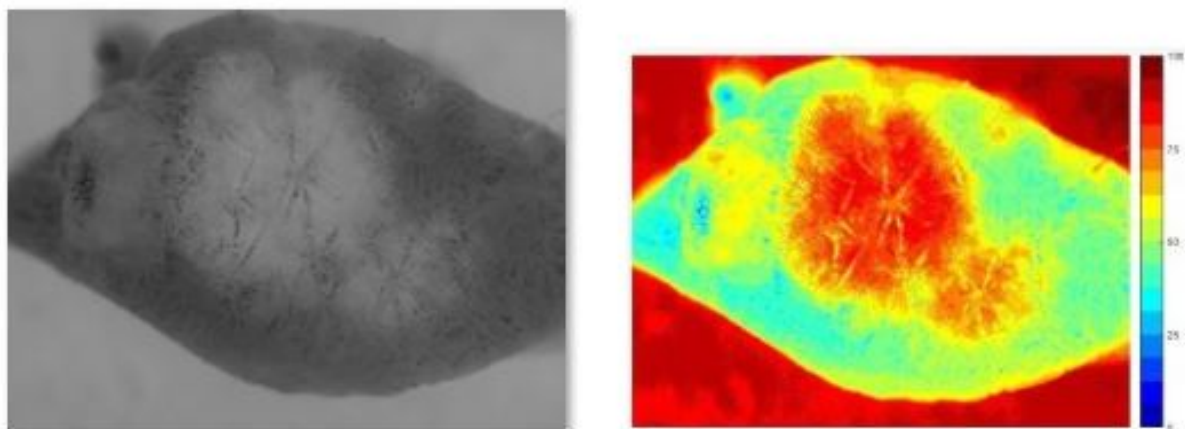
Σχήμα 4.28: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 1 Melanoma



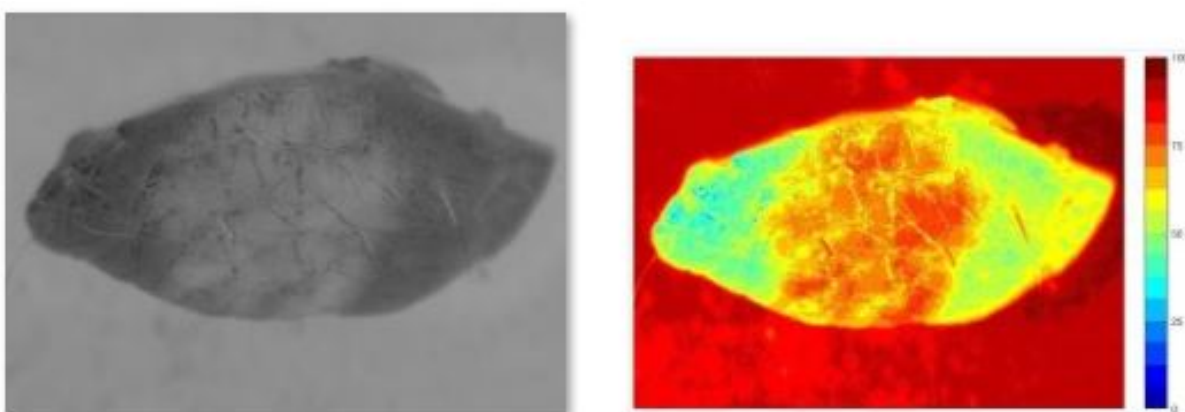
Σχήμα 4.29: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 2 Dysplastic



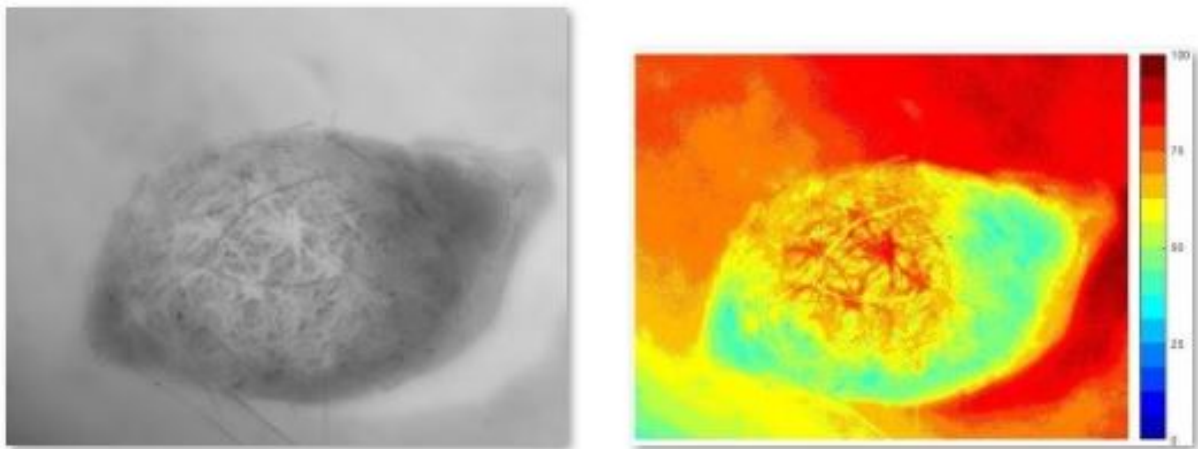
Σχήμα 4.30: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 3 Dysplastic



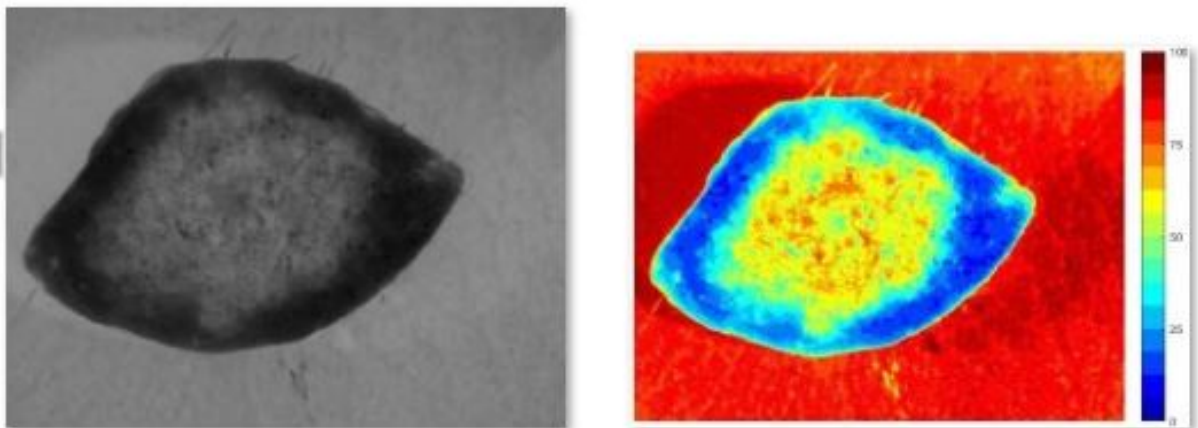
Σχήμα 4.31: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 4 Dysplastic



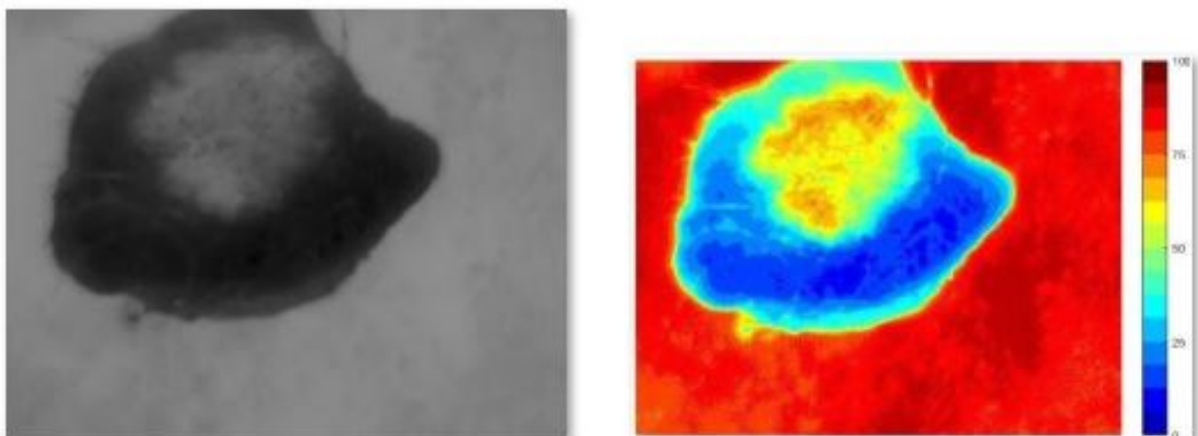
Σχήμα 4.32: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 5 Dysplastic



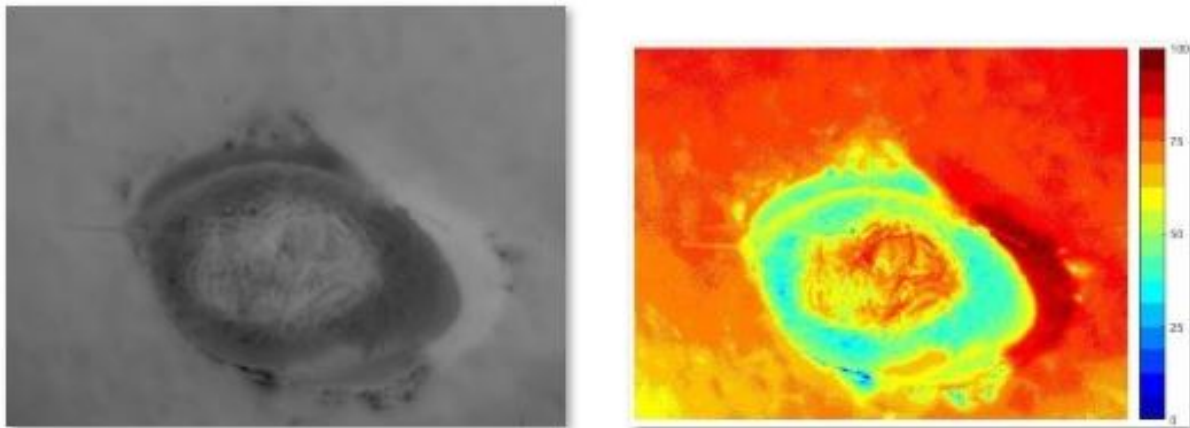
Σχήμα 4.33: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 6 Dysplastic



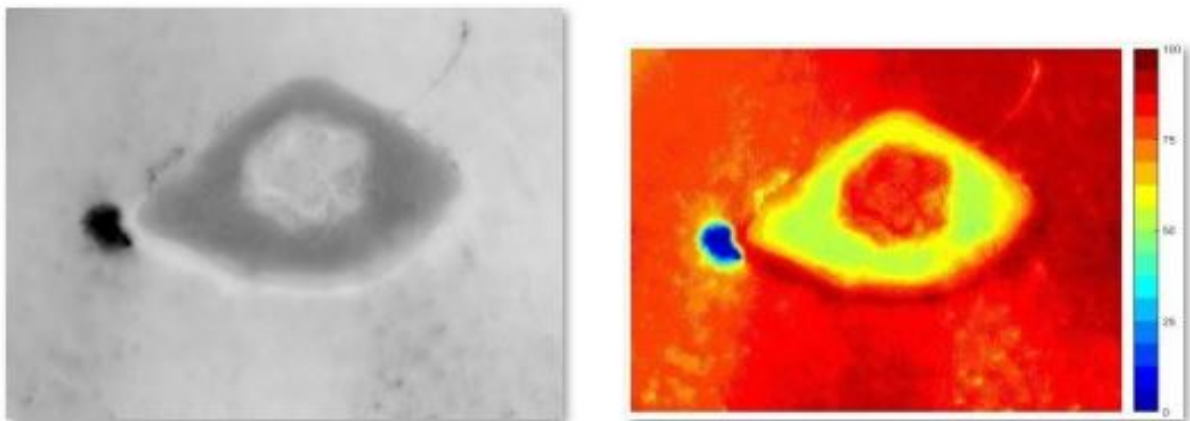
Σχήμα 4.34: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 7 Dysplastic



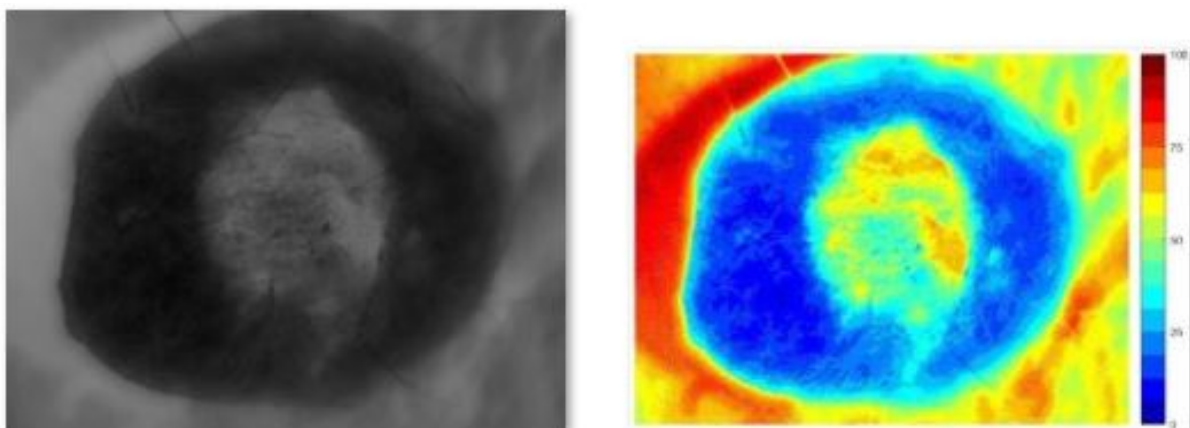
Σχήμα 4.35: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 8 Dysplastic



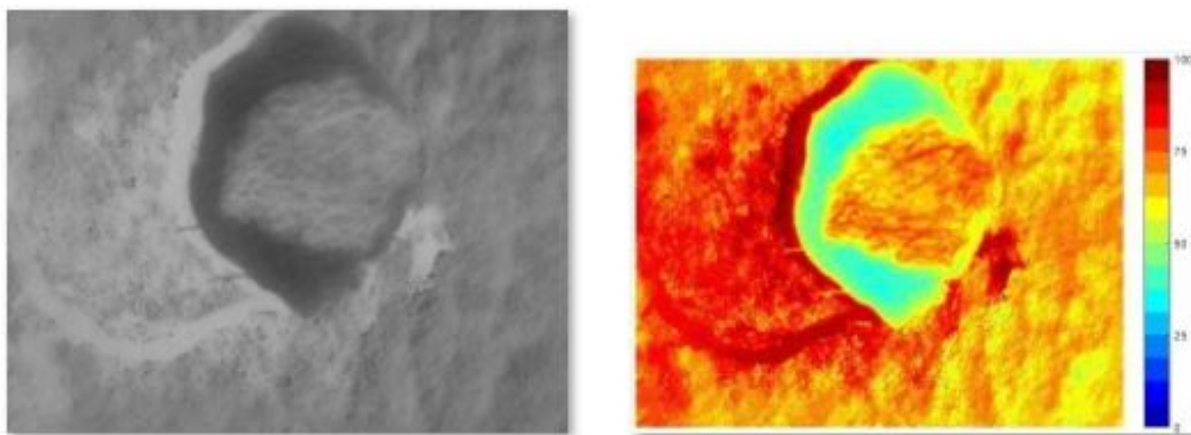
Σχήμα 4.36: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 9 Junctional



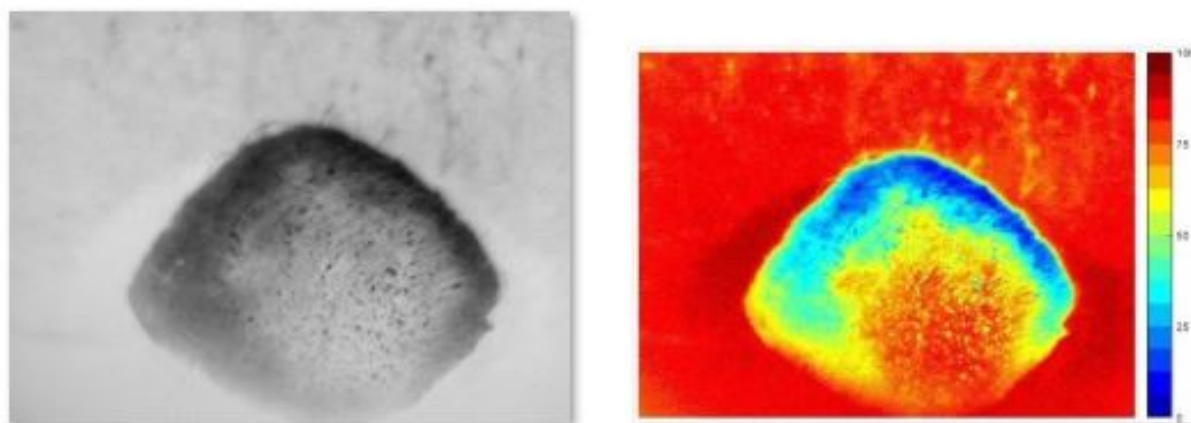
Σχήμα 4.37: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 10 Compound



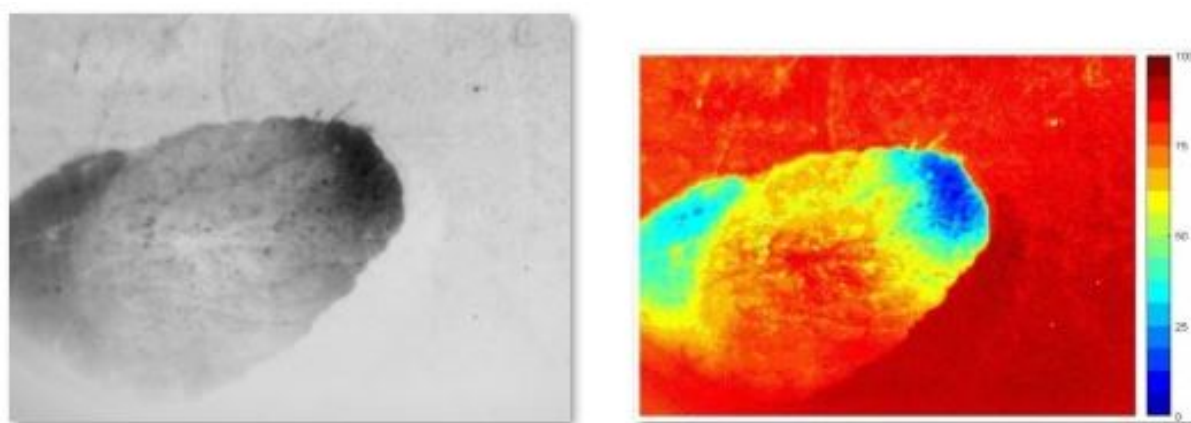
Σχήμα 4.38: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 11 Compound



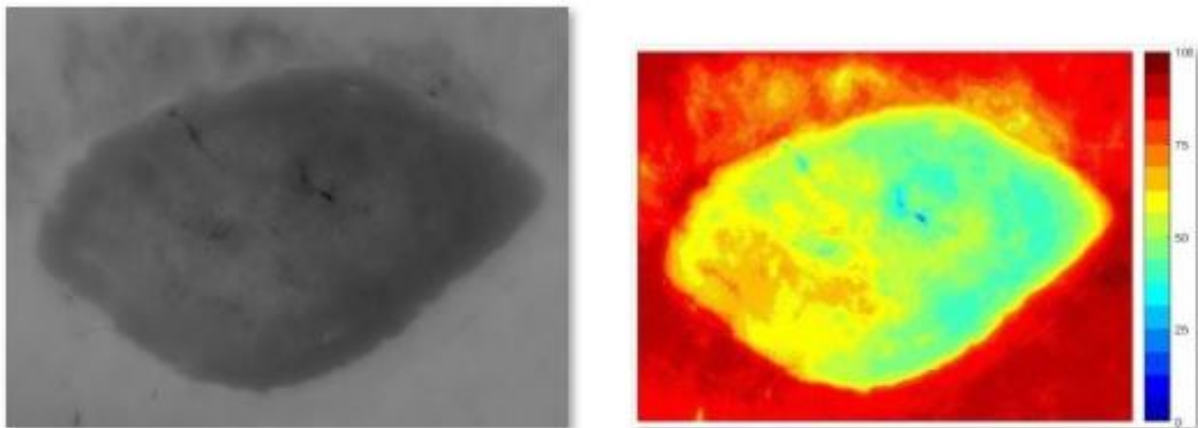
Σχήμα 4.39: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 12 Compound



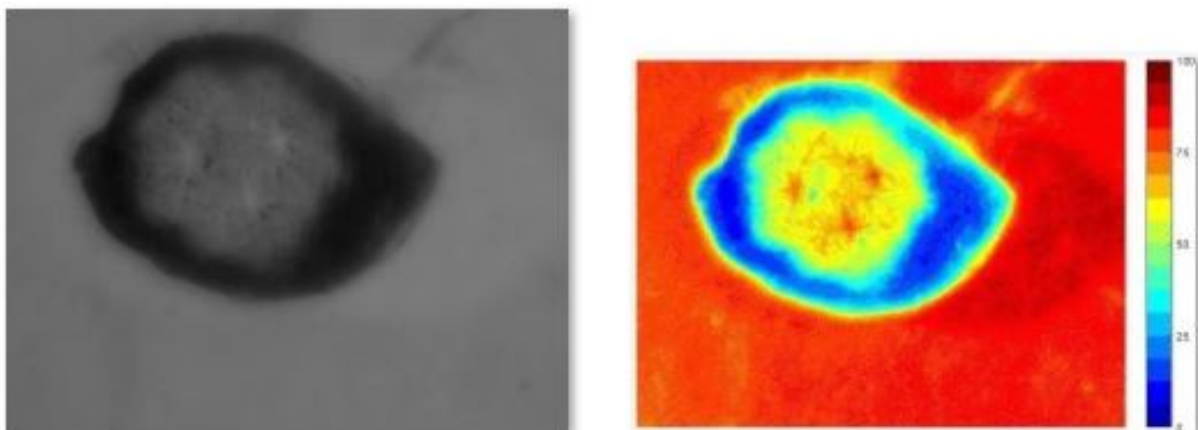
Σχήμα 4.40: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 13 Compound



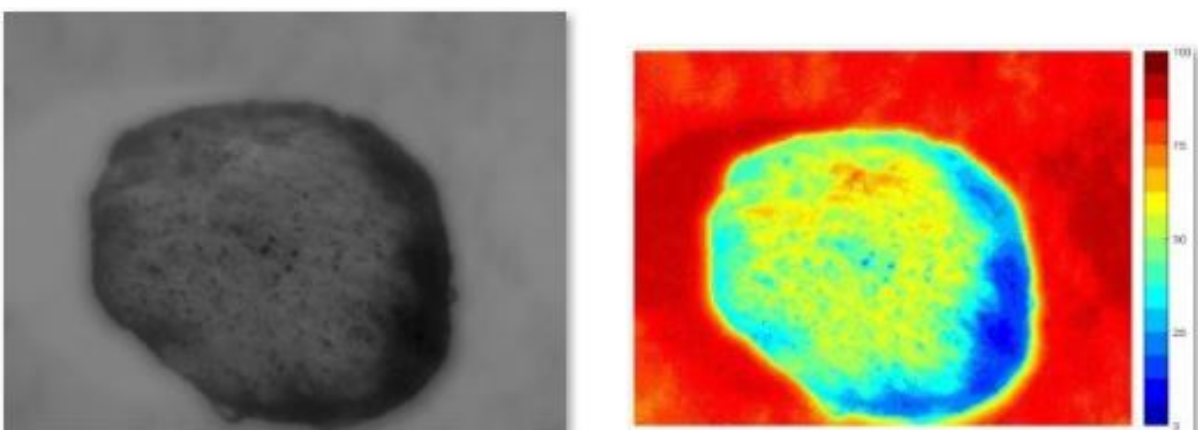
Σχήμα 4.41: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 14 Compound



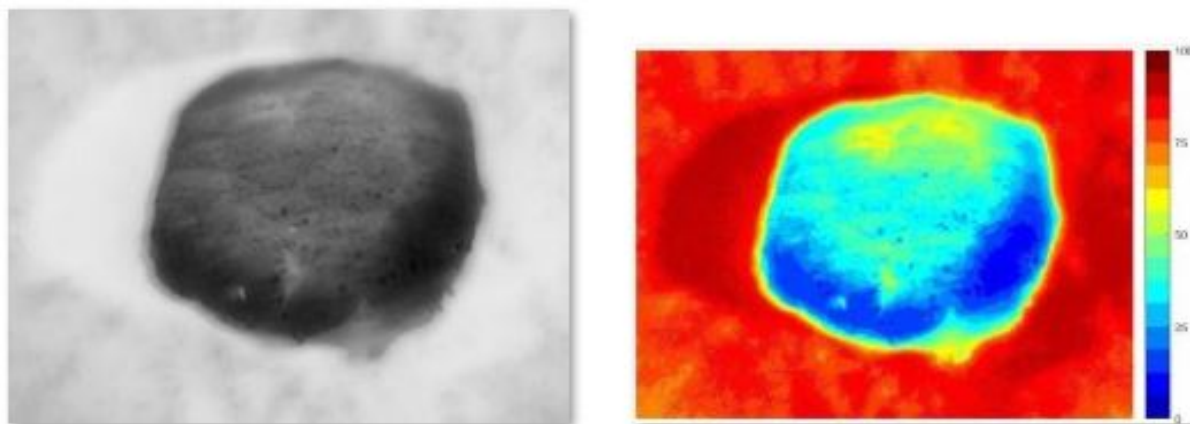
Σχήμα 4.42: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 15 Compound



Σχήμα 4.43: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 16 Compound



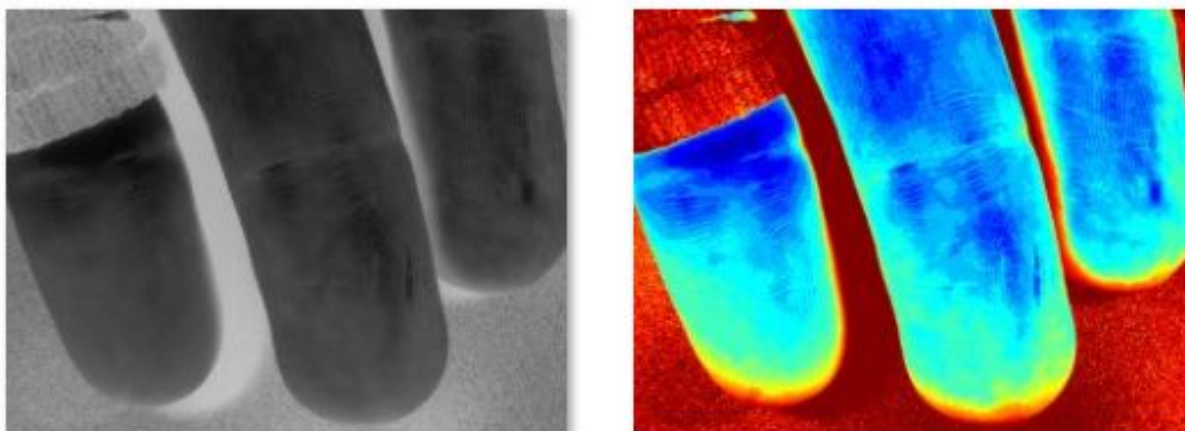
Σχήμα 4.44: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 17 Compound



Σχήμα 4.45: Jennifer Wagner - Eindex: Patient 18 Compound

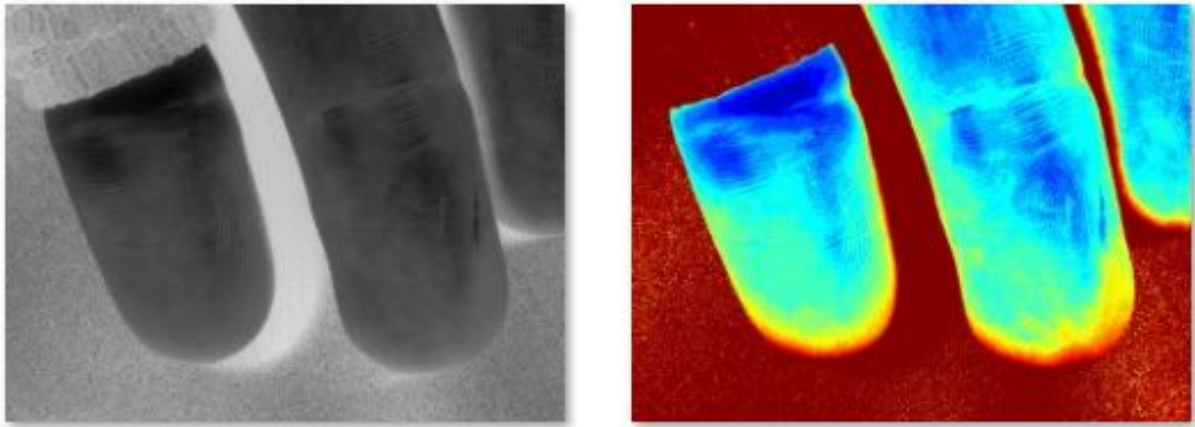
4.1.5 Αποτελέσματα αλγοριθμικής επεξεργασίας για την εύρεση του Eindex υπερφασματικών κύβων δαχτύλων χεριών με ελεύθερη και περιορισμένη ροή αίματος

Αντίστοιχη επεξεργασία εικόνας πραγματοποιείται και σε τρεις φωτογραφίες με τα δάχτυλα του χεριού ενός εθελοντή, όπου στην πρώτη έχουμε δεμένο με ένα λάστιχο τον δείκτη για ένα λεπτό (1min), στην δεύτερη για 6 λεπτά (6min) και στην τρίτη τον αφήνουμε ελεύθερο μετά το 6 λεπτό (free after 6min).

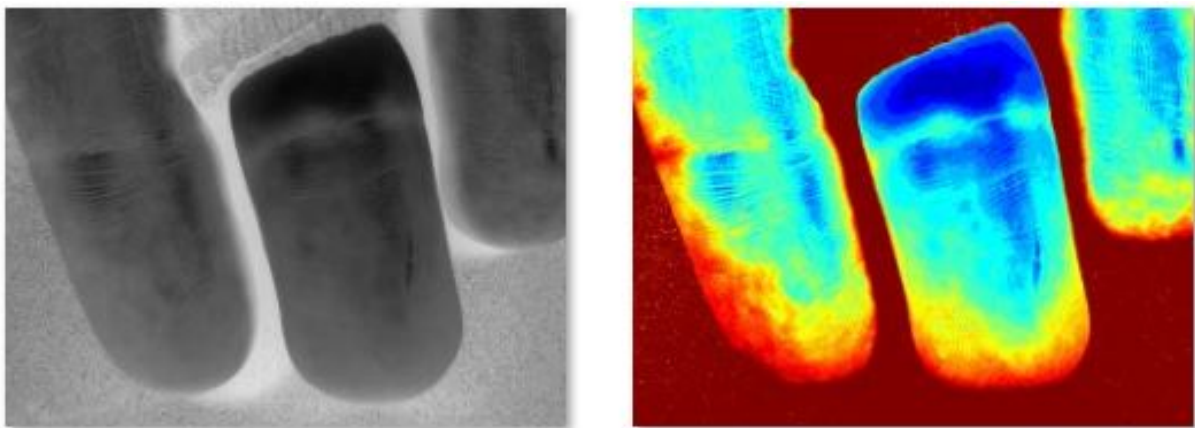


Σχήμα 4.46: Jennifer Wagner - Eindex: 1 λεπτό δεμένο

Παρατηρούμε ότι με τον συγκεκριμένο αλγόριθμο αν και γίνεται αισθητή η συγκέντρωση της μη οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης, δεν υπάρχει σημαντική μεταβολή του Mindex από το πρώτο στο έκτο λεπτό. Μια υπόθεση είναι πως ο αλγόριθμος αποδίδει καλύτερα τις μεταβολές στις τιμές του Eindex για τα πιο επιφανειακά στρώματα του δέρματος, λόγω των μικρών τριχοειδών αγγείων, τα οποία πιθανόν να είναι τα πρώτα που μένουν χωρίς ανατροφοδότηση οξυγόνου.



Σχήμα 4.47: Jennifer Wagner - Eindex: 6 λεπτά δεμένο



Σχήμα 4.48: Jennifer Wagner - Eindex: ελεύθερο μετά από 6 λεπτά

4.2 Melanoma - Nevus differentiation

4.2.1 Υπολογισμός οπτικής πυκνότητας

Ο αλγόριθμος [17] έχει σκοπό την διαφοροποίηση του μελανώματος από έναν σπίλο.

Αρχικά υπολογίζει την οπτική πυκνότητα (optical density) ως

$$OD(\lambda) = -\log_{10} \frac{I(\lambda)}{I_o(\lambda)}$$

όπου $I(\lambda)$ είναι η ένταση του ανακλώμενου φωτός από το δέρμα, $I_o(\lambda)$ είναι η ένταση του ανακλώμενου φωτός από λευκή επιφάνεια (στην ίδια απόσταση).

Για την διαφοροποίηση μεταξύ μελανώματος και σπίλου χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση:

$$p = OD_{650} + OD_{950} - OD_{540}$$

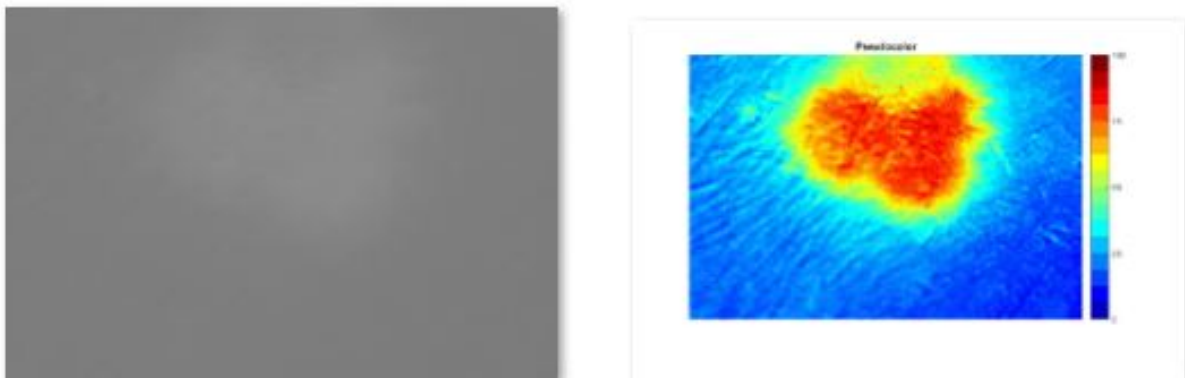
όπου p είναι η παράμετρος διαφοροποίησης, OD540 είναι η οπτική πυκνότητα στα 540nm, OD650 είναι η οπτική πυκνότητα στα 650nm, OD950 είναι η οπτική πυκνότητα στα 950nm.

Το μήκος κύματος 540nm αντιστοιχεί στη μέγιστη απορρόφηση του αίματος, ενώ στα 650nm παρατηρείται η μεγαλύτερη διαφορά μεταξύ μελανώματος και υγιούς δέρματος και στα 950nm είναι το μεγαλύτερο μήκος κύματος που αντιστοιχεί στη βαθύτερη διείσδυση κάτω από την επιφάνεια του δέρματος.

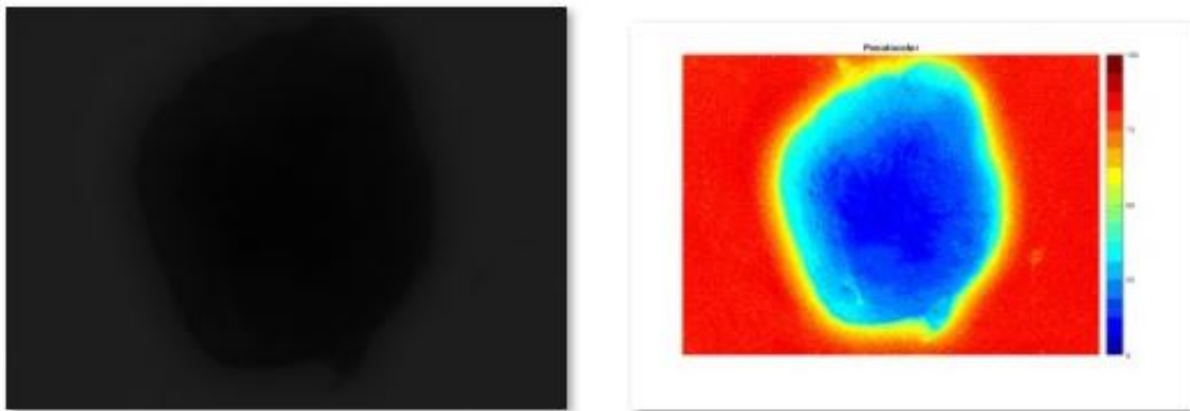
Οι περιοχές με μελάνωμα έχουν p με σημαντικά υψηλότερη τιμή από ότι το γύρω δέρμα με δυσπλασία, ενώ οι περιοχές με τους σπίλους εξαφανίζονται ή έχουν p με χαμηλότερες τιμές από το υγιές δέρμα. Ουσιαστικά, όταν $p > p_o$, όπου p_o το περιβάλλον υγιές δέρμα, η περιοχή με τιμή p μπορεί να θεωρηθεί ως πιθανό μελάνωμα.

Στην δική μας περίπτωση, παρατηρούμε πόσο έντονη είναι η αλλαγή από το μελάνωμα προς το γύρω δέρμα στον ασθενή 1 (patient 1). Στους υπόλοιπους ασθενείς παρόλο που δεν υπάρχει γύρω δέρμα, παρατηρούμε μια πιο αργή διακύμανση του ψευδοχρωματισμού από το εσωτερικό έως το τελείωμα του σπίλου και μια ιδιαίτερα χαμηλή τιμή p . Μάλιστα, η τιμή του p στο κέντρο των σπίλων φαίνεται να είναι κάπως χαμηλότερη από την τιμή που έχει εσωτερικά το περίγραμμά τους.

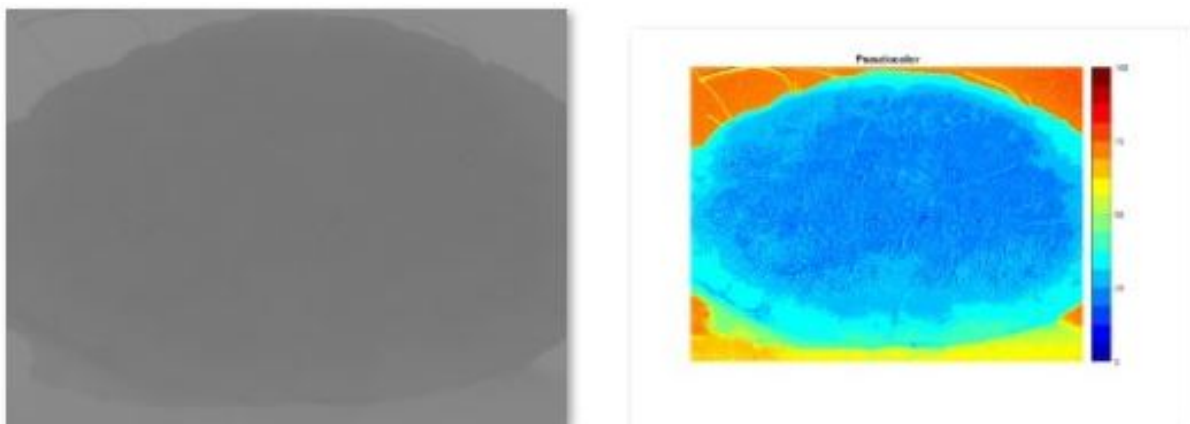
4.2.2 Αποτελέσματα αλγοριθμικής επεξεργασίας για την εύρεση της παραμέτρου διαφοροποίησης της οπτικής πυκνότητας υπερφασματικών κύβων 18 σπίλων



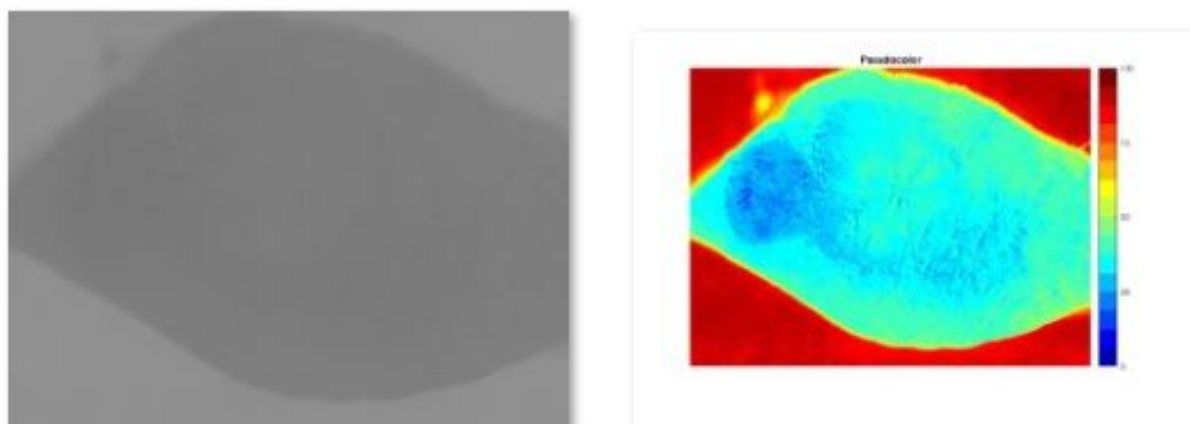
Σχήμα 4.49: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 1 Melanoma



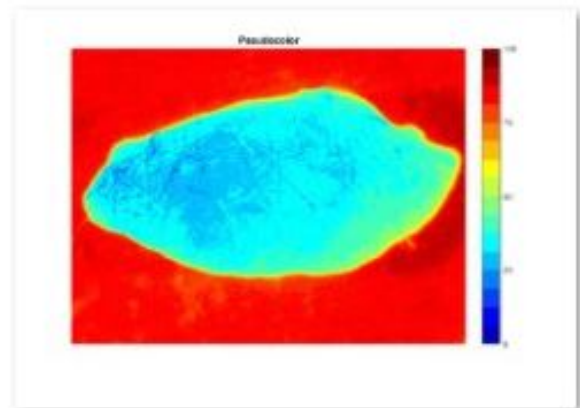
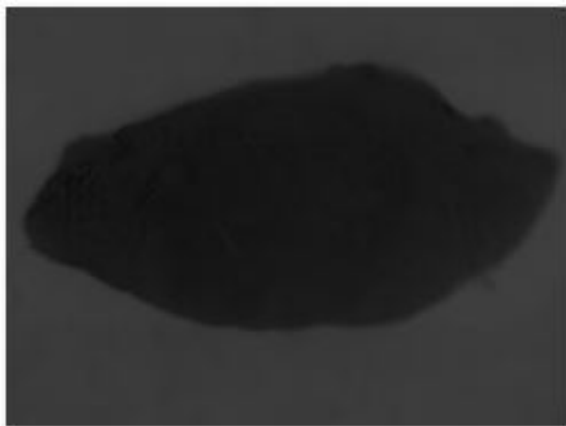
Σχήμα 4.50: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 2 Dysplastic



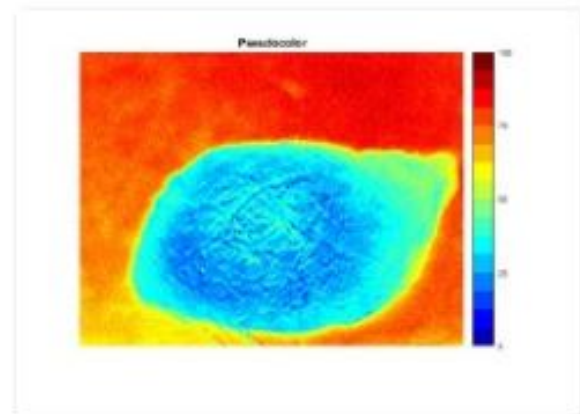
Σχήμα 4.51: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 3 Dysplastic



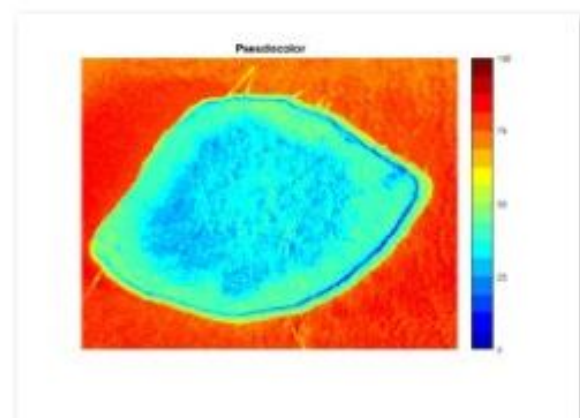
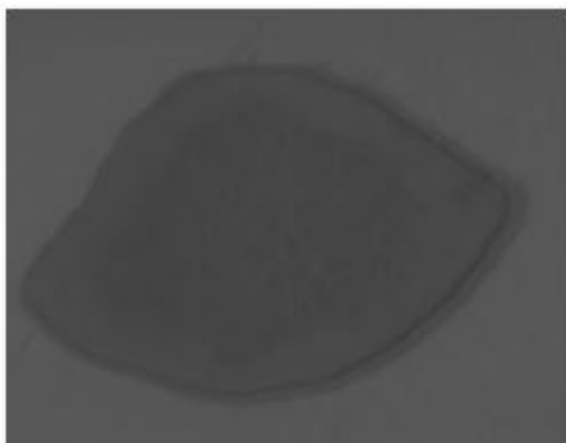
Σχήμα 4.52: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 4 Dysplastic



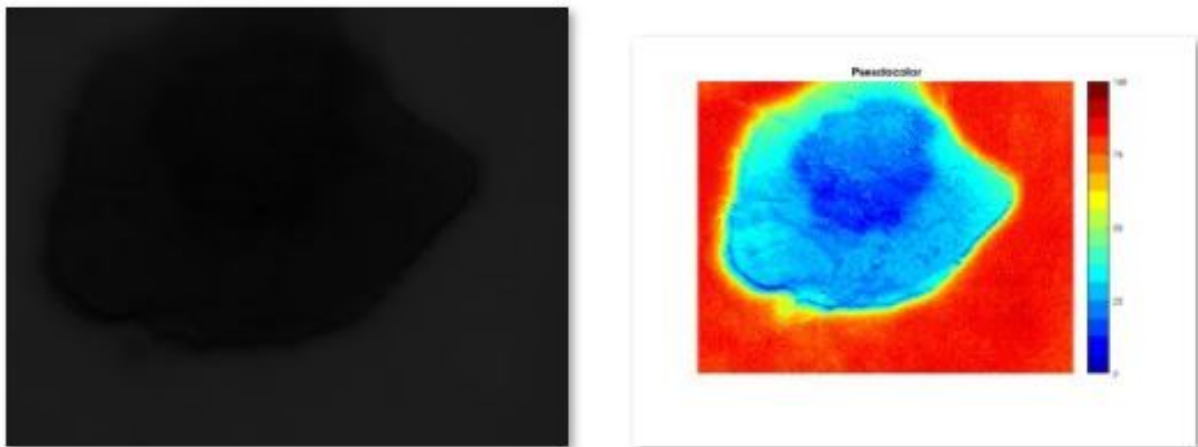
Σχήμα 4.53: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 5 Dysplastic



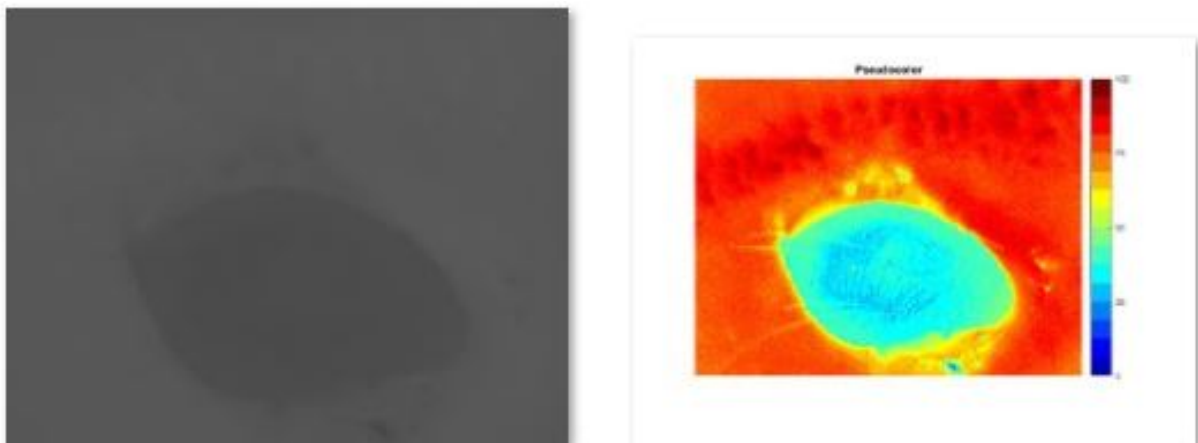
Σχήμα 4.54: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 6 Dysplastic



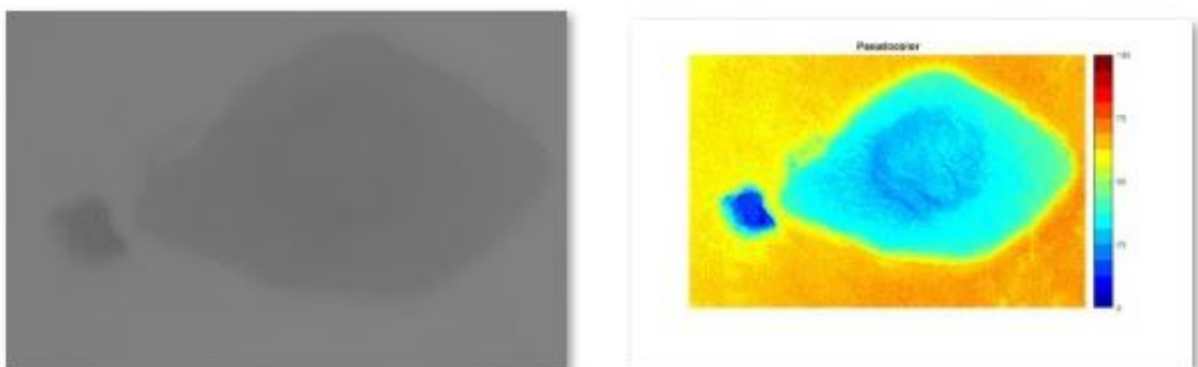
Σχήμα 4.55: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 7 Dysplastic



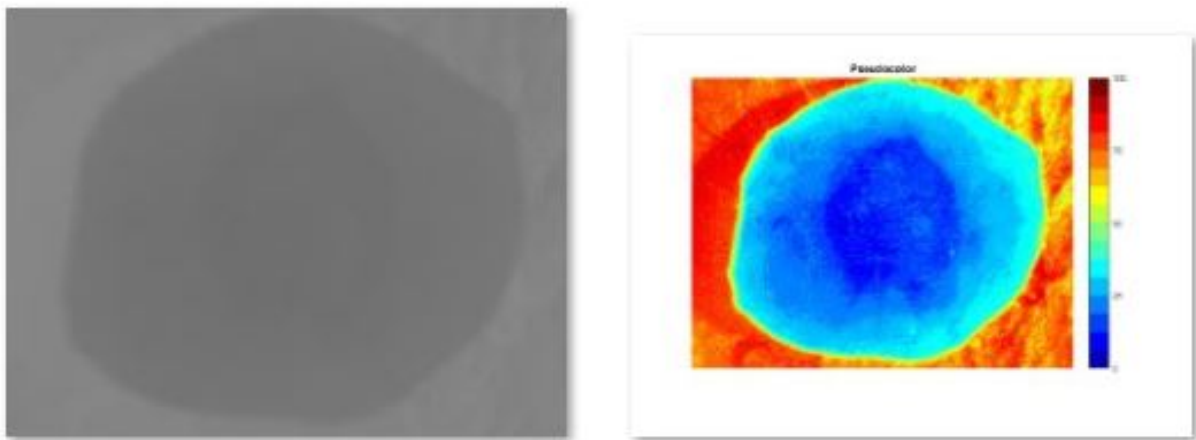
Σχήμα 4.56: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 8 Dysplastic



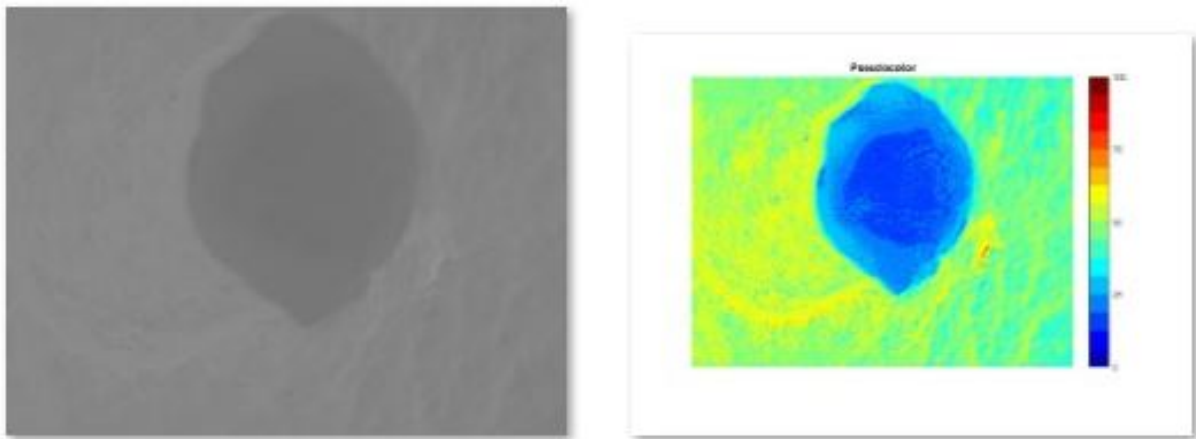
Σχήμα 4.57: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 9 Junctional



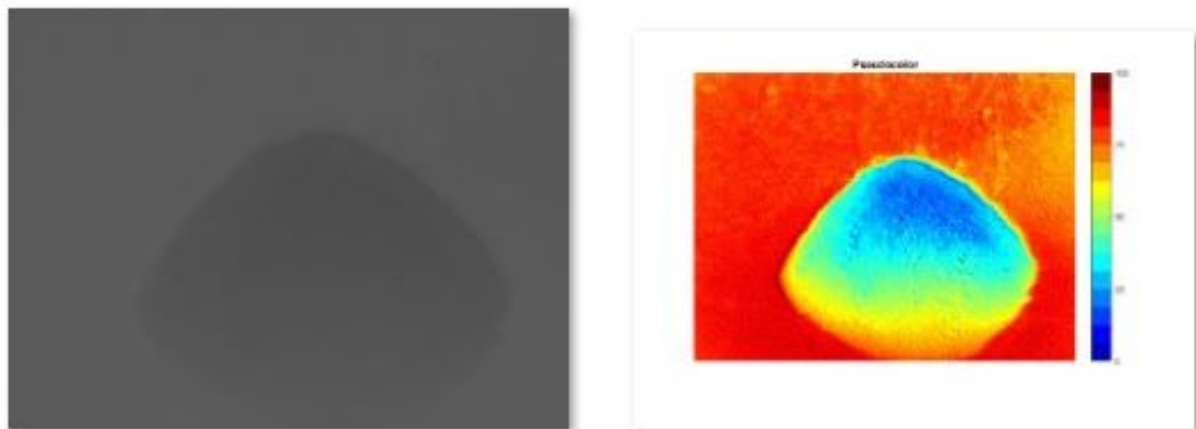
Σχήμα 4.58: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 10 Compound



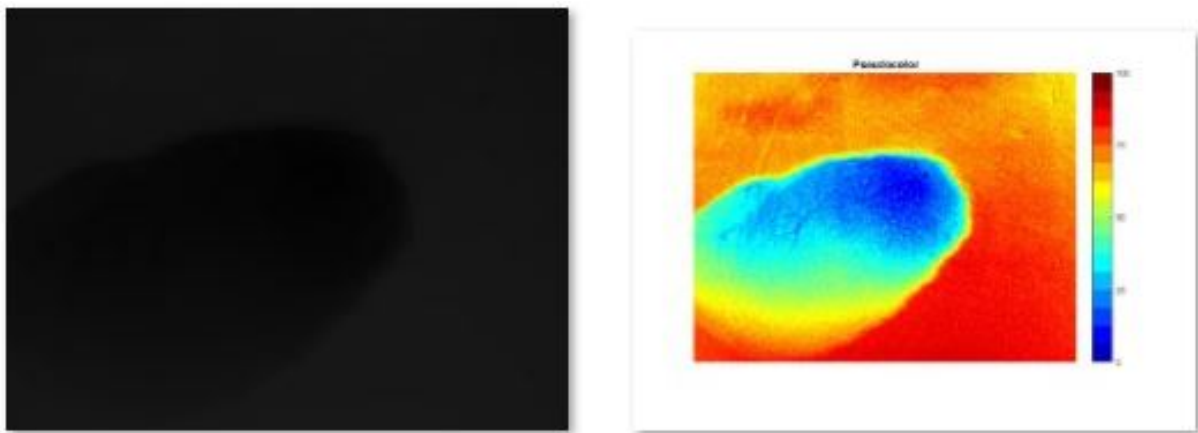
Σχήμα 4.59: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 11 Compound



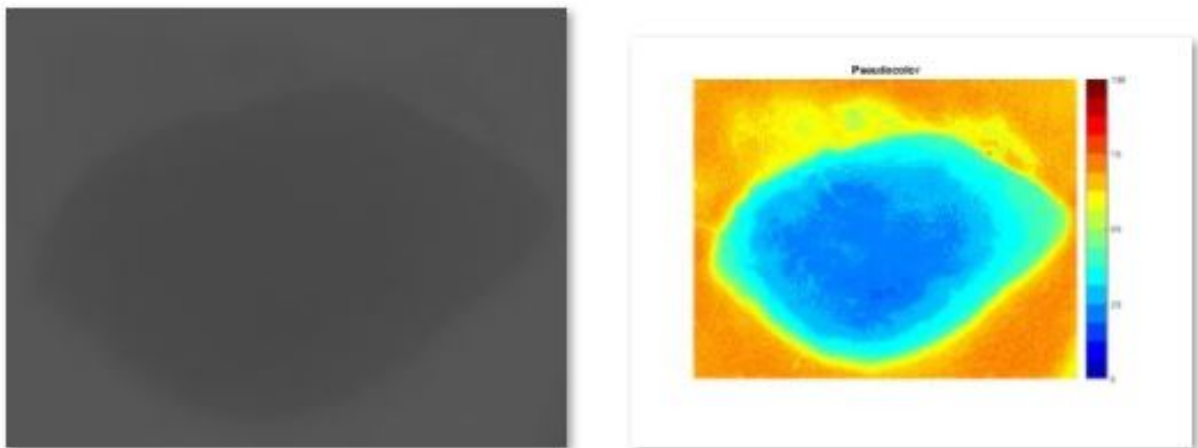
Σχήμα 4.60: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 12 Compound



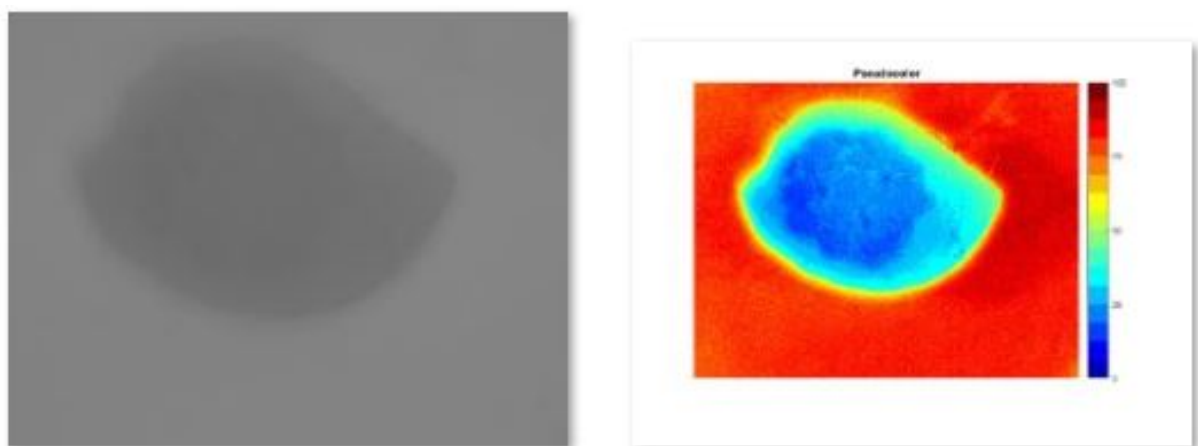
Σχήμα 4.61: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 13 Compound



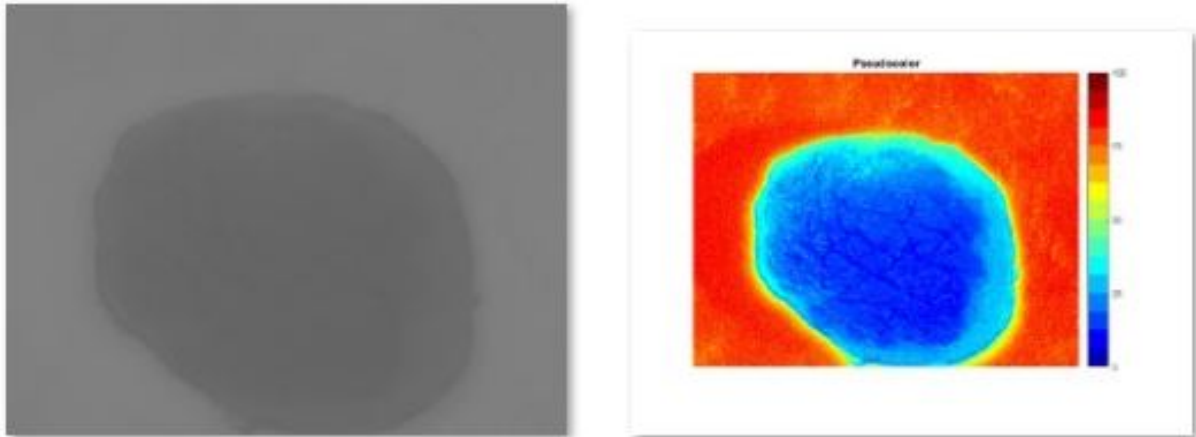
Σχήμα 4.62: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 14 Compound



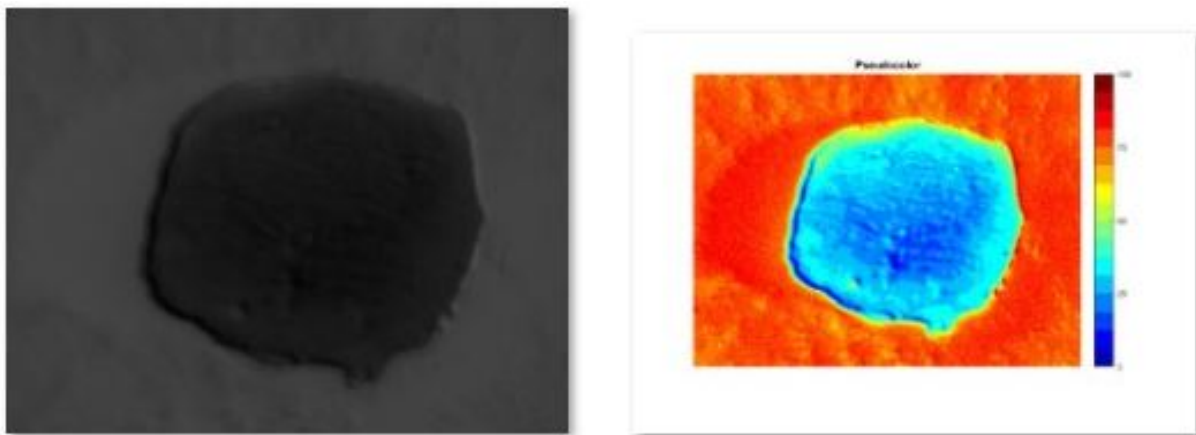
Σχήμα 4.63: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 15 Compound



Σχήμα 4.64: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 16 Compound



Σχήμα 4.65: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 17 Compound



Σχήμα 4.66: Melanoma - Nevus differentiation: Patient 18 Compound

4.3 Shimada - Yamada

Οι Shimada και Yamada [31] σύμφωνα με την μέθοδο διαχωρισμού του δέρματος σε στρώματα, προσδιορίζουν τις συγκεντρώσεις του αίματος και της μελανίνης, έχοντας ως δεδομένο πως η μελανίνη, αντίθετα με τις υπόλοιπες χρωμοφόρες βρίσκεται στα ανώτερα στρώματα του δέρματος. Στην συγκεκριμένη δημοσίευση προτείνεται ένας τροποποιημένος νόμος Beer-Lambert με την χρήση πολλαπλής παλινδρόμησης (multiple regression analysis), ο οποίος εφαρμόζεται στις μεταβολές του φάσματος απορρόφησης του ανθρώπινου δέρματος, καθώς η μεταβολή της μελανίνης και της αιμοσφαιρίνης θεωρείται ότι είναι μικρή. Έτσι, γίνεται σύγκριση των εκτιμώμενων συγκεντρώσεων της μελανίνης και της αιμοσφαιρίνης με αυτές σε ένα θεωρητικό πείραμα και, στη συνέχεια, αυτή η μέθοδος εφαρμόζεται σε *in vivo* δέρμα.

4.3.1 Υπολογισμός πολυεπίπεδου φάσματος απορρόφησης

Το φάσμα απορρόφησης $A(\lambda)$ σε κάθε μήκος κύματος λ ορίζεται από το φάσμα ανάκλασης $R(\lambda)$ του δέρματος της επιφάνειας ως:

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

Το φάσμα απορρόφησης $A(\lambda)$ του ομοιογενούς μέσου ως ο τροποποιημένος νόμος Beer-Lambert:

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

όπου το $\varepsilon(\lambda)$ είναι ένας γραμμομοριακός συντελεστής απορρόφησης (molar absorption coefficient), το C είναι η γραμμομοριακή συγκέντρωση (molar concentration), το $\bar{l}(\lambda)$ είναι το μέσο μήκος της στιβάδας (mean path length) και το $G(\lambda)$ (scattering loss) [32] [33]. Το φάσμα απορρόφησης $A(\lambda)$ ενός πολυεπίπεδου μέσου, του οποίου ο συντελεστής σκέδασης και μοριακής απορρόφησης διαφέρει από στρώμα σε στρώμα, εκφράζεται ως το άθροισμα της απορρόφησης κάθε στρώματος $A_i(\lambda)$, ($i = 1, \dots, m$).

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

όπου το i υποδηλώνει το επίπεδο, το $\bar{l}_i(\lambda, C_i)$ το μέσο μήκος του επιπέδου i . Τα $\bar{l}_i(\lambda, C_i)$, $G(\lambda)$ εξαρτώνται από το μήκος κύματος λ , αφού ο συντελεστής σκέδασης (scattering coefficient) διαφέρει σε κάθε μήκος κύματος λ .

Στην περίπτωση που η μεταβολή της συγκέντρωσης C τείνει στο μηδέν, το $\bar{l}_i(\lambda) \simeq \bar{l}_i(\lambda, C_i)$ και η διαφορά στο φάσμα απορρόφησης εκφράζεται ως:

$$\Delta A_i(\lambda) = \varepsilon_i(\lambda) \cdot \Delta C_i \cdot \bar{l}_i(\lambda) \quad (1)$$

Συνεπώς, η μεταβολή στο φάσμα απορρόφησης $\Delta A_i(\lambda)$ είναι ανάλογη της μεταβολής στη συγκέντρωση των χρωμοφόρων ΔC_i .

Στην περίπτωση του ανθρώπινου δέρματος, οι κύριες χρωμοφόρες, η μελανίνη και η αιμοσφαιρίνη, βρίσκονται στην επιδερμίδα και το χόριο. Ο υποδόριος ιστός, αν δεν περιλαμβάνει αξιόλογες ποσότητες χρωμοφόρων, θεωρείται πως το λίπος διαχέει πλήρως κι αντανακλά το φως σε όλο το ορατό μήκος κύματος. Επιπλέον, οι μεταβολές των ιδιοτήτων σκέδασης θεωρήθηκαν αμελητέες, αφού οι ιδιότητες σκέδασης των χρωμοφόρων είναι αμελητέες σε σχέση με αυτές του χορίου.

Η μεταβολή των συγκεντρώσεων μελανίνης C_m και αιμοσφαιρίνης C_{Hb} στο ανθρώπινο δέρμα υποτίθεται ότι είναι τόσο μικρή, ώστε το $\bar{l}_i(\lambda)$ να είναι ανεξάρτητο από τις συγκεντρώσεις των χρωμοφόρων C . Το φάσμα απορρόφησης του δέρματος $A_{skin}(\lambda)$ εκφράζεται ως:

$$A_{skin}(\lambda) = \varepsilon_m(\lambda) \cdot \Delta C_m \cdot \bar{l}_m(\lambda) + \varepsilon_{Hb}(\lambda) \cdot \Delta C_{Hb} \cdot \bar{l}_{Hb}(\lambda) + A_0(\lambda) \quad (2)$$

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

όπου $A'_0(\lambda)$ είναι το φάσμα απορρόφησης όλων των χρωμοφόρων του ανθρώπινου δέρματος εκτός της μελανίνης και της αιμοσφαιρίνης. Από τις εξισώσεις (1) και (2), με τη χρήση πολλαπλής παλινδρόμησης, συνεπάγεται ότι:

$$A_{skin}(\lambda) = \frac{C_m}{\Delta C_m} \cdot \Delta A_m(\lambda) + \frac{C_{Hb}}{\Delta C_{Hb}} \cdot \Delta A_{Hb}(\lambda) + A_0(\lambda)$$

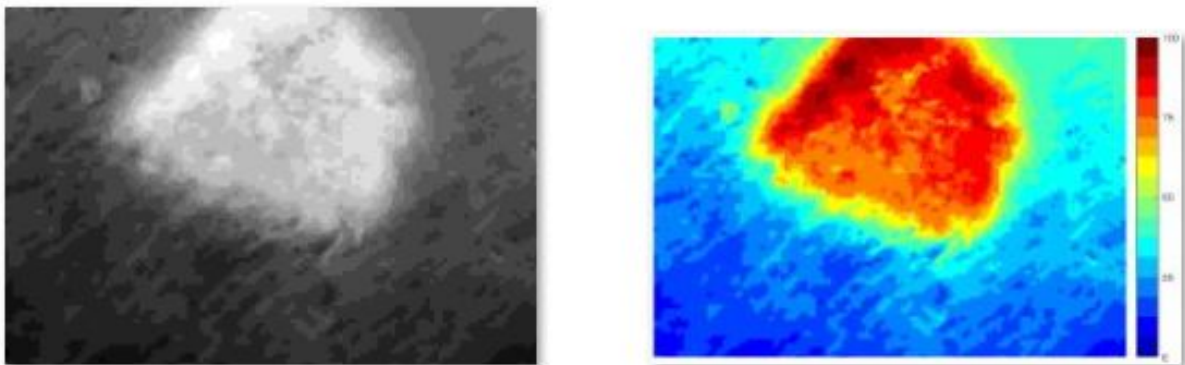
$$\Delta A_m(\lambda) = \varepsilon_m(\lambda) \cdot \Delta C_m \cdot \bar{l}_m(\lambda)$$

$$\Delta A_{Hb}(\lambda) = \varepsilon_{Hb}(\lambda) \cdot \Delta C_{Hb} \cdot \bar{l}_{Hb}(\lambda)$$

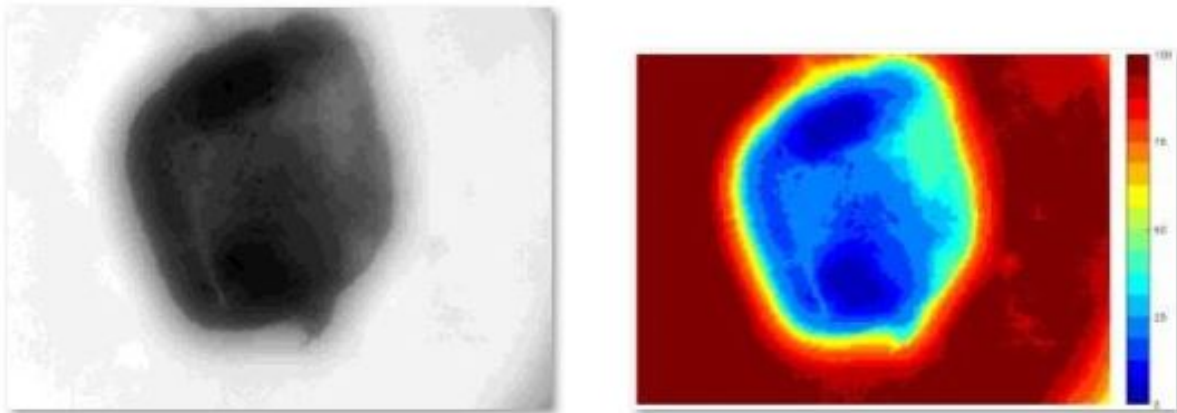
Αν είναι γνωστές οι $A_m(\lambda)$, $A_{Hb}(\lambda)$ και $A_0(\lambda)$, είναι δυνατή η εκτίμηση $\frac{C_m}{\Delta C_m}$ και $\frac{C_{Hb}}{\Delta C_{Hb}}$ της εξαρτημένης $A_{skin}(\lambda)$ χρησιμοποιώντας ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης.

4.3.2 Αποτελέσματα αλγοριθμικής επεξεργασίας για την εύρεση πολυεπίπεδου φάσματος απορρόφησης υπερφασματικών κύβων 18 σπύλων

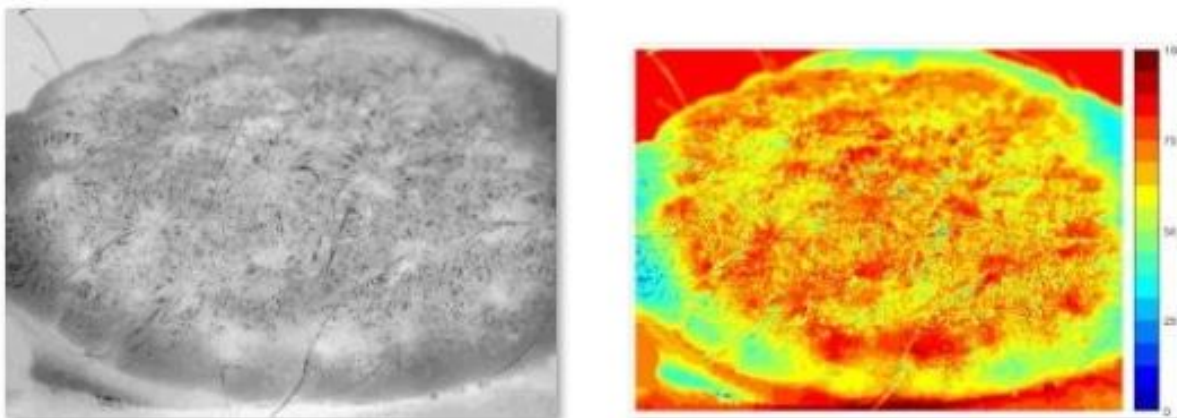
Σε αυτόν τον αλγόριθμο παρατηρούμε πως ο χρόνος για την επεξεργασία ολόκληρου του υπερφασματικού κύβου είναι πάρα πολύς. Επειδή, όμως, το δέρμα χωρίζεται σε επίπεδα και το φως διεισδύει ανάλογα με το μήκος κύματος, μας δίνεται η δυνατότητα να επιλέξουμε περιοχές του φάσματος για ταχύτερη υλοποίηση. Τα παρακάτω αποτελέσματα αφορούν όλο το εύρος του φάσματος που μας δίνεται από 420nm έως 1000nm.



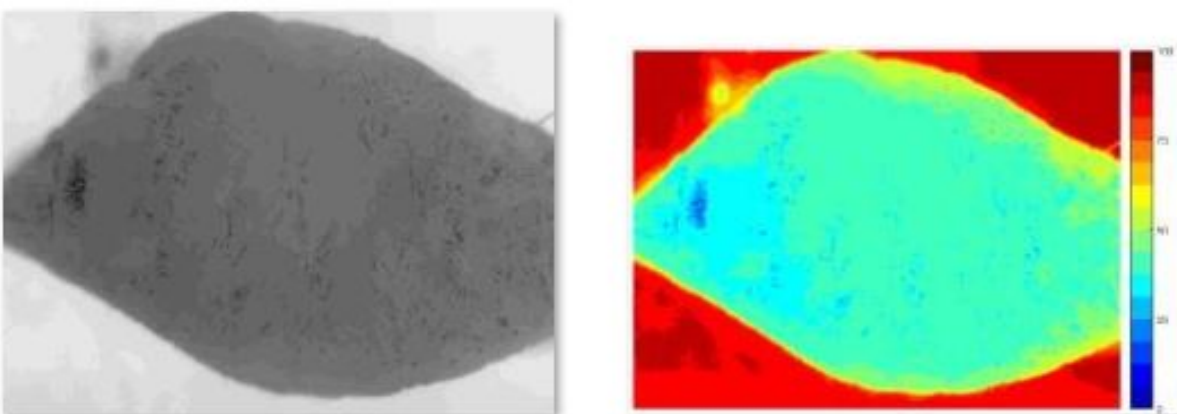
Σχήμα 4.67: Shimada - Yamada: Patient 1 Melanoma



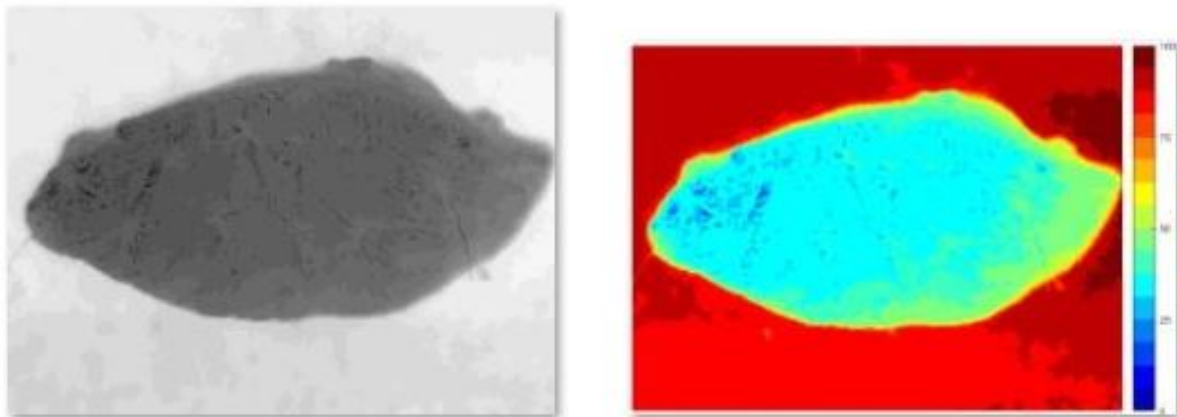
Σχήμα 4.68: Shimada - Yamada: Patient 2 Dysplastic



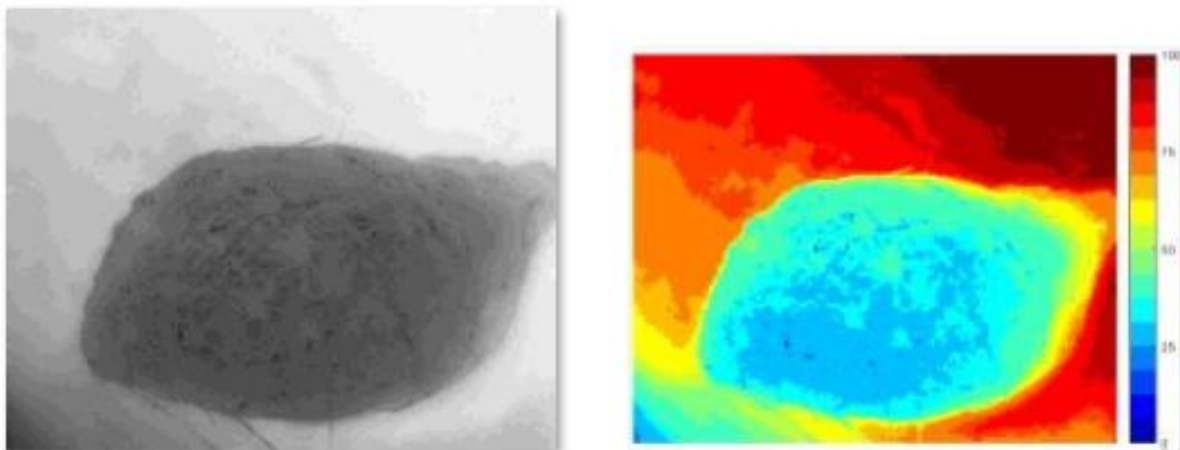
Σχήμα 4.69: Shimada - Yamada: Patient 3 Dysplastic



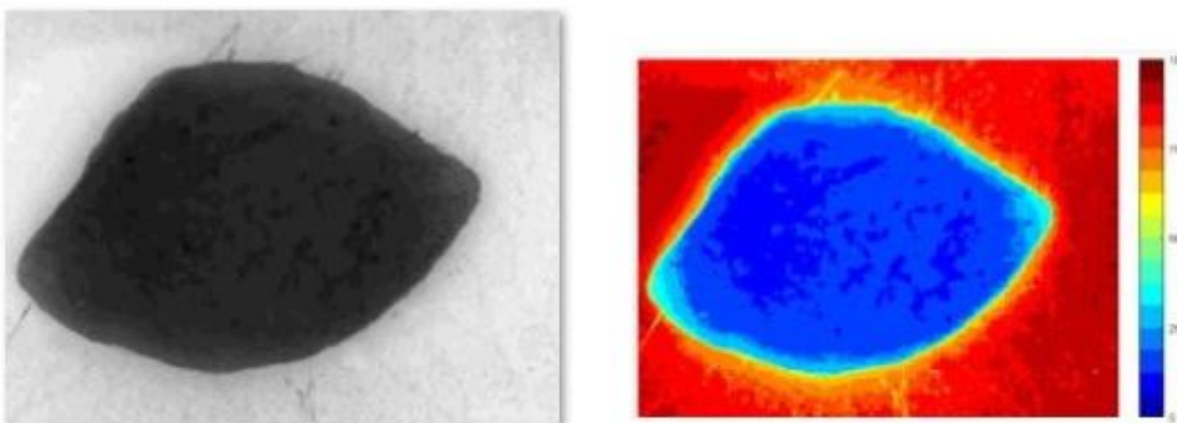
Σχήμα 4.70: Shimada - Yamada: Patient 4 Dysplastic



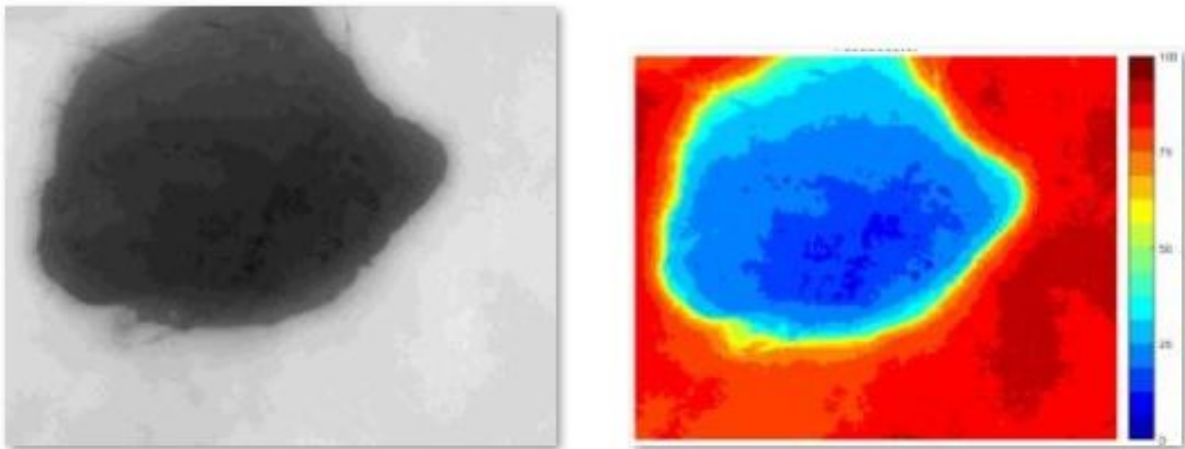
Σχήμα 4.71: Shimada - Yamada: Patient 5 Dysplastic



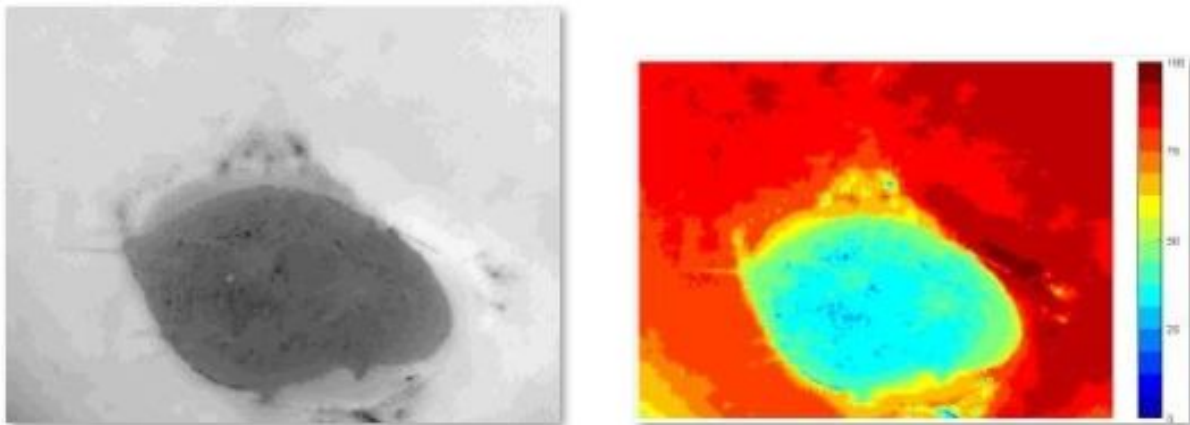
Σχήμα 4.72: Shimada - Yamada: Patient 6 Dysplastic



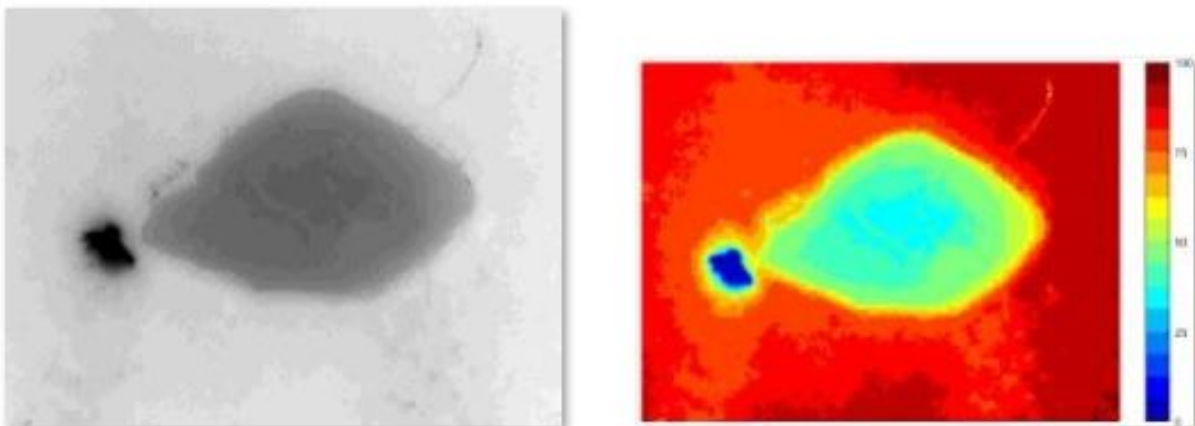
Σχήμα 4.73: Shimada - Yamada: Patient 7 Dysplastic



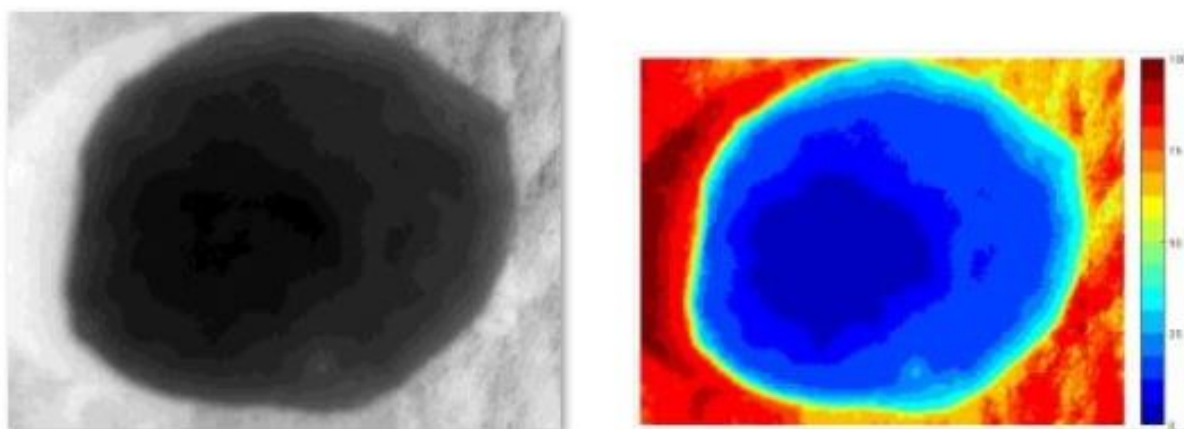
Σχήμα 4.74: Shimada - Yamada: Patient 8 Dysplastic



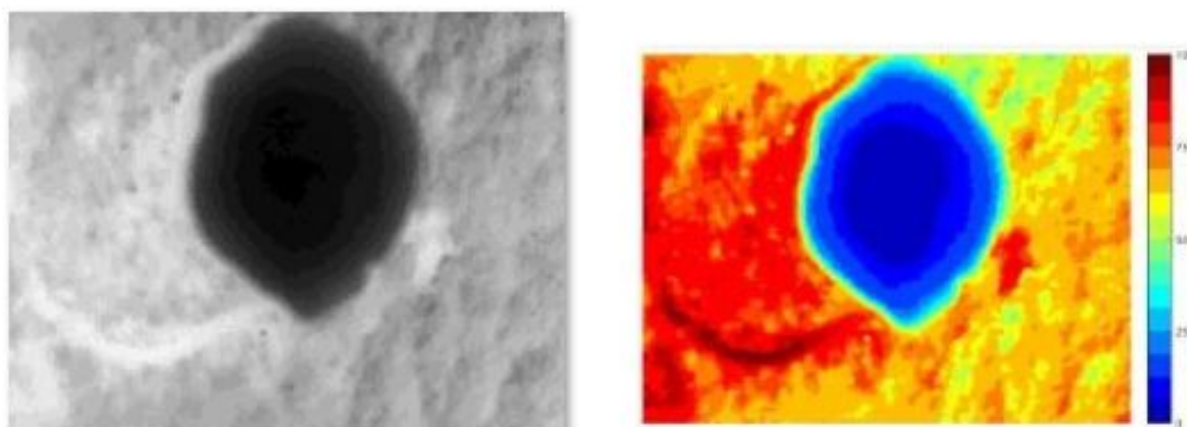
Σχήμα 4.75: Shimada - Yamada: Patient 9 Junctional



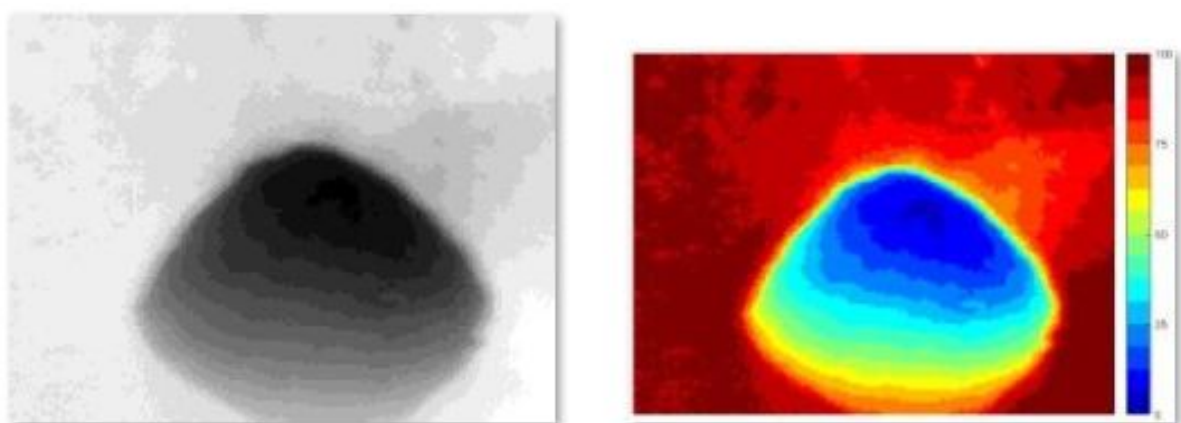
Σχήμα 4.76: Shimada - Yamada: Patient 10 Compound



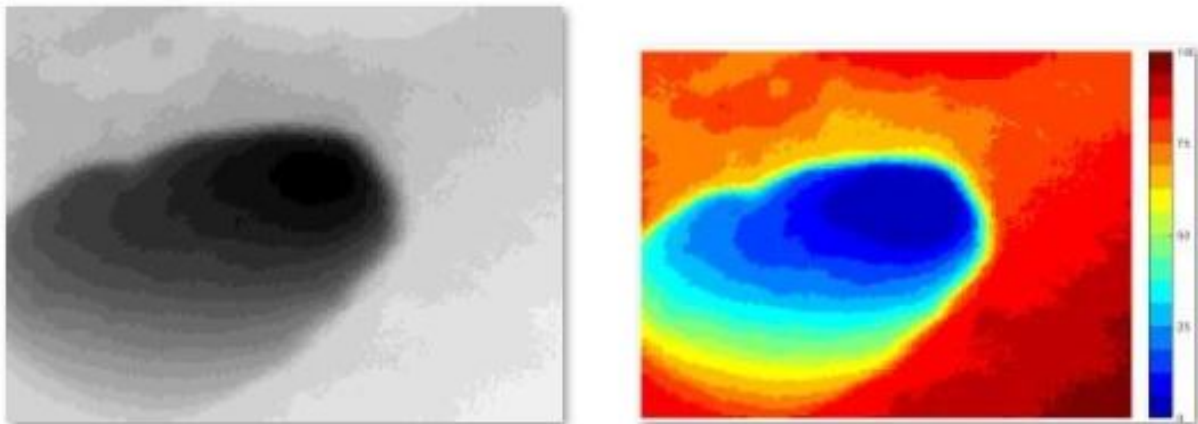
Σχήμα 4.77: Shimada - Yamada: Patient 11 Compound



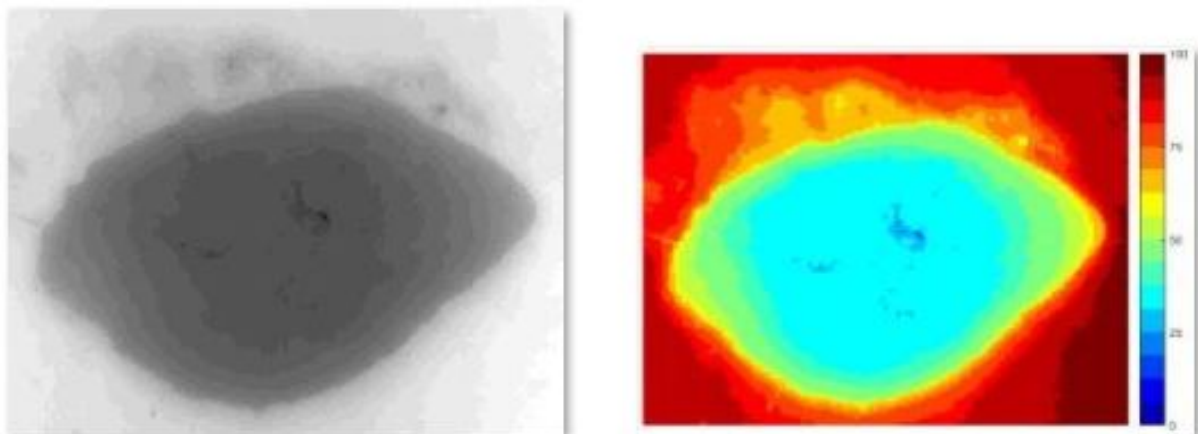
Σχήμα 4.78: Shimada - Yamada: Patient 12 Compound



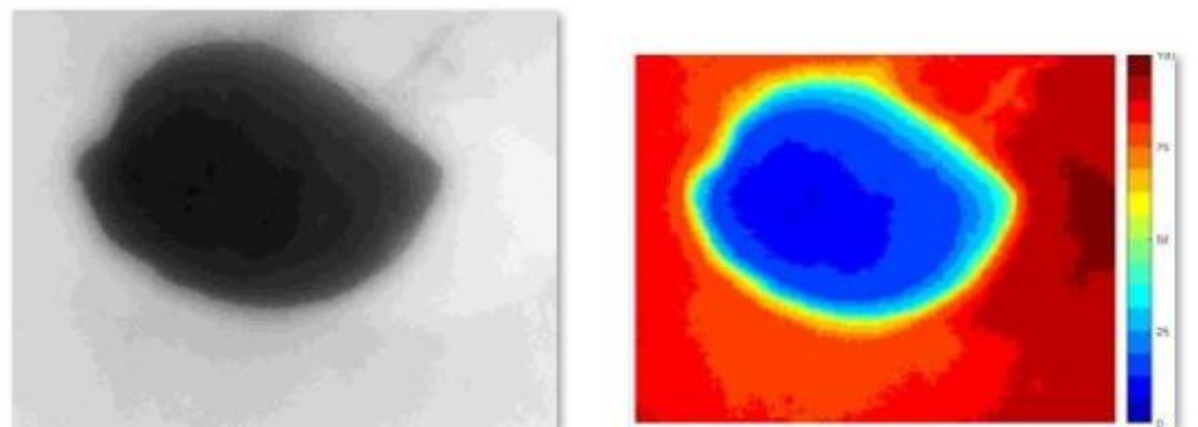
Σχήμα 4.79: Shimada - Yamada: Patient 13 Compound



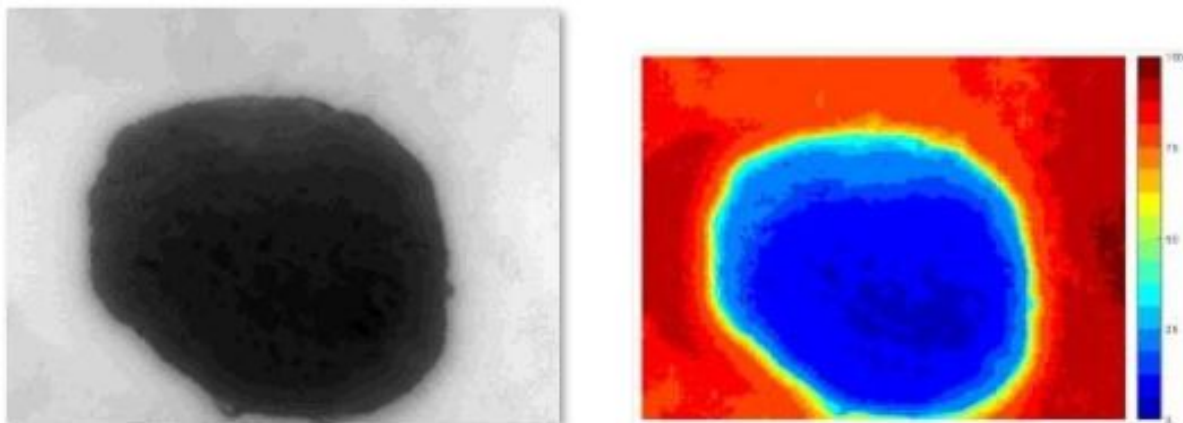
Σχήμα 4.80: Shimada - Yamada: Patient 14 Compound



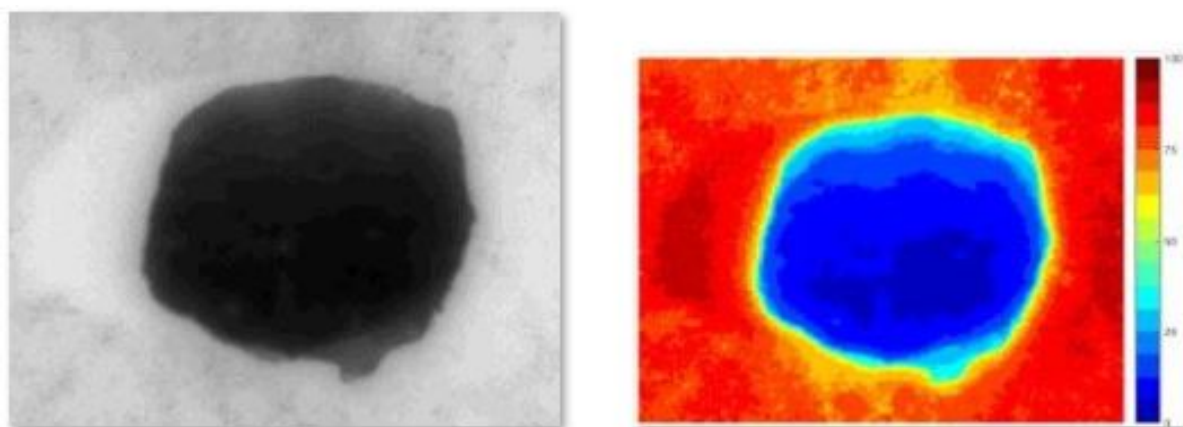
Σχήμα 4.81: Shimada - Yamada: Patient 15 Compound



Σχήμα 4.82: Shimada - Yamada: Patient 16 Compound



Σχήμα 4.83: Shimada - Yamada: Patient 17 Compound



Σχήμα 4.84: Shimada - Yamada: Patient 18 Compound

Κεφάλαιο 5

Προτάσεις για περαιτέρω έρευνα

Σε μελλοντικές εργασίες προτείνεται έλεγχος των παραμέτρων κατά την διάρκεια της λήψης των υπερφασματικών κύβων. Πρώτα απ' όλα, σημαντική είναι η λήψη των σπύλων μαζί με το περιβάλλον φυσιολογικό δέρμα, ώστε να μπορεί να γίνει περαιτέρω σύγκριση. Επίσης, κατά την διάρκεια της λήψης, θα μπορούσε να γίνεται απευθείας αναγνώριση των ακμών ενός σπύλου, ώστε οι εικόνες του κύβου να είναι σωστά κεντραρισμένες εξ αρχής, συνεπώς να γίνεται αυτόματη ευθυγράμμιση, αποφεύγοντας μετέπειτα λανθασμένα αποτελέσματα. Σε αυτό θα βοηθούσε και η λήψη μόνο των χρήσιμων μηκών κύματος για τον αλγόριθμο που εφαρμόζουμε, ώστε να ελαχιστοποιηθεί ο χρόνος λήψης του υπερφασματικού κύβου, άρα και η μετατόπιση του σπύλου από εικόνα σε εικόνα του κύβου. Μια επιπλέον πρόταση είναι η τοποθέτηση συγκεκριμένης πηγής φωτός, η οποία να είναι αρκετά δυνατή ώστε τυχόν φωτισμός του χώρου να μην επηρεάζει το αποτέλεσμα, καθώς και η λήψη υπερφασματικού κύβου του φυσιολογικού δέρματος του εξεταζόμενου χωρίς δυσχρωμία, ώστε να συμπεριληφθεί στην αλγοριθμική επεξεργασία βελτιώνοντας τα αποτελέσματα και δίνοντας την δυνατότητα σύγκρισης μεταξύ ασθενών. Να προσθέσουμε ότι είναι σημαντική η καλή εστίαση κατά την λήψη αφού τα θαμπά περιγράμματα δεν θα δώσουν ακριβή αποτελέσματα.

Σημαντικό είναι να γίνει η λήψη in-vivo κι αντιστοίχιση με τα μετέπειτα αποτελέσματα της βιοψίας. Με αυτόν τον τρόπο θα έχουμε πιο έγκυρα συμπεράσματα σχετικά με τα αποτελέσματα των αλγορίθμων. Να αναφέρουμε πως η μέτρηση της οξυγονωμένης αιμοσφαιρίνης είναι πιθανόν να διαφέρει στους in-vivo από ότι στους κομμένους σπύλους.

Επίσης, στα εικονοστοιχεία με τιμή ίση με μηδέν καλό είναι να αντικατασταθεί με μια πολύ μικρή τιμή πχ. 10^{-10} , διότι οι περισσότεροι αλγόριθμοι χρησιμοποιούν λογαρίθμους και οι τιμές αυτές στα αποτελέσματα δίνουν άπειρο (inf).

Μια ιδέα ακόμη είναι η εφαρμογή image classification με supervised learning σε μεγαλύτερη βάση δεδομένων, υπερφασματικών κύβων συγκεκριμένων προδιαγραφών, με ποικιλία μελανωμάτων και διαφορετικών ειδών σπύλων, με έγκυρη διάγνωση από βιοψίες.

Τέλος, λόγω μεγάλου όγκου πληροφορίας όχι μόνο σε κάθε εικόνα αλλά και σε κάθε υπερφασματικό κύβο, πόσο μάλλον σε μια βάση δεδομένων υπερφασματικών κύβων, θα βοηθούσε για να γίνει γρηγορότερη η παράλληλη υλοποίηση επεξεργασίας, οι αλγόριθμοι να γραφτούν για CUDA και να τρέξουν σε GPUs.

Βιβλιογραφία

- [1] Takanori Igarashi, Ko Nishino, and Shree K. Nayar. “*The Appearance of Human Skin*”, Technical Report CUCS-024-05, Columbia University, 2005.
- [2] Aravind Krishnaswamy, and Gladimir V. G. Baranoski. “*A Study on Skin Optics*”, Technical Report CS-2004-01, University of Waterloo, Canada, 2004.
- [3] William Montagna, and Paul F. Parakka. “*The Structure and Function of Skin, 3rd edition*”, (Chapter 2.The Epidermis, Paragraph I.Structural Features p.26), 1974.
- [4] William Montagna, and Paul F. Parakka. “*The Structure and Function of Skin*”, 3rd edition, (Chapter 2.The Epidermis, Paragraph IV. Life Cycle of Epidermal Cells (Keratinocytes) p.44), 1974.
- [5] Klaus-P. Wilhelm, Peter Elsner, Enzo Berardesca, and Howard I. Maibach. “*BIOENGINEERING OF THE SKIN: Skin Imaging and Analysis*”, Second Edition (Chapter 16. Skin Documentation with Multimodal Imaging or Integrated Imaging Approaches by Nikiforos Kollias p.221), 2007.
- [6] Palaeobiology Research Group. “*Melanin, melanocytes, and melanosomes* ”<http://palaeo.gly.bris.ac.uk/melanosomes/melanin.html>, University of Bristol, 2009.
- [7] Thody, A., Higgins, E., Wakamatsu, K., Ito, S., Burchill, S., and Marks, J. “*Pheomelanin as well as eumelanin is present in human dermis.*”, Journal of Investigative Dermatology 97, 340–344, 1991.
- [8] S.L. Jacques. “*Optical absorption of melanin*”<http://omlc.ogi.edu/spectra/melanin/index.htm>, Oregon Medical Laser Center Monthly news and articles on Biomedical Optics and Medical Lasers, 2018.
- [9] Nikiforos Kollias. “*The Physical Basis of Skin Color and Its Evaluation* ”, Journal Clinics in Dermatology 23:362-367, 1995.
- [10] Zorica GAJINOV, Milan MATIĆ¹, Sonja PRĆIĆ, and Verica ĐURAN. “*Optical properties of the human skin*”, Review Article, Serbian Journal of Dermatology and Venereology 2(4):131-136, 2010.
- [11] Histology Guide. “*Skin functions and Layers*”https://www.histology.leeds.ac.uk/skin/skin_layers.php, Faculty of Biological Sciences, University of Leeds.

- [12] M. R. Derrick, D. Stulik, J. M. Landry. *"Infrared Spectroscopy in Conservation Science"*, J. Paul Getty Trust, pg 18–25, 1999.
- [13] Costas Balas, Christos Pappas, and George Epitropou. *"Multi/Hyper-Spectral Imaging "*, Technical University of Crete, Handbook of Biomedical Optics, 2011.
- [14] Ocean Optics. *"USB2000 Fiber Optic Spectrometer "*, Installation and Operation Manual.
- [15] R. F. Kazarinov, R. A. Suris. *"Possibility of Amplification of Electromagnetic Waves in a Semiconductor with a Superlattice"*, Fizika i Tekhnika Poluprovodnikov. 5 (4): pg. 797–800, April 1971.
- [16] Jennifer K. Wagner, Celina Jovel, Heather L. Norton, Esteban J. Parra, and Mark D. Shriver. *"Comparing Quantitative Measures of Erythema, Pigmentation and Skin Response using Reflectometry "*, Pigment Cell Res 15: 379–384, 2002.
- [17] Dainis Jakovels, Janis Spigulis, and Laura Rogule. *"RGB Mapping of Hemoglobin Distribution in Skin "*, Clinical and Biomedical Spectroscopy and Imaging II, 2011.
- [18] J. Michael Sorrell, and Arnold I. Caplan. *"Fibroblast heterogeneity: more than skin deep "*, Journal of Cell Science 117, 667-675, 2004.
- [19] Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology *"http://www.ijdv1.com/viewimage.asp?img=ijdv1_2011_77_3_349_79728_f7.jpg"*
- [20] American Academy of Dermatology *"http://www.ijdv1.com/viewimage.asp?img=ijdv1_2011_77_3_349_79728_f7.jpg"*
- [21] College of Life Science, National Tsing Hua University *"Limitations of the Beer-Lambert law <http://life.nthu.edu.tw/~labcyjw/BioPhyChem/Spectroscopy/beerslaw.htm>"*
- [22] Photonics Media *"Spectroscopy: Mastering the Techniques https://www.photonics.com/Articles/Spectroscopy_Mastering_the_Techniques/a25126"*
- [23] Weiwen Zou, Xin Long and Jianping Chen *"Brillouin Scattering in Optical Fibers and Its Application to Distributed Sensors <https://www.intechopen.com/books/advances-in-optical-fiber-technology-fundamental-optical-phenomena-and-applications/brillouin-scattering-in-optical-fibers-and-its-application-to-distributed-sensors>"* 2014
- [24] Prof. Glenn H. Chapman *"Types of Scattering <http://www2.ensc.sfu.ca/~glennh/e376/e376l7.pdf>"* School Of Engineering Science, Simon Fraser University, Canada 2018
- [25] Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR) *"Health Effects of Artificial Light http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenihr_o_035.pdf"* European Union, March 2012

- [26] Ryan Jennings and Christopher Premanandan “Hypodermis (subcutis, subcutaneous tissue) <https://ohiostate.pressbooks.pub/vethisto/chapter/7-hypodermis-subcutis-subcutaneous-tissue/>” Chapter 7: Integument
- [27] Thompson JF1, Scolyer RA, Kefford RF. “Cutaneous melanoma.”,2005 (McMaster Pathophysiology Review <http://www.pathophys.org/melanoma/>)
- [28] Salvador J. Diaz-Cano “The spectrum of melanocytic lesions: From examples to biologically relevant conditions (https://www.researchgate.net/profile/Salvador_Diaz-Cano/publication/316635141_The_spectrum_of_melanocytic_lesions_From_examples_to_biologically_relevant_conditions/links/5908d5330f7e9b1d0812fe0e/The-spectrum-of-melanocytic-lesions-From-examples-to-biologically-relevant-conditions.pdf) ”, Bahrain, April 2017
- [29] Photon Etc. “Hyperspectral Imaging <http://www.photonetc.com/hyperspectral-imaging>”, Montreal, 2018
- [30] Wikipedia “Electromagnetic spectrum https://en.wikipedia.org/wiki/Electromagnetic_spectrum”, Montreal, 2018
- [31] M Shimada, Y Yamada, M Itoh, and T Yatagai. “Melanin and blood concentration in human skin studied by multiple regression analysis: experiments”, Physics in Medicine and Biology, Institute of Physics Publishing, 2001.
- [32] Anderson R R, Hu J, and Parrish J A. “Optical radiation transfer in the human skin and applications in in vivo remittance spectroscopy ”, Bioengineering and Skin ed R Marks and A P Payne (London: MTP Press) pp 253–65, 1980.
- [33] Anderson R R, and Parrish J A. “The optics of human skin”, Journal of Investigative Dermatology 77 13–9, 1981.
- [34] Juliana Hypolito Silva, Bianca Costa Soares de Sa, Alexandre Leon Ribeiro de A vila, Gilles Landman, and Joao Pedreira Duprat Neto. “Atypical mole syndrome and dysplastic nevi: identification of populations at risk for developing melanoma - review article”, JCLINICS 2011;66(3):493-499, 2011.