

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ATOMFIZIKAS UN SPEKTROKOPIJAS INSTITŪTS



Ilze Ļihačova

**ĀDAS ONKOĻOGISKO PATOĻOĻIJU
NOVĒRTĒJUMS AR MULTISPEKTRĀLĀS
ATTĒĻOŠANAS METODĒM**

PROMOCIJAS DARBA KOPSAVILKUMS

Doktora grāda iegūšanai fizikas nozarē
Apakšnozare: medicīniskā fizika

Rīga, 2015

Promocijas darbs izstrādāts Latvijas Universitātes Atomfizikas un spektroskopijas institūtā laika posmā no 2010. gada līdz 2014. gadam.



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ

Eiropas Sociālā fonda projekts „Atbalsts doktora studijām Latvijas Universitātē” Nr. 2009/0138/IDP/1.1.2.1.2./09/IPIA/VIAA/004.

Darba kopsavilkums sastāv no ievada, 4 nodaļām un literatūras saraksta.

Darba forma: publikāciju kopa fizikas nozarē, medicīniskās fizikas apakšnozarē.

Darba zinātniskais vadītājs: prof. *Dr. habil. phys. Jānis Spīgulis*

Darba recenzenti:

Dr. habil. phys. Ivars Lācis, Latvijas Universitāte

Dr. phys. Aleksejs Kataševs, Rīgas Tehniskā universitāte

Dr. biol. Dace Pjanova, Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2015. gada 29. jūnijā plkst. 14.00 LU Fizikas un matemātikas fakultātē Zeļļu ielā 8, 233. auditorijā.

Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties Latvijas Universitātes Bibliotēkā Raiņa bulvārī 19, Rīgā.

Promocijas padomes priekšsēdētājs: *Dr. habil. phys. Ruvins Ferbers*

Padomes sekretāre: **Laureta Buševica**

© Latvijas Universitāte, 2015

© Ilze Ļihačova, 2015

ISBN 978-9984-45-996-7

ANOTĀCIJA

Darbā izstrādātas un aprobētas 4 multispektrālās attēlošanas metodes ādas onkoloģisku patoloģiju (melanomu, pigmentētu bazālo šūnu karcinomu) un labdabīgu patoloģiju (nēvusu, asinsvadu veidojumu) atšķiršanai: 1) melanīna – deoksihemoglobīna relatīvo koncentrāciju korelāciju analīzes metode, 2) galveno komponentu analīzes metode, 3) melanomas – nēvusa, kā arī melanomas – pigmentētas bazālo šūnu karcinomas atšķiroša parametra kartēšana, izmantojot 3 šaurjoslas spektrālos attēlus, 4) šī parametra kartēšana, izmantojot ar modificētu videomikroskopu uzņemtus platjoslas spektrālos attēlus. Veikti klīniskie mērījumi, kas apliecina piedāvāto metožu noderību onkoloģisko patoloģiju agrīnam neinvazīvam novērtējumam.

Atslēgvārdi: ādas multispektrālā attēlošana, onkoloģisko ādas patoloģiju neinvazīvs novērtējums.

GALVENIE APZĪMĒJUMI

C – koncentrācija

CCD (no angļu val. *charge coupled device*) – lādiņsaītes matrica

E – eritēmas indekss

Hb – deoksihemoglobīns

HbO₂ – oksihemoglobīns

I – intensitāte

IS – infrasarkans

LED (no angļu val. *light emitting diode*) – gaismu emitējošā diode

M – melanīna indekss

Mel – melanīns

OD – optiskais blīvums

p vai **p'** – melanomas atšķiršanas kritērijs

PCA (no angļu val. *Principal Component Analysis*) – galveno komponentu analīze

RGB – krāsu modelis, kur R – sarkanā, G – zaļā, B – zilā komponente

UV – ultravioletais

λ – viļņa garums

ε – ekstinkcijas koeficients jeb molārās absorbcijas koeficients

SATURS

Anotācija	3
Galvenie apzīmējumi	4
1. Ievads	6
1.1. Tēmas aktualitāte un novitāte	6
Aktualitāte	6
Novitāte	6
1.2. Darba mērķis un uzdevumi	6
Darba uzdevumi:	7
1.3. Aizstāvēšanai izvirzītās tēzes	7
1.4. Īss izmantoto metožu raksturojums	7
1.5. Promocijas darba rezultātu aprobācija	8
2. Literatūras pārskaits	10
2.1. Ādas uzbūve	10
2.2. Ādas optiskās īpašības	11
2.3. Ādas hromoforas	14
2.4. Pigmentētās ādas patoloģijas	16
2.5. Ādas melanomas diagnostikas iespējas	17
3. Mērījumu un datu apstrādes metodikas	26
3.1. Ādas patoloģiju novērtējums, izmantojot multispektrālo attēlu datus	27
3.2. Modificēta digitālā video mikroskopa apraksts un tā izmantošana ādas patoloģiju novērtējumam	31
4. Mērījumu rezultāti	33
4.1. Patoloģiju novērtējums, izmantojot multispektrālo kameru Nuance EX	33
4.2. Ar pārveidoto digitālo videomikroskopu <i>Dino-Lite pro</i> iegūtie klīniskie rezultāti	43
5. Kopsavilkums	45
Aizstāvamās tēzes	47
Izmantotā literatūra	48
Pateicības	52

1. IEVADS

1.1. Tēmas aktualitāte un novitāte

Aktualitāte

Uz cilvēka ādas var veidoties dažādas patoloģijas, piemēram, labdabīgie nēvusi, kā arī tādi ādas audzēji kā pigmentēta bazālo šūnu karcinoma vai melanoma, kas ir ļaundabīgs un metastazēties spējīgs audzējs. Melanoma ir visagresīvākais ādas vēža tips un vispopulārākā ādas slimība, kura izraisa cilvēka nāvi, – mirstība no melanomas ir ap 80% no visiem letālajiem gadījumiem, kas konstatēti ādas vēža dēļ [1]. Agrīna melanomas diagnostika var būtiski ietekmēt cilvēka dzīves ilgumu. Melanomas agrīnās stadijas vizuālā līdzība ar nēvusiem un seborejiskām keratozēm ir liela, un precīzu diagnozi šobrīd spēj sniegt tikai invazīva, agresīva iejaukšanās cilvēka ādā – biopsija. Biopsija ir ne tikai sāpīga, bet arī metastazēšanās risku palielinoša diagnostikas metode. Tādēļ neinvazīvas metodes melanomas un citu onkoloģisko ādas veidojumu primārajā diagnostikā joprojām ir aktuālas dermatologiem un onkologiem visā pasaulē.

Līdz šim ir novērots, ka ādas veidojumu optiskā absorbcija var mainīties dažādās to attīstības stadijās [2, 3], un to var izmantot, lai izveidotu uz spektrālās attēlošanas principiem bāzētas *in vivo* ādas patoloģiju novērtējuma metodes.

Novitāte

Piedāvātas un klīniski apobētas četras jaunas optiskas bezkontakta metodes melanomas atšķiršanai no citiem pigmentētiem un vaskulāriem ādas veidojumiem:

- melanīna – deoksihemoglobīna relatīvo koncentrāciju korelāciju analīzes metode,
- spektrālo attēlu galveno komponentu analīzes metode,
- 3 šaurjoslas spektrālo attēlu analīzes metode, piedāvājot specifisku melanomas un pigmentēto veidojumu (nēvusa, pigmentētas bazālo šūnu karcinomas) atšķiršanas parametru,
- melanomas atšķiršanas parametra kartēšanas metode, izmantojot ar modificētu video mikroskopu uzņemtus platjoslas spektrālos attēlus.

1.2. Darba mērķis un uzdevumi

Darba mērķis ir izstrādāt un apobēt neinvazīvas, uz multispektrālo attēlošanu balstītas metodes ādas labdabīgo un ļaundabīgo veidojumu noteikšanai un atšķiršanai.

Darba uzdevumi:

- 1) uzkrāt labdabīgo un ļaundabīgo ādas patoloģiju multispektrālo attēlu masīvu datubāzi spektra diapazonā 450–950 nm;
- 2) izstrādāt multispektrālo attēlu analīzes metodiku, ar kuras palīdzību būtu iespējams atšķirt melanomu no citām ādas pigmentētām un vaskulārām patoloģijām;
- 3) piedāvāt klīniski izmantojamu metodi un kritēriju melanomas atšķiršanai no citām pigmentētām ādas patoloģijām pēc attēlu spektrālajām pazīmēm;
- 4) izveidot un klīniski aprobēt maketierīci melanomas atšķiršanai no nēvusa, modificējot digitālu videomikroskopu.

1.3. Aizstāvēšanai izvirzītās tēzes

1. Melnomas uzrāda augstāku melanīna un zemāku deoksihemoglobīna saturu nekā labdabīgie pigmentētie un vaskulārie veidojumi. Melanīna – deoksihemoglobīna relatīvo koncentrāciju korelāciju analīzes metode dod iespēju atšķirt melanomas no citiem ādas veidojumiem.
2. Izmantojot galveno komponentu analīzes metodes pirmo divu komponentu ($PC1$ vs. $PC2$) korelāciju grafiku, 87% gadījumu ir iespējams melanomas atšķirt no nēvusiem ar jutību un specifiskumu, 69% gadījumu – no izvirzītiem un 83% gadījumu – no plakaniem nēvusiem.
3. Piedāvātais melanomas atšķiršanas kritērijs p , kas iegūts no trim šaurjoslas spektrālajiem optiskā blīvuma attēliem (OD_{540} , OD_{650} , OD_{950}), ir izmantojams melanomas atšķiršanai no nēvusiem ar augstu jutību un specifiskumu (attiecīgi 94% un 89%). Šī kritērija attēlošana pelēkā skalā ir ērta primārās ekspresdiagnostikas metode, jo sniedz tūlītēju secinājumu par ādas veidojuma labdabību vai ļaundabību.
4. Ir iespējams primāri atšķirt melanomas no citiem pigmentētiem ādas veidojumiem, izmantojot modificētu digitālo videomikroskopu ar nomainītu apgaismes sistēmu un programmatūru.

1.4. Īss izmantoto metožu raksturojums

Multispektrālā attēlošana – no ādas difūzi atstarotās gaismas attēlu uzņemšana dažādās spektra joslās (piemēram, izmantojot šaurjoslas optiskos filtrus vai krāsu diodes).

Galveno komponentu analīzes metode – statistiska datu apstrādes metode, kurā izmanto ortogonālo transformāciju, lai iespējami saistīto datu kopumu pārvērstu par lineāri nesaistītiem mainīgajiem jeb galvenajiem komponentiem.

Nelineārā mazāko kvadrātu metode – metode, kuru izmanto, lai nelineāram modelim ar m mērījumiem piemeklētu n nezināmos parametrus ($m > n$).

1.5. Promocijas darba rezultātu aprobācija

Publicēti 10 raksti starptautiski citētos zinātniskos izdevumos (t. sk. 4 raksti – žurnālos ar aprēķinātu citējamības indeksu, 6 raksti – konferenču rakstu krājumos).

P1. I. Diebele, I. Kuzmina, A. Lihachev, J. Kapostinsh, A. Derjabo, L. Valeine, J. Spigulis, „Clinical evaluation of melanomas and common nevi by spectral imaging”, *Biomedical Optics Express* 3 (3), 467-472 (2012) (Impact Factor: 3.176).

P2. I. Kuzmina, I. Diebele, D. Jakovels, J. Spigulis, L. Valeine, J. Kapostinsh, A. Berzina, “Towards non-contact skin melanoma selection by multi-spectral imaging analysis”, *Journal of Biomedical Optics* 16 (6), 1-3 (2011) (Impact Factor: 3.157).

P3. A. Bekina, I. Diebele, U. Rubins, J. Zaharans, A. Derjabo, J. Spigulis, „Multispectral assessment of skin malformations by modified video- microscope”, *Latvian Journal of Physics and Technical Sciences*, 49 (5), 4-8 (2012) (Impact Factor: 0.435).

P4. U. Rubins, J. Zaharans, I. Ļihačova, J. Spigulis, „Multispectral video-microscope modified for skin diagnostics”, *Latvian Journal of Physics and Technical Sciences*, 51 (5), 65-70 (2014) (Impact Factor: 0.448).

P5. I. Kuzmina, I. Diebele, L. Valeine, D. Jakovels, A. Kempele, J. Kapostinsh, J. Spigulis, “Multi-spectral imaging analysis of pigmented and vascular skin lesions: results of a clinical trial”, *Proc. SPIE* 7883, 788312-1-7 (2011).

P6. I. Diebele, I. Kuzmina, J. Kapostinsh, A. Derjabo, J. Spigulis, “Melanoma-nevus differentiation by multispectral imaging”, *Proc. SPIE* 8087, 80872G (2011).

P7. I. Diebele, I. Kuzmina, A. Derjabo, J. Kapostinsh, A. Bekina, J. Spigulis, “Analysis of skin basalioma and melanoma by multispectral imaging”, *Proc. SPIE* 8427, 842732 (2012).

P8. I. Lihacova, A. Derjabo, J. Spigulis, „A multispectral imaging approach for diagnostics of skin pathologies”, *Proc. SPIE* 8798, 87980X (2013).

P9. D. Jakovels, I. Lihacova, I. Kuzmina, J. Spigulis, “Evaluation of skin melanoma in spectral range 450-950 nm using principal component analysis”, *Proc. SPIE* 8803, 88030C (2013).

P10. D. Jakovels, I. Lihacova, I. Kuzmina, J. Spigulis, “Application of principal component analysis to multispectral imaging data for evaluation of pigmented skin lesions”, *Proc. SPIE* 9032, 903204 (2013).

Rezultāti publiski prezentēti 13 starptautiskās konferencēs.

C1. „SPIE Photonics West – BIOS”, San Francisco (USA), 2011, [P2].

C2. „Developments in Optics and Communications”, Riga (Latvia), 2011, [P1, P6].

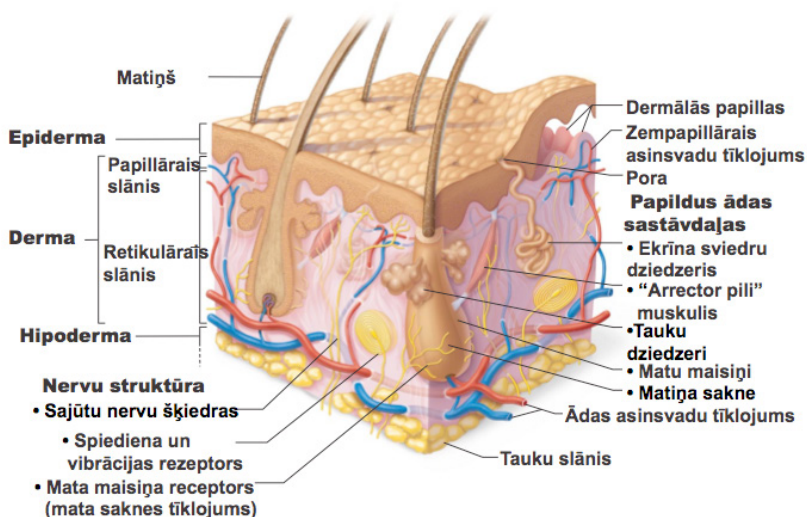
- C3.** „European Conferences on Biomedical Optics”, Munich (Germany), 2011, [P1, P6].
- C4.** „Apvienotais pasaules latviešu zinātnieku III kongress”, Rīga (Latvia), 2011, [P1, P6].
- C5.** „Biophotonics in dermatology and cardiology”, Rīga (Latvia), 2012, [P1, P2, P5, P6].
- C6.** „Developments in optics and communications”, Rīga (Latvia), 2012, [P1, P3, P4, P5, P6, P7].
- C7.** „Photonics Europe”, Brussels (Belgium), 2012, [P7].
- C8.** „International Association for Spectral Imaging”, Jurmala (Latvia), 2012, [P3, P4, P7].
- C9.** „BioPhotonics and Imaging Conference BioPIC13”, Dublin (Ireland), 2013, [P3, P4].
- C10.** „Developments in Optics and Communications”, Rīga (Latvia), 2013, [P3, P4, P9, P10].
- C11.** „European Conferences on Biomedical Optics”, Munich (Germany), 2013, [P7, P8, P9, P10].
- C12.** „Progress In Electromagnetics Research Symposium (PIERS)”, Stockholm (Sweden), 2013, [P1, P2, P5, P6, P7, P8].
- C13.** „Biophotonics – Riga 2013”, Rīga (Latvia), 2013, [P8, P9, P10].

Promocijas darba kopsavilkuma apjoms – 52 lpp., tajā ir 5 nodaļas, 30 attēli, 2 tabulas, citēti 113 literatūras avoti.

2. LITERATŪRAS PĀRSKATS

2.1. Ādas uzbūve

Āda no optikas viedokļa ir heterogēna slāņaina vide, kurā dažādos dziļumos izvietoti absorbējoši pigmenti [4–10]. Cilvēka āda sastāv no trīs pamata slāņiem: epidermas (no asinīm brīvs, melanīnu saturošs slānis; biežums 100 μm), dermas (slānis, kurā atrodas hemoglobīnu saturošie asinsvadi; biežums 1–4 mm) un hipodermas jeb zemādas taukiem (biežums 1–6 mm atkarībā no lokācijas vietas). Detalizēta ādas uzbūve atainota 1. attēlā [5].



1. att. Ādas uzbūve un sastāvs [5]

Epiderma

Epidermu var iedalīt divos slāņos – nedzīvajā un dzīvajā epidermā. Nedzīvā epiderma ir 20 μm bieza un sastāv no plakanām mirušām šūnām – keratinocītiem – ar augstu lipīdu, proteīnu un zemu ūdens saturu. Keratinocīti producētais šķiedrainais proteīnkeratīns nodrošina ādas aizsargfunkciju [4–7, 9]. Dzīvās epidermas biežums ir 100 μm , un tā sastāv pārsvarā no melanocītiem, kuri producē melanīnu [11]. Lielas melanīna daļiņas, tādās kā melanosomas (> 300 nm diametrā), veicina gaismas izkliedi galvenokārt taisnā virzienā, savukārt mazās melanīna daļiņas (< 30 nm diametrā) rada izkliedes profila simetriju [4, 10]. Vēl dzīvajā epidermā atrodas Merkela un Langerhansa šūnas. Langerhansa šūnas

palīdz aktivizēt imūnsistēmu. Merkela šūnas ir cieši saistītas ar jušanas nerva galu un atbild par taustes sajūtu [5].

Derma

Zem epidermas atrodas otra ādas slānis – derma. Tas sastāv no saistaudiem, kuru galvenais komponents ir kolagēns (70% dermas sausā svāra). Kolagēns ir visbiežāk sastopamais proteīns cilvēka organismā, un tā galvenā funkcija ir nodrošināt dermas stiepes izturību. Kolagēns ādā sastopams kā šķiedras, kuras veidojas no smalkām mikrošķiedrām. Šīs mikrošķiedras, savukārt, ir veidotas no atsevišķām 300 nm garām un 1,5 nm platām kolagēna molekulām [12].

Vēl viens būtisks saistaudu komponents ir elastīns, kas ādā sastopams kā stipri sazarota struktūra. Elastīns ir proteīns, kas dermā aizņem relatīvi mazu daļu, un tas atbild par ādas fizioloģisko elastību [12].

Dermā atrodas nervu šķiedras, asinsvadi, limfvadi, matu folikuli, tauku un sviedru dziedzeri. Derma sastāv no 4 slāņiem – papillārās dermas (biezums ~ 150 μm), augšējā asinsvadu tīklojuma (biezums ~ 100 μm), retikulārās dermas (biezums ~ 1–4 mm) un dziļo asinsvadu tīklojuma (biezums ~ 100 μm).

Dermas galvenie absorbenti redzamajā spektra daļā ir hemoglobīns, karotīns un bilirubīns, infrasarkanajā daļā galvenais absorbents ir ūdens [4, 5, 8].

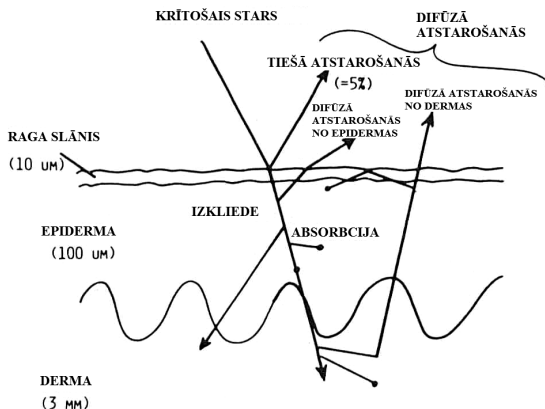
Tā kā derma ir salīdzinoši biežāka (1–4 mm [9]) par citiem slāņiem, tad izkliedes īpašības ādā parasti tiek aprakstītas ar izkliedi dermālajā slānī. Visas ādas absorbcijas īpašības tiek aprakstītas ar asins (oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna) un ūdens absorbciju dermā un lipīdu, melanīnu (eimelanīna un feomelanīna) absorbciju epidermā [4].

Hipoderma

Hipoderma galvenokārt sastāv no zemādas tauku kārtas, kas, savukārt, sastāv no tauku šūnām. Tauku šūnas iesaistās termoregulācijā un barības vielu rezervju uzkrāšanā [10]. Lielāko daļu tauku šūnas tilpuma (95%) aizņem lipīdi. Tauku šūnu diametrs var būt 15–250 μm [13], un to vidējais diametrs ir no 50 [14] līdz 120 μm [15]. Zemādā atrodas artērijas un vēnas. Nervi un retikulārās šķiedras saistās ar katru šūnu, nodrošinot vielmaiņu. Šo slāni raksturo hemoglobīna, lipīdu un ūdens absorbcija. Galvenie izkliedētāji ir sfēriski lipīdu pilieni, kas vienmērīgi izkārtājušies tauku šūnās [4].

2.2. Ādas optiskās īpašības

No optikas viedokļa āda ir nehomogēna vide ar neregulāri izvietotām šūnām, šķiedrām, molekulām. Lai aprakstītu normālas ādas optiku, piedāvāta vienkāršota shēma (2. attēls), kas apraksta gaismas izplatīšanos ādā [16].



2. att. Optiskie ceļi ādā – shematisks attēlojums [16]

Krītošais starojums tiek sadalīts komponentēs – atstarotajā, caurizgājušajā, izkliedētajā un absorbētajā gaismā.

Audu optiskās īpašības pamatā nosaka vides laušanas koeficients n , absorbcijas koeficients μ_a [mm^{-1}], izkliedes koeficients μ_s [mm^{-1}] un anizotropijas faktors g [18, 19].

Vides laušanas koeficientu n var izteikt kā elektromagnētiskā starojuma izplatīšanās ātrumu vakuumā c attiecību pret elektromagnētiskā starojuma ātrumu vidē v :

$$n(\lambda) = \frac{c}{v(\lambda)} \quad (1)$$

Gaismas absorbciju var aprakstīt ar absorbcijas koeficientu μ_a [cm^{-1}] vai ekstinkcijas koeficientu jeb molāro absorbciju ϵ [$\text{cm}^{-1}(\text{mol/L})^{-1}$] [20, 21]:

$$\mu_a(\lambda) = \ln(10) \cdot \epsilon(\lambda) \cdot C, \quad (2)$$

kur C ir hromoforas koncentrācija, un tā tiek izteikta ar mol/L vai g/L.

Raga slānis un epiderma tiek raksturota kā vide, kurā dominē uz priekšu vērsta izkliede. Ja izkliedētājdaļiņu izmēri (piem., šūnas organellas) ir aptuveni vienādi vai lielāki par gaismas viļņa garumu, tad darbojas Mī izkliede. Mī izkliedē gaismā tiek stipri izkliedēta uz priekšu jeb krītošā stara virzienā [22].

Dermā esošo kolagēna šķiedru (cilindriskas, diametrā aptuveni $2,8 \mu\text{m}$ [23]) dēļ cilvēka ādā lielākoties darbojas Mī izkliede [24], kamēr mazāku izmēru kolagēnu šķiedras un mikrostruktūras (daļiņas, kuru izmēri mazāki par krītošās gaismas viļņa garumu) ir atbildīgas par Releja izkliedi. Releja izkliedē izkliedētās gaismas intensitāte ir tieši proporcionāla izkliedes leņķa kosinusa kvadrātam

$\cos^2 \theta$ un apgriezti proporcionāla krītošās gaismas viļņa garumam ceturtajā pakāpē λ^4 [22].

Līdzīgi kā absorbcijas koeficientu μ_a [cm^{-1}], arī izkliedes koeficientu μ_s [cm^{-1}] var raksturot ar attālumu, ko fotons veic, līdz tiek atkārtoti izkliedēts.

Raksturojot izkliedi, vienlīdz svarīgi ir zināt izkliedes gadījumu skaitu noteiktā ceļa garumā, kā arī fotona virzienu pēc izkliedes. Izkliedi raksturo anizotropijas faktors g , kas ir visu izkliedes leņķu θ vidējā kosinusa vērtība:

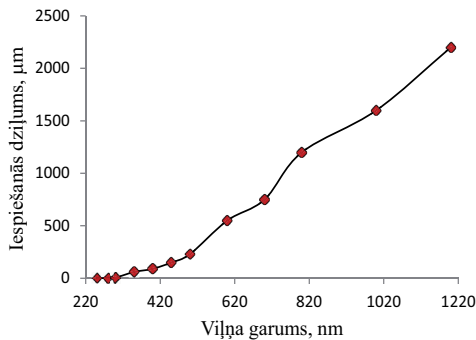
$$g = \langle \cos \theta \rangle \quad (3)$$

Ja anizotropijas faktors ir tuvs 0, tad izkliede ir izotropiska, ja $g \sim 1$, tad pārsvarā darbojas uz priekšu vērsta izkliede. Vidējais anizotropijas faktors g ādā ir $\sim 0,8$ [19]. Difūzai izklidei ādā tiek ieviests reducētais izkliedes koeficients μ'_s [mm^{-1}] [25]:

$$\mu'_s(\lambda) = \mu_s(\lambda) \cdot (1 - g) \quad (4)$$

Daļa no sākotnējā, ādā ieejošā starojuma tiek atstarota no epidermas augšējā slāņā (*stratum corneum*) vides laušanas koeficientu maiņas dēļ ($n_{\text{gais}} = 1,0$, $n_{\text{str.corneum}} = 1,55$) [26]. Ja krītošais starojums ir tuvs 90 grādiem pret ādas virsmu, tad parasti tiešā atstarošanās no normālas ādas virsmas spektra daļā 250–3000 nm ir starp 4% un 7% gan gaišai, gan tumšai ādai [16].

Lielākā daļa (93–96%) krītošās gaismas no ādas slāņiem neatgriežas tiešās atstarošanās rezultātā, bet gan tiek izkliedēta vai absorbēta. Abi šie procesi nosaka gaismas iespiešanās dziļumu ādā, kā arī atpakaļ atstarotā starojuma intensitāti [16]. Par vidējo iespiešanās dziļumu ādā pieņemts uzskatīt to attālumu no ādas virsmas, kurā sākotnējā starojuma intensitāte ir samazinājusies e reizes ($e = 2,71$). Optiskā starojuma vidējie iespiešanās dziļumi atkarībā no viļņa garuma redzami 3. attēlā [16]. Optiskais starojums 600–1300 nm ietiecas visdziļāk cilvēka ādā [27].



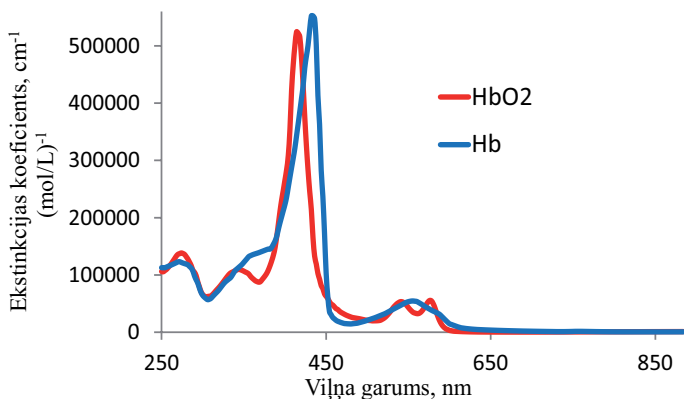
3. att. Optiskā starojuma vidējais iespiešanās dziļums ādā atkarībā no starojuma viļņa garuma [16]

2.3. Ādas hromoforas

Vielas, kuras absorbē optisko starojumu ādā, sauc par hromoforām. Kā jau iepriekš minēts, spēcīgākie absorbenti ādā ir asinis (oksihemoglobīns un deoksihemoglobīns), bilirubīns un ūdens dermā un melanīns (eimelanīns un feomelanīns) epidermā [4].

Hemoglobīns

Dermālajā slānī asinis aizņem 2–7% tilpuma daļu [27–30]. Asins šūnās atrodas dabiskā hromofora – hemoglobīns, kura koncentrācija ir 143–173 g/L [31]. Hemoglobīna absorbciju nosaka piesaistītā skābekļa daudzums. Hemoglobīns atkarībā no skābekļa daudzuma tiek iedalīts divos tipos – oksihemoglobīnā un deoksihemoglobīnā. Pieaugušam cilvēkam skābekļa saturs artērijās parasti ir virs 95% [32], bet vēnās 60–70% [33]. Asins optiskās īpašības tiek definētas gan ar oksihemoglobīna, gan deoksihemoglobīna absorbciju. Oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna ekstinkcijas koeficientu spektri [34] intervālā 250–850 nm redzami 4. attēlā.

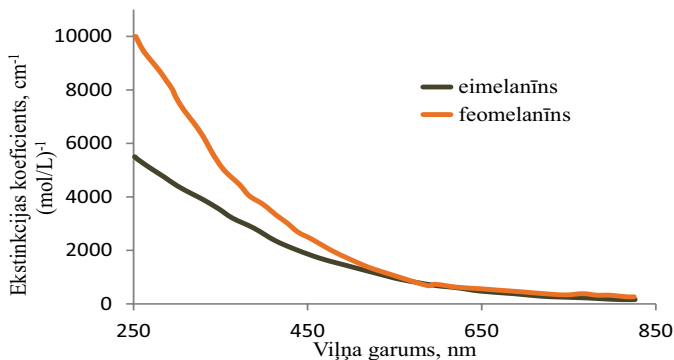


4. att. Oksihemoglobīna (HbO₂) un deoksihemoglobīna (Hb) ekstinkcijas koeficientu spektri intervālā 250–850 nm [34]

Melanīns

Melanīni ir heterogēni biopolimēri, kas plaši izplatīti cilvēka organismā. Tie tiek sintezēti epidermas melanocītu melanosomās tirozīna enzimatiskās oksidācijas rezultātā [35, 36]. Melanīnu iedala eimelanīnā (tumši brūns līdz melns pigments, tā sastāvā ir slāpekļis) un feomelanīnā (dzeltens līdz sarkanbrūns pigments, kas satur sēru) [37]. Melanīna tilpuma daļa melanosomās aizņem 1,3–6,3% gaiši pigmentētai ādai un 18–43% tumšai ādai [28, 29]. Eimelanīna un feomelanīna ekstinkcijas koeficientu spektri intervālā 250–850 nm redzami

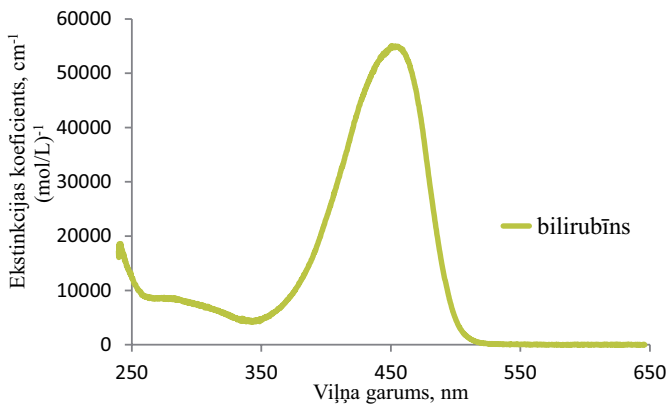
5. attēlā [38, 39]. Ņemot vērā melanīnu absorbcijas spektrus, to galvenā funkcija ir aizsargāt ādu, matus un acis no saules izstarotā starojuma bojājumiem [40–42].



5. att. Eimelanīna un feomelanīna ekstinkcijas koeficientu spektri intervālā 250–850 nm [38, 39]

Bilirubīns

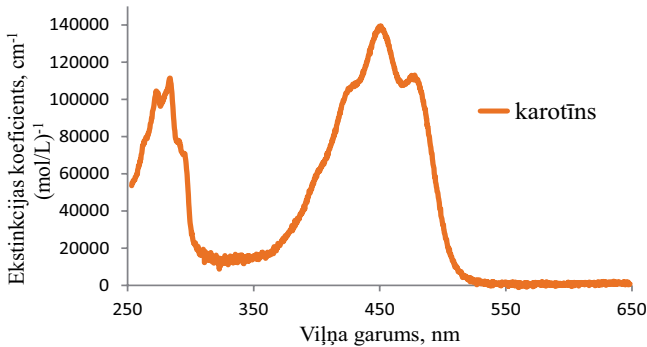
Bilirubīns ir toksisks, katabolisks hemoglobīna gala produkts, kas, hepatocītos savienojoties ar glikuronskābi, tiek izvadīts no plazmas un gala rezultātā izdalās žultī [43–45]. Bilirubīnu ādā dažkārt var novērot dzeltes veidā jaundzimušajiem, kā arī tas parādās ādā cilvēkiem, kuriem ir aknu disfunkcija. Šādā gadījumā aknas nespēj tikt galā ar visu bilirubīnu; liekais tiek uzkrāts asinīs un nogādāts līdz audiem, izraisot dzeltenu ādas krāsu [46, 47]. Bilirubīns var parādīties arī ādas sasitumos, savainojumos, ekstravaskulāro eritrocītu sadalīšanās procesu rezultātā [48]. Bilirubīna absorbcijas spektrs sniegts 6. attēlā [49].



6. att. Bilirubīna ekstinkcijas koeficientu spektrs intervālā 250–650 nm [49]

Karotīns

Cilvēka organisma aizsardzības mehānisms ir balstīts uz tādu antioksidantu darbību kā karotinoīdi. Ar karotinoīdiem apzīmē molekulu grupu, kura sastāv no 600 dažādu variantu molekulām [50]. Karotinoīdi efektīvi slāpē ķīmiski reaktīvās molekulas, kuru sastāvā ir skābeklis, lai organismā nesāktos destruktīvas reakcijas – ādas novecošanās [51, 52], oksidatīvi šūnu bojājumi [53, 54], ādas vēzis [55–57]. Beta karotīns un likopēns veido ap 70% no visiem karotenoīdiem, kas atrodami cilvēka organismā [58]. Visiem karotinoīdiem, kas sastopami ādā, izņemot likopēnu, ir līdzīgs absorbcijas spektrs [59]. Beta karotīna absorbcijas spektrs redzams 7. attēlā [60].



7. att. Beta karotīna ekstinkcijas koeficientu spektrs intervālā 250–650 nm [60]

2.4. Pigmentētās ādas patoloģijas

Šajā nodaļā aprakstītas tikai tās pigmentētās ādas patoloģijas, kurām ir būtiska loma autores publikācijās.

Nēvuss

Nēvuss ir dzimumzīmes medicīniskais nosaukums. Nēvuss ir visbiežāk sastopamā labdabīgā ādas patoloģija. Tas ir labdabīgs ādas audzējs, kas rodas no nevomelanocītiem. Nevomelanocīti ir pigmentu ražojošas šūnas epidermas zemākajā slānī. Nēvusos nevomelanocīti ir sagrupējušies lielā koncentrācijā [61]. Nevomelanocītu nēvusos pēc lokācijas ādas slāņos iedala trīs grupās:

- *robežnēvusi*: veidojas uz epidermas – dermas bazālās membrānas epidermas pusē jeb epidermā;
- *kombinētie nēvusi*: nēvusa šūnas ietiecas papillārajā dermā, un nēvusu šūnu grupas ir atrodamas gan epidermā, gan dermā;
- *dermālie nēvusi*: pēdējā nevomelanocītu nēvusu stadija. Nēvuss atrodas un aug tikai dermā [61].

Melanoma

Ādas melanoma ir visagresīvākais ādas vēzis. Melanoma var rasties no:

- melanocītu ļaundabīgām transformācijām uz dermas – epidermas robežas;
- displastiska melanocītiska nēvusa nevomelanocītiem;
- iedzimta nevomelanocītu nēvusa, kurš kļūst agresīvs un sāk veidot metastāzes [61].

Tikai 30% no visām melanomām rodas no melanocītiskiem veidojumiem; 70% izveidojas normālā ādā. Pārsvārā visas melanomas to sākuma stadijā izplešas radiāli pa ādas virsmu un tikai pēc tam sākt augt vertikāli dziļumā. Atklājot un likvidējot melanomu tās sākuma stadijā, iespējams būtiski palielināt cilvēka dzīvildzi [61].

Bazālo šūnu karcinoma

Bazālo šūnu karcinoma ir visizplatītākais, bet arī vismazāk postošais ādas vēzis cilvēkiem. Tas rodas ādā no epidermas bazālā slāņa šūnām, tām ietecoties dermā un hipodermā. Bazālo šūnu karcinoma rodas UVB (290–320 nm) starojuma ietekmē, radot mutācijas gēnos. Tā ir invazīva, agresīva, lēni augoša, bet tā nerada metastāzes. Klīniski bazālo šūnu karcinomu iedala: nodulārā, čūlojoša, pigmentētā, sklerozējošā un virspusējā karcinoma. Šajā darbā tuvāk apskatīta pigmentētā bazālo šūnu karcinoma (pigmentētā bazalioma), jo tā ir līdzīga melanomai.

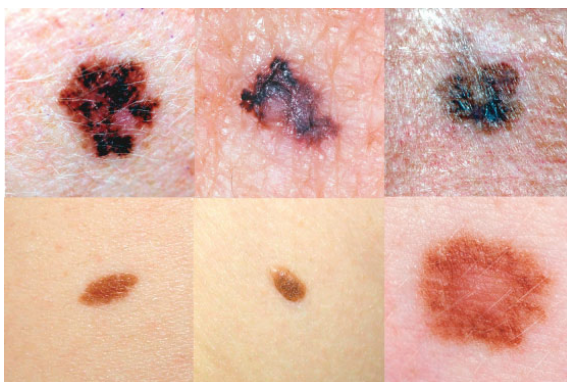
Pigmentētas bazālo šūnu karcinomas krāsa var variēt no brūnas līdz zilai vai melnai. Tā ir gluda, ar cietu, spīdīgu virsmu. Bieži vien, kaut arī tā ir cietāka, to ir grūti atšķirt no virspusējas vai nodulāras melanomas [5, 61].

2.5. Ādas melanomas diagnostikas iespējas

Pēdējo 30 gadu laikā melanomas diagnostikas iespējas ir nozīmīgi augušas [62]. Pirms 1980. gada melanoma tika diagnosticēta kā liela, poraina, čūlojoša brūce, kas atbilst melanomas pēdējai stadijai [63]. Melanomas izplatība Amerikas Savienotajās Valstīs (ASV) un pasaulē kopš tā laika ir augusi, un tās agrīna diagnostika ir kļuvusi par svarīgu sabiedrības veselības prioritāti [64].

ABCD(E) kritēriji melanomas diagnostikā

Ņujorkas Universitātes grupa 1985. gadā ārstu un sabiedrības izglītošanai ieviesa ABCD kritērijus melanomas diagnostikai. ABCD kritēriji liek katru pigmentētu veidojumu analizēt pēc tā A – asimetrijas (*Asymmetry*), B – robežas neregularitātes (*Border irregularity*), C – krāsas mainīguma (*Color variegation*), D – diametra > 6 mm (*Diameter*) [65, 66]. Melanomai var atbilst gan visi šie kritēriji kopā, gan A, B, C vai D kritērija variācijas. Ieviešot šos kritērijus, kļuva iespējama melanomas atšķiršana agrīnā stadijā no labdabīgiem pigmentētiem veidojumiem (sk. 8. attēlu [62]).



8. att. Agrīnas melanomas (augšā) ar redzamām ABCD pazīmēm salīdzinājums ar labdabīgiem nēvusiem (apakšā) [62]

Vēlāk ABCD kritēriji tika papildināti ar vēl vienu burtu – E, kas atbilst jaunveidojuma mainībai un attīstībai (*Evolving*) [67].

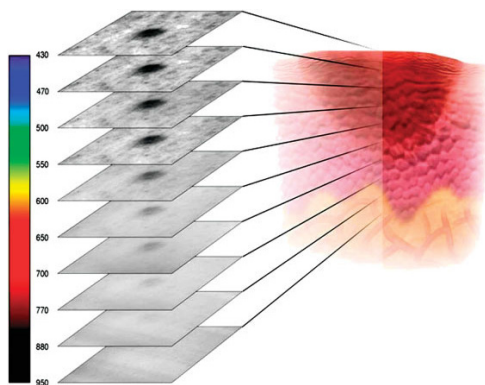
Digitāla attēlu uzņemšana un analīze

MoleMax ir datorizēts polarizētas gaismas dermoskops [68]. Polarizētas gaismas avots apvienots ar rokas videomikroskopu; starp ādu un aparāturu nav nepieciešams lietot eļļu vai kontaktšķīdumu. *MolMax* ļauj vairākas reizes uzņemt visa ķermeņa pigmentēto veidojumu karti un salīdzināt tos ar iepriekšējiem datiem, tādējādi novērojot veidojumu attīstību laikā [64].

Multispektrālā digitālā dermoskopija un attēlu analīze

Gaismas iespiešanās dziļums ādā ir atkarīgs no viļņa garuma [16]. Tādējādi ir iespējams uzņemt attēlus pie dažādiem viļņa garumiem un iegūt informāciju par dažādiem ādas slāņiem (sk. 9. att. [62]). Informācija no dažādiem ādas slāņiem ļauj noteikt, cik dziļi veidojums atrodas, tas, savukārt, norāda, vai veidojums ir labdabīgs vai ļaundabīgs [69, 70]. Izmantojot šo metodi, iespējams iegūt informāciju par ādu 2 mm dziļumā [62]. Publikāciju kopsavilkumā iegūtie attēli ar multispektrālo kameru *Nuance EX* pie katra viļņa garuma raksturo integrālo starojumu, gaismai ejot cauri visiem ādas slāņiem.

MelaFind ir multispektrāls, digitāls mikroskops ar speciālu zondi un programmatūru, kas ļauj atšķirt ādas melanomu no labdabīgiem ādas veidojumiem ar jutību 95–100% un specifiskumu 70–85% [71]. Jaunākie dati gan liecina, ka dermatologu rokās *MelaFind* jutība uz melanomām ir 78% un specifiskums – 45,8% [72]. *MelaFind* tiek izmantots platjoslas gaismas avots (ksenona lampa) ar 10 dažādu viļņu garumu filtriem (430–950 nm), kuri novietoti uz rotējoša diska. Uzsūtītā programmatūra 3 sekunžu laikā uzņem 10 attēlus, no kuriem pēc tam



9. att. Attēli pie dažādiem viļņa garumiem satur informāciju par ādas slāņiem dziļumā [62]. Šī informācija ir integrālais signāls, kas rodas, gaismai ejot cauri visiem ādas virsējiem slāņiem, kā arī izkļiedes dēļ

tiek aprēķināta *wavelet maxima*, asimetrija, krāsu mainīgums, perimetra un tekstūras izmaiņas. Gala rezultātā tiek piedāvāta rekomendācija, vai ir nepieciešams veikt biopsiju (parauga izgriešanu no aizdomīgā ādas veidojuma) [73, 74].

SolarScan sastāvā ietilpst 3 lādiņšaišu (CCD) matricu video kamera, kas uzņem ādas veidojumu attēlus. Videokameras galviņa tiek savienota ar ādu, izmantojot eļļu. Iegūtie attēli tiek salīdzināti ar datubāzi, kurā ir vairāk nekā 1800 labdabīgu un ļaundabīgu veidojumu. *SolarScan* ļauj saglabāt jaunveidojumu attēlus un vienlaicīgi salīdzināt viena veidojuma attēlus 4 dažādos laika brīžos. Ar *SolarScan* tiek analizēti 14 dažādi dermaskopisko krāsu toņi, piemēram, zili baltais plīvurs, kas ir būtiskākā invazīvas melanomas iezīme [62, 75, 76].

SIAscope (Spectrophotometric Intracutaneous Analysis) ir rokas skeneris, ar kuru uzņem 8 dažāda viļņa garuma attēlus spektra intervālā 400–1000 nm. Programmatūra analizē pigmentētā veidojuma sadalījumu uz ādas virsmas un melanīna, hemoglobīna un kolagēna daudzumu papillārajā dermā [62, 77].

Ādas diagnostika, izmantojot lāzeru

Konfokālā lāzerskenējošā mikroskopijā izmanto zemas jaudas (zem 30 mW) tuvā infrasarkanā (parasti ap 830 nm) lāzera starojumu, lai netiktu traumēti dzīvie audi [78]. Izmantojot objektīva lēcu, lāzera stars tiek fokusēts vienā punktā ādā. Gaisma tiek izkļiedēta, fluorescēta vai atstarota atpakaļ un fokusēta uz mazu, apaļu diafragmu, kas novietota detektora priekšā. Tādā veidā tikai gaisma, kas nāk no izvēlēta punkta ādā, tiek fokusēta uz diafragmu un nonāk uz detektora. Pēc tam lāzera stars tiek pārvietots dažus mikronus x ass virzienā un tiek iegūts nākamais attēla punkts. Lai iegūtu virsmas attēlu, gaismas stars ar spoguļīšu palīdzību tiek skenēts pa x un y asi. Lai iegūtu informāciju no dažādiem slāņiem ādas dziļumā, tiek pārvietota fokālā plakne ar diafragmu

[78]. Ar konfokālo mikroskopu iegūtie attēli, kuros redzamas mikroanatomiskās struktūras, tiek analizēti, balstoties uz histopatoloģisko novērtējumu [79].

Refleksijas konfokālais mikroskops. Ar refleksijas konfokālo mikroskopu iespējams iegūt augstākas izšķirtspējas dermaskopisko struktūru attēlus. Tajā tiek izmantots koherents gaismas avots spektra intervālā 550–1000 nm, kas ļauj iegūt attēlus no dažādiem ādas slāņiem. Refleksijas konfokālais mikroskops nav tik efektīvs, analizējot dziļākas struktūras, kā konfokālais lāzerskenējošais mikroskops [80].

Optiskās koherences tomogrāfijā tiek izmantots nepārtraukti spīdošs zemas koherences gaismas avots. Optiskās koherences tomogrāfijā tiek mērīta divu gaismas viļņu – references un no parauga atstarotās gaismas – interference. No parauga atstarotās gaismas koherence satur informāciju par lidojuma laika nobīdi, jo notiek atstarošanās no parauga robežām vai no atpakaļ izkļiedējošajām vietām audos. Nobīdes informācija tiek izmantota, lai noteiktu atstarojošo audu atrašanās vietu ādas dziļumā. Optiskās koherences tomogrāfa sistēma veic vairākkārtīgu skenēšanu dažādās parauga vietās, lai iegūtu trīsdimensionālu audu karti [81]. Gaismas atstarošanās no dažādām struktūrām ādā (melanīnu, šūnu membrānām) rada attēlu kontrastu, kas korelē ar noteiktu patoloģiju. Melanoma uzrāda nevienmērīgu struktūru, sliktāk definētu dermas – epidermas robežu, vertikāli orientētas lāstekveida struktūras, kas nav novērojamas nēvusos [82].

Ādas diagnostika, izmantojot ultraskaņu

Ultraskaņas iekārta ģenerē ultraskaņas impulsus un uztver no audiem atstaroto signālu. Ādas ultraskaņas diagnostikā izmanto B režīma (*Brightness mode* jeb *B mode*) attēlošanu. B režīms ļauj iegūt divdimensionālus melnbaltus attēlus no dažādiem slāņiem audos [83]. Jo blīvāki audi, jo vairāk signāla atstarojas atpakaļ, un attēlā tas parādās kā gaišs laukums [84]. Palielinot frekvenci, var samazināt ultraskaņas iespiešanās dziļumu, tādēļ frekvenci var izvēlēties atkarībā no veidojuma lokācijas vietas, dziļuma un diametra [85]. Izmantojot 20 MHz ultraskaņu un B režīma attēlošanu, ir iespējams klasificēt dažādus pigmentētus veidojumus [86].

Šūnu elektriskās pretestības jeb bioimpedances mērījumi melanomas diagnostikā

Bioimpedances mērījumi ir atkarīgi no šūnu formas, struktūras, izmēra, šūnu membrānām, ūdens daudzuma šūnās. Tā kā vēža šūnas no labdabīgām šūnām atšķiras, tad, balstoties uz šīm īpašībām, iespējams veikt diagnostiku [87, 88]. Bioimpedances mērījumi tiek veikti aizdomīgo pigmentēto veidojumu centrā, kā arī tiek iegūts references mērījums veselā ādā. Informācija par audiem tiek apkopota no 5 dziļuma slāņiem (0,1–2 mm dziļumā), un dati tiek analītiski apstrādāti, izmantojot specializētu datorprogrammu [89].

Iepriekš minēto metožu jutība, specifiskums, priekšrocības un trūkumi uzskaitīti 1. tabulā [62, 90].

1. tabula

Tehnoloģija	Jutība (<i>sensitivity</i>)	Specifiskums (<i>specificity</i>)	Priekšrocības	Trūkumi
<i>MoleMax</i>	Nav datu	Nav datu	Divu kameru sistēma; nav nepieciešama eļļa, lai savienotu iekārtu ar ādu; iespēja pārklāt viena un tā paša veidojuma vēsturiskos attēlus, kas uzņemti dažādos laika brīžos; visa ķermeņa fotografēšana	Netiek piedāvāta analīzes programmatūra
<i>MelaFind</i>	95–100% (praksē 78% [72])	70–85% (praksē 45,8% [72])	Multispektrālo attēlu kopums tiek uzņemts < 3 sekundēs; ērts rokas skeneris	-
<i>Spectro-photometric Intra-cutaneous Analysis</i> jeb <i>SIAscope</i>	83–96%	80–87%	Izmantojams mazu, pigmentētu ādas veidojumu (2 mm diametrā) diagnostikā; iegūst ādas struktūru, asinsvadu sastāvu, pigmenta tiklojumu; rokās turams skeneris	-
<i>SolarScan</i>	91%	68%	Veidojumu salīdzināšanai programmatūrā iekļauta empīriskā datubāze; uzņem attēlu sesiju; precīza attēlu līmeņa kalibrēšana; attēli tiek saglabāti grafiskā ķermeņa kartē	Nepieciešams izmantot eļļu iekārtas un ādas kontaktvietā
Konfokālā lāzerskenējošā mikroskopija (CLSM)	98%	98%	Patoloģiju novērtēšana pēc līdzīgiem kritērijiem, kā tas ir histopatoloģijā. Lielāki viļņa garumi spēj veikt mērījumus papillārajā dermā; optisko šķiedru attēlošana ļauj izveidot elastīgas, portatīvas iekārtas	Slikta hromatīna struktūra, kodolu kontūru un nukleolu izšķirtspēja; spēj mērīt tikai līdz 300 μm ādas dziļumā; melanomas bez <i>in situ</i> komponenta var netikt atklātas

Tehnoloģija	Jutība (<i>sensitivity</i>)	Specifiskums (<i>specificity</i>)	Priekšrocības	Trūkumi
Optiskās koherences tomogrāfija (OCT)	Nav datu	Nav datu	Augstas izšķirtspējas šķērsriezuma attēli, kas attēlo ādu tā, kā to pieņemts novērtēt histopatoloģiski; augstāka izšķirtspēja, nekā izmantojot ultraskaņas metodi; lielāks iespējamais dziļums, nekā tas ir konfokālajā lāzerskenējošajā mikroskopijā	Fotoni tiek vairāk nekā 1× izkliedēti, kas rada attēla artefaktus; lai samazinātu izkliedi un palielinātu iespējamās dziļumu ādā, jāizmanto ziede vai glicerīns; tiek novērotas ausu struktūras, nevis atsevišķu šūnu izmaiņas
Ultraskaņas tehnoloģija	99%	99%	Zemas izmaksas; sniedz informāciju par iekaisuma procesiem saistībā ar nerviem un asinsvadiem	Audzēja biežums iekaisuma dēļ var tikt nepareizi noteikts. Melanomas metastāzes nav iespējams atšķirt no citiem ādas vēžiem; grūti interpretējami attēli
Elektriskā bioimpedance	92–100%	67–80%	Pilna pārbaude ilgst 7 minūtes	Elektriskās impedances īpašības ir mainīgas atkarībā no cilvēka vecuma, dzimuma, gadalaika un veidojuma lokācijas vietas

Aprakstītās multispektrālās attēlošanas iekārtas, kas tiek izmantotas dermoskopijā, ir salīdzinoši dārgas; to lietošana nav triviāla un prasa papildu apmācību. Tādēļ joprojām tiek meklētas alternatīvas ātrai, neinvazīvai, vienkārši lietojamai ādas diagnostikai.

Nekomerciālas optiskās metodes ādas onkoloģisko patoloģiju diagnostikā

Difūzās refleksijas mērījumi ādas vēža diagnostikā

S. Tomatis u. c. 2005. g. [91], izmantojot jaunu spektroskopisku sistēmu, ieguva 15 spektrālos attēlus 1391 pigmentētām ādas veidojumam (tajā skaitā 184 melanomām) spektra intervālā 483–950 nm. Tika secināts, ka ādas melanomas refleksija visā šajā spektra intervālā uzrāda zemākas vērtības nekā nemelanomas ādas veidojumi (tajā skaitā 7 bazālo šūnu karcinomas). Lielākās atšķirības starp melanomu un nemelanomas ādas veidojumiem ir virs 600 nm. Tas sakrīt ar citu autoru iepriekš veiktiem mērījumiem [92–97] un secinājumiem, ka melanomas ir tumšākas, krāsā nevienmērīgākas un iespējams dziļāk ādā salīdzinājumā ar citiem ādas veidojumiem.

E. Salomatina u. c. 2006. g. [98], izmantojot integrētās sfēras spektrometriju spektra intervālā 370–1600 nm, mērīja veselu ādu un nemelanomas ādas vēžu (nodulāras un infiltratīvas bazālo šūnu karcinomas un plakanšūnu karcinomas) pārus *ex vivo*. Vidējās absorbcijas un reducētās izkliedes koeficienti tika aprēķināti, izmantojot *Monte Carlo* metodi. Tika konstatēts, ka veselas ādas un ādas vēža pāri uzrāda statistiski būtiskas izkliedes atšķirības spektra intervālā 1050–1400 nm. Normālas ādas un ādas vēžu absorbcijas īpašības nomēritajā reģionā būtiski neatšķirās, izņemot nodulāro bazālo šūnu karcinomu, kas uzrādīja mazāku absorbciju salīdzinājumā ar normālu ādu. Tādējādi *E. Salomina* u. c. 2006. g. [98] nemelanomas ādas vēžu patoloģiju noteikšanā iesaka izmantot izkliedes īpašību atšķirības spektrālā intervālā 1050–1400 nm.

F. Vasefi u. c. 2014. g. [99–101] izveidoja multimodālu ādas diagnostikas ierīci, apvienojot tajā fluorescences, polarizācijas un hiperspektrālās attēlošanas metodes. Spektra intervālā 468–857 nm tika iegūti attēli pie 33 viļņa garumiem ar soli ~ 13 nm. Ādas laukums (11×16 mm) tika apstarots ar lineāri polarizētu gaismu, un attēli vienlaicīgi iegūti ar divām kamerām, kurām pirms detektora ir novietoti polarizatori – perpendikulāri un paralēli gaismas avota polarizācijai. Attēlu uzņemšanas laikā tika iegūti arī references spektrālo attēlu masīvi no *Spectralon* etalona. Kalibrētie attēlu masīvi attiecīgi paralēlās (Z_{\parallel}) un perpendikulārās (Z_{\perp}) polarizācijas attēliem tika izteikti ar šādiem vienādojumiem:

$$Z_{\parallel}(x, y, \lambda) = \frac{R_{\parallel skin}(x, y, \lambda)}{R_{\parallel spectralon}(x, y, \lambda)} \quad \text{un} \quad (5)$$

$$Z_{\perp}(x, y, \lambda) = \frac{R_{\perp skin}(x, y, \lambda)}{R_{\perp spectralon}(x, y, \lambda)}, \quad (6)$$

kur $R_{\parallel skin}$ un $R_{\perp skin}$ ir ādas refleksijas mērījumi, kas iegūti no paralēli un perpendikulāri polarizētām kamerām. $R_{\parallel spectralon}$ un $R_{\perp spectralon}$ ir refleksijas mērījumi no baltā *Spectralon* etalona, kas iegūti no tām pašām paralēli un perpendikulāri polarizētām kamerām.

Gan Z_{\parallel} , gan Z_{\perp} ietekmē virspusējā melanīna absorbcija $T_{mel, x, y, \lambda}$. Lai noņemtu virspusējā melanīna ietekmi uz dziļāk ādā esošo hromoforu spektru, ieviesta polarizācijas vājinājuma funkcija A_{POL} :

$$\begin{aligned} A_{POL} &= \log\left(\frac{Z_{\parallel} - Z_{\perp}}{Z_{\parallel}}\right) = \log\left(\frac{Z_{Superficial}}{Z_{\parallel}}\right) = \\ &= \log\left(\frac{T_{mel, x, y, \lambda} \cdot G_{x, y, \lambda} \cdot f_{x, y, \lambda} \cdot R_{Superficial}}{T_{mel, x, y, \lambda} \cdot G_{x, y, \lambda} \cdot f_{x, y, \lambda} \cdot R_{\parallel}}\right) = \\ &= \log(R_{Superficial}) - \log R_{\parallel}, \end{aligned} \quad (7)$$

kur $Z_{Superficial}$ ir virspusējā ādas slāņa kalibrētā (pret etalonu) refleksija, $f_{x,y,\lambda}$ ir kalibrācijas faktors, kas raksturo nelielu kļūdu, kas rodas ādas un baltā etalona atšķirīgās gaismas izkliedes dēļ. $G_{x,y,\lambda}$ ir izkliedes funkcija katrā pikselī pie katra viļņa garuma. $R_{Superficial}$ ir atpakaļ izkliedētā gaisma galvenokārt no pigmentētās epidermas. $R_{||}$ iekļauj gan virspusējo, gan no dziļākiem slāņiem atstaroto gaismu. Naturālais logaritms no $R_{Superficial}$ un $R_{||}$ lineāri korelē ar ādas hromoforu koncentrāciju. Izmantojot Bēra-Lamberta vienādojumu, var uzrakstīt:

$$\log(R_{Superficial}(x, y, \lambda)) = -(\varepsilon_m(\lambda) \cdot C_{m-s}(x, y) \cdot L_{m-s}(x, y, \lambda)) \quad (8)$$

$$\begin{aligned} \log(R_{||}(x, y, \lambda)) = & -((\varepsilon_m(\lambda) \cdot C_{m-s}(x, y) \cdot L_{m-s}(x, y, \lambda)) + \\ & + (\varepsilon_m(\lambda) \cdot C_{m-d}(x, y) \cdot L_{m-d}(x, y, \lambda)) + \\ & + (\varepsilon_{Hb}(\lambda) \cdot C_{Hb}(x, y) \cdot L_{Hb}(x, y, \lambda)) + \\ & + (\varepsilon_{oHb}(\lambda) \cdot C_{oHb}(x, y) \cdot L_{oHb}(x, y, \lambda))), \end{aligned} \quad (9)$$

kur C_{m-s} , C_{m-d} , C_{Hb} , C_{oHb} ir virspusēja un dermāla melanīna, deoksihemoglobīna un oksihemoglobīna relatīvās koncentrācijas. ε_m , ε_{Hb} un ε_{oHb} ir melanīna, deoksihemoglobīna un oksihemoglobīna absorbcijas koeficienti, L_{m-s} , L_{m-d} , L_{Hb} , L_{oHb} ir optiskā ceļa garums virspusējā un dermālajā melanīnā, deoksihemoglobīnā un oksihemoglobīnā. Ievietojot (8) un (9) vienādojumā (7), iegūstam:

$$\begin{aligned} A_{POL} = & (\varepsilon_m(\lambda) \cdot C_{m-d}(x, y) \cdot L_{m-d}(x, y, \lambda)) + \\ & + (\varepsilon_{Hb}(\lambda) \cdot C_{Hb}(x, y) \cdot L_{Hb}(x, y, \lambda)) + \\ & + (\varepsilon_{oHb}(\lambda) \cdot C_{oHb}(x, y) \cdot L_{oHb}(x, y, \lambda)). \end{aligned} \quad (10)$$

A_{POL} funkcijas slīpums 615–670 nm korelē ar dziļā melanīna koncentrāciju, kamēr hemoglobīna ietekme ir salīdzinoši neliela. Tādēļ dziļā melanīna telpiskais sadalījums $Mel_d(x, y)$ tiek aprēķināts pēc šādas formulas:

$$Mel_d(x, y) = A_{POL}(x, y, 615nm) - A_{POL}(x, y, 670nm) \quad (11)$$

Izmantojot šo metodi, *F. Vasefi* u. c. 2014. g. [99–101] nodemonstrēja, ka, ņemot vērā melanīnu ādas virsējos slāņos, hemoglobīnu un melanīnu ādā ir iespējams noteikt daudz precīzāk nekā ar metodēm [102–104], kurās netiek izmantota šī polarizācijas vājinājuma funkcija.

Fluorescences mērījumi ādas vēža diagnostikā

Galvenās fluoroforas epidermā ir NADH, NADPH, FAD, keratīns un dažas aminoskābes, bet dermā tās ir kolagēns un elastīns [105]. *F. Vasefi* u. c. 2014. g. [99], izmantojot 385 nm LED ierosmi, uzņēma ādas patoloģiju attēlus ar paralēli un perpendikulāri polarizētām kamerām pret polarizētu gaismas avotu. Pie šī ierosmes viļņa garuma tiek iegūta FAD, kolagēna vai elastīna saišu fluorescence

[105–107]. Lai izvairītos no virspusējā melanīna spēcīgās absorbcijas, tika aprēķināts fluorescences anizotropijas faktors:

$$FA(x, y) = \frac{I_{F\parallel}(x, y) - I_{F\perp}(x, y)}{I_{F\parallel}(x, y) + 2I_{F\perp}(x, y)}, \quad (12)$$

kur $I_{F\parallel}$ un $I_{F\perp}$ ir attiecīgi no ādas iegūtās fluorescences intensitātes, kas iegūtas no paralēli un perpendikulāri polarizētām kamerām.

A. J. Thompson u. c. 2012. g. [108], izmantojot audu spektrometru un sevišķi ātru (*ultrafast*) lāzera spektrofluorometru ar laika izšķiršanu kopā ar optisko šķiedru zondi, ieguva acīmredzamas spektrālo īpašību un autofluorescences dzīves laiku atšķirības veselai un patoloģiskai ādai. Izmantojot singulāro vērtību dekompozīciju (*Singular Value Decomposition*) spektrālajiem datiem un tam sekojošu lineāro diskriminantanalīzi (*Linear Discriminant Analysis*), šai grupai ir izdevies iegūt vēža noteikšanas metodi, kas spēj diagnosticēt bazālo šūnu karcinomu ar 100% jutību (*sensitivity*) un 71% specifiskumu (*specificity*).

R. Patalay u. c. 2011. g. [109], pārveidojot komerciāli pieejamu divfotonu tomogrāfu, pievienojot multispektrālu fluorescences intensitātes attēlošanas un fotona dzīves laika attēlošanas iespēju četros spektrālos kanālos (360–432 nm, 425–515 nm, 515–620 nm un 620–655 nm), izdevās iegūt šūnu autofluorescenci no dažādiem ādas paraugu dziļumiem un dažādiem paraugiem *in vivo*, ļaujot tos vienlaicīgi salīdzināt. Nomērot bazālo šūnu karcinomas, melanomas, nēvus un normālu ādu, tika novērotas morfoloģiskas atšķirības visos spektrālajos kanālos, kas ļauj kvantitatīvi atšķirt dažādas šūnas un patoloģijas.

E. K. Borisova u. c. 2014. g. [110], lai identificētu dažādas endogēnās fluoroformas ādā, izmantoja LED ierosmi spektra intervālā 270–500 nm un optisko šķiedru zondi ar spektrometru un rezultātā ieguva normālas ādas un patoloģiju autofluorescences spektrus. Rezultāti uzrādīja, ka bazālo šūnu karcinomas fluorescences intensitāte ir daudz zemāka, nekā tā ir normālai ādai. Mērot *ex vivo* paraugus, maksimumi spektra reģionā pie 390–410 nm un 440–460 nm, kas raksturo strukturālos proteīnus un koenzīmus, bazālo šūnu karcinomas autofluorescences signālam ir ~ 3 reizes zemāki, nekā tas ir normālai ādai. Savukārt maksimums, kas raksturo aminoskābju fluorescenci pie 320–360 nm, ir ~ 2 reizes intensīvāks, nekā normālas ādas autofluorescence. Mērot patoloģijas *in vivo*, tika iegūta sakarība – jo lielāka pigmentācija, jo zemāka fluorescences intensitāte, taču spektra forma paliek nemainīga. Izmantojot 405 nm ierosmi, bazālo šūnu karcinomas (vēlā stadijā) spektrā tika novērota endogēno porfirīnu ietekme, tas ir saistīts ar aktīvu metabolismu. Izmantojot autofluorescences datus, iespējams atšķirt bazālo šūnu karcinomu no plakanšūnu karcinomas. Bazālo šūnu karcinomai autofluorescence parasti ir zemāka, bet plakanšūnu karcinomai – augstāka (~ 80% no visiem gadījumiem) nekā normālai ādai. Bazālo šūnu karcinomai vēlā stadijā fluorescences sarkanā spektra daļā parādās maksimums, kas saistīts ar endogēno porfirīnu uzkrāšanos.

3. MĒRĪJUMU UN DATU APSTRĀDES METODIKAS

Promocijas darba izpētes objekts ir cilvēka āda un tās labdabīgās un ļaundabīgās patoloģijas *in vivo*. Šajā sadaļā aprakstītas eksperimentālas metodikas ādas patoloģiju optiskai diagnosticēšanai.

Izmantoto instrumentu saraksts



a)



b)

10. att. Mērijumos izmantotās iekārtas:

- a) multispektrālās attēlošanas kamera *Nuance EX* ar papildaprīkojumu,
- b) pārveidotais digitālais videomikroskops *Dino-Lite pro*

Multispektrālā attēlošanas kamera

Modelis: *Nuance EX* (Cambridge Research Institute, UK).

Aprīkota ar iebūvētu CCD kameru (1392×1040 pikseļi).

Papildus aprīkota ar halogēna lampu gredzenu, kuram priekšā novietots difuzors un polarizators.

Filtrs: šķidro kristālu filtrs.

Spektrālais diapazons: 450–950 nm.

Filtra joslas platums (FWHM): 15 nm.

Modificētais *Dino-Lite* digitālais videomikroskops

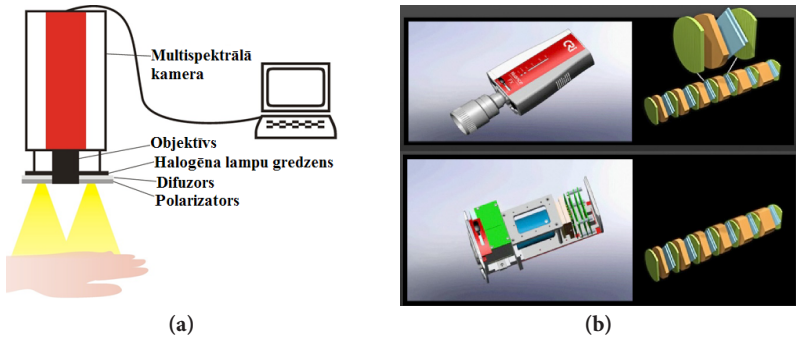
Modelis: *Dino-Lite pro*.

Iebūvēta integrēta CCD kamera (1280×1024 pikseļi).

Papildus aprīkots ar 4 veida gaismas avotiem (LED): 450 nm, 545 nm, 660 nm, 940 nm un ortogonāli novietotiem polarizatoriem – pirms gaismas avota un pirms CCD matricas.

LED emisijas spektrālo joslu platums (FWHM): ~ 20 nm (450 nm un 660 nm diodēm), ~ 40 nm (545 nm diodēm), ~ 60 nm (940 nm diodēm).

3.1. Ādas patoloģiju novērtējums, izmantojot multispektrālo attēlu datus



11. att. Multispektrālās attēlošanas iekārtas shēma (a) un multispektrālās kameras *Nuance EX* iekārta ar korpusu un bez tā (b)

Multispektrālās attēlošanas iekārta (11. att. (a)) sastāv no multispektrālās kameras *Nuance EX*, objektīva, halogēna lampu gredzena, difuzora un polarizatora. Difuzors un polarizators novietoti gaismas avota ceļā, neaizsedzot objektīvu. Multispektrālās kameras *Nuance EX* sastāvā ir sešos posmos sakārtoti šķidro kristālu filtri (11. att. (b) labajā pusē plāksnītes zilā krāsā). Katra posma abās pusēs atrodas paralēli novietoti polarizatori (11. att. (b) labajā pusē plāksnītes zaļā krāsā), kā arī pirms šķidro kristālu šūnām novietots fiksēts palēninātājs (11. att. (b) labajā pusē plāksnītes oranžā krāsā). Lai izslēgtu tiešo atstarošanos no virsmas, polarizators, kas novietots gaismas avota ceļā, tiek pagriezts ortogonāli kameras polarizatoru virzienam. Tādējādi tieši atstarotā gaisma no virsmas, kas nav mainījusi savu polarizācijas plakni, netiek detektēta.

Izmantojot specializētu *Nuance EX* iekārtas programmatūru *CRi*, uzņemts 51 izvēlētā reģiona attēls spektra intervālā 450–950 nm ar soli 10 nm aptuveni 30 cm attālumā no ādas virsmas.

Datu iegūšanas un uzkrāšanas procesā tika veikti atbilstoši soļi:

- 1) pārklājot izvēlēto reģionu ar baltu papīra lapu, iegūts references multispektrālo attēlu masīvs $I_0(\lambda)$ intervālā 450–950 nm;
- 2) noņemta reference no ādas virsmas un uzņemts izvēlētā reģiona multispektrālo attēlu masīvs $I(\lambda)$ intervālā 450–950 nm;
- 3) *CRi* programmatūra automātiski iegūtos attēlus pārvērš optiskā blīvuma

$$OD(\lambda) \text{ kartēs, izmantojot pāreju: } OD(\lambda) = -\log_{10} \left(\frac{I(\lambda)}{I_0(\lambda)} \right);$$

- 4) lai novērstu kustību artefaktus, attēli stabilizēti ar *ImageJ* vai *MultiStackReg* programmu. Rezultātā iegūti multispektrāli *OD* datu masīvi.

Hromoforu koncentrāciju raksturojošo parametru iegūšana [P2, P5]

1. *CRi* programmatūrā, manuāli iezīmējot veselas un patoloģiskas ādas apgabalu, tiek aprēķināti vidējie optiskā blīvuma spektri.
2. Iegūtajiem spektriem tiek piemērots trīs hromoforu absorbcijas modelis spektra intervālā 500–700 nm [111]:

$$OD(\lambda) = a_{HbO_2} \varepsilon_{HbO_2}(\lambda) + a_{Hb} \varepsilon_{Hb}(\lambda) + a_{mel} \varepsilon_{mel}(\lambda) + a_{back}, \quad (13)$$

kur a_{HbO_2} , a_{Hb} , a_{mel} – relatīvās oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna koncentrācijas, kuras raksturo hromoforas koncentrācijas un gaismas iespiešanās dziļuma audos reizinājumu – $C_{HbO_2} \cdot l(\lambda)$, $C_{Hb} \cdot l(\lambda)$, $C_{mel} \cdot l(\lambda)$. Šajā aprēķinā $l(\lambda)$ ir aptuveni līdz 1 mm. Aprēķinātās relatīvās koncentrācijas ir vidējās hromoforu koncentrācijas ādas slānī, kas ir līdz 1 mm biezs. $\varepsilon_{HbO_2}(\lambda)$, $\varepsilon_{Hb}(\lambda)$, $\varepsilon_{mel}(\lambda)$ – tabulēti oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna ekstinkcijas koeficienti [34, 38]; a_{bck} – fona signāls.

3. Hromoforu ekstinkcijas koeficientu spektrus aproksimē ar analitiskām funkcijām un ievieto vienādojumā (13).
4. Relatīvās oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna, melanīna koncentrācijas – a_{HbO_2} , a_{Hb} , a_{mel} – tiek aprēķinātas, iegūtajiem datiem ar nelineāro mazāko kvadrātu metodi piemērojot teorētisko modeli ar trim ādas hromoforām (13. formula). Tiek iegūtas relatīvo hromoforu koncentrāciju kartes.
5. Tiek aprēķināta patoloģiskas ādas un veselas ādas optiskā blīvuma spektru atšķirība $\delta OD(\lambda)$:

$$\begin{aligned} \delta OD(\lambda) &= OD(\lambda)_{malp.} - OD(\lambda)_{norm.skin} = \\ &= \delta a_{HbO_2} \varepsilon_{HbO_2}(\lambda) + \delta a_{Hb} \varepsilon_{Hb}(\lambda) + \delta a_{mel} \varepsilon_{mel}(\lambda), \end{aligned} \quad (14)$$

kur δa_{HbO_2} , δa_{Hb} , δa_{mel} – oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna relatīvo koncentrāciju starpība starp patoloģisku un normālu ādu.

6. Iezīmējot patoloģiju apgabalu un iegūstot vidējās hromoforu relatīvās koncentrācijas, tiek konstruēti dažādu hromoforu (oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna) pāru korelāciju grafiki.
7. Iezīmējot patoloģiju un normālas ādas apgabalu un iegūstot vidējās δa_{HbO_2} , δa_{Hb} , δa_{mel} vērtības, tiek konstruēti dažādu hromoforu pāru relatīvo koncentrāciju starpību (starp patoloģisku un normālu ādu) korelāciju grafiki. Datu apstrāde notiek ar programmu *CRi* un *Matlab* palīdzību.

In vivo mērījumi

Apsēkotas 16 melanomas, 158 labdabīgi pigmentēti veidojumi un 32 asinsvadu veidojumi.

Galveno komponentu analīzes izmantojums ādas melanomas noteikšanai [P9, P10]

1. Lai īstenotu galveno komponentu analīzi, trīsdimensionālie OD attēlu masīvi tiek pārveidoti 2D datu masīvos (pikseļu vs. spektrālā ass).
2. Tiek veikta datu normalizācija katrā spektrālajā kanālā – no katras OD vērtības tiek atņemta vidējā OD vērtība visā spektrālajā kanālā – OD_{mean} , un šī starpība tiek dalīta ar spektrālā kanāla OD datu standartnovirzi OD_{std} :

$$OD_{norm} = \frac{OD - OD_{mean}}{OD_{std}} \quad (15)$$

Atrod kovariācijas matricu C :

$$C = \frac{1}{n} (OD_{norm}^T \cdot OD_{norm}), \quad (16)$$

kur n ir pikseļu skaits vienā spektrālā kanālā, OD_{norm}^T ir matricas OD_{norm} transponētā matrica.

Eigenvektoru matrica V tiek aprēķināta, piemērojot singulāro vērtību dekompozīciju kovariācijas matricai C . Tā kā spektrālie dati tiek uzņemti pie 51 viļņa garuma, tad V ir 51×51 matrica.

Divdimensiju galveno komponentu datu masīvs PC tiek izteikts, izmantojot formulu:

$$PC = OD_{norm} \cdot V \quad (17)$$

Pārveidojot atpakaļ 1D pikseļa asi uz 2D, iegūst 2D attēlus katram (51) PC komponentam.

3. Tā kā pirmie divi komponenti satur visvairāk informācijas par ādas patoloģiju, manuāli tiek iezīmēti normālas ādas un patoloģijas apgabali un aprēķinātas vidējās $PC1$ un $PC2$ vērtības.
4. Tiek konstruēts $PC1$ vs. $PC2$ grafiks, kurā apvienoti nēvusu, melanomas un normālas ādas vidējie dati.
5. Datorizētai ļaundabīgā ādas reģiona noteikšanai no esošajiem datiem, katram veidojumam tiek izveidota maska, kura katrā pikseli tiek definēta ar trīs nosacījumiem:

$$\begin{cases} PC1 < 0 \\ PC2 > 0 \\ OD > OD_{mean} + 2 \cdot OD_{std} \end{cases} \quad (18)$$

Datu apstrāde notiek ar programmu *CRi*, *imageJ*, *MultiStackReg* un *Matlab* palīdzību. Pigmentēto veidojumu laukums tika izvēlēts 4–10% no apstrādātā attēla.

In vivo mērījumi

Šiem aprēķiniem izmantoti 31 melanomas un 94 labdabīgu pigmentētu veidojumu multispektrālie dati. Labdabīgie nēvusi tika iedalīti divās grupās – 59 plakanie nēvusi, kas atrodas vienā līmenī ar ādu, un 35 no ādas virsmas izvirzīti nēvusi.

Metodes melanomas – nēvusa, melanomas – pigmentētas bazālo šūnu karcinomas atšķiršanai [P1, P6, P7, P8]

1. Pārbaudot vairākas optisko blīvumu kombinācijas ar hromoforu raksturojošiem viļņa garumiem, kā arī izmantojot viļņa garumus, kur vidējie patoloģiju un normālas ādas spektri atšķiras visvairāk (sk. 15. att.), tika definēts melanomas atšķiršanas kritērijs p , kas raksturo hemoglobīna un melanīna proporciju ādā un ir jutīgs melanomas atšķiršanā no citiem pigmentētiem (labdabīgiem un onkoloģiskiem) ādas veidojumiem:

$$p = OD_{650} + OD_{950} - OD_{540} = \log \left(k \frac{I(540)}{I(650) \cdot I(950)} \right), \quad (19)$$

kur

$$k = \frac{I_0(650) \cdot I_0(950)}{I_0(540)} \quad (20)$$

ir referenci raksturojošs koeficients, OD_{540} , OD_{650} un OD_{950} – optiskais blīvums attiecīgi pie 540 nm, 650 nm un 950 nm. Viļņa garums 540 nm atbilst asins hemoglobīna absorbcijas maksimumam; 650 nm raksturo melanīna absorbciju, un 950 nm ir viļņa garums, kurš ietiecas visdziļāk ādā (tāpēc „redz” pigmentāciju zem epidermas un dermas robežslāņa).

2. *Matlab* programmā tiek ielasīti patoloģiju attēlu masīvi; katrā attēla pikselī tiek aprēķināta kritērija p vērtība un tiek konstruēti p attēli.
3. Lai izvairītos no kļūdām katra indivīda ādas fizioloģisko īpatnību dēļ (ādas apasiņotības, ādas krāsas u. c.), manuāli tiek iezīmēti patoloģiskas un indivīda normālas ādas reģioni un aprēķināta starpība $p-p_0$, kur p ir patoloģiskas ādas un p_0 – normālas ādas kritērija vidējā vērtība. Tiek konstruēts $p-p_0$ grafiks atkarībā no gadījuma numura.
4. Salīdzinot melanomu un pigmentētu bazālo šūnu karcinomas, lai noskaidrotu, cik liela ir vērtību amplitūda vienā patoloģijā, tiek iezīmēti patoloģiju apgabali ar minimālām un apgabali ar maksimālām vērtībām. Papildus kritērijam p tiek aprēķināts vidējais melanīna M un eritēmas E indekss [112, 113]:

$$M = 100(OD_{650} - OD_{700}), \quad (21)$$

$$E = 100(OD_{560} - OD_{650}), \quad (22)$$

kur OD_{560} , OD_{650} , OD_{700} ir attiecīgi optiskie blīvumi pie 560 nm, 650 nm, 700 nm.

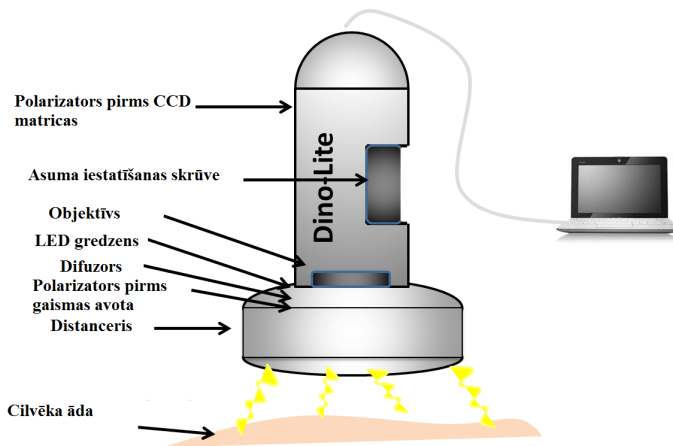
5. Tiek konstruēti $M-M_0$, $E-E_0$, $p-p_0$ grafiki nēvusiem, melanomām un pigmentētām bazālo šūnu karcinomām. M_0 , E_0 – vidējais melanīna un eritēmas indekss normālā ādā.

Datu apstrāde notiek ar programmu *CRi, imageJ* un *Matlab* palīdzību.

***In vivo* mērījumi**

Kopumā apsekotas 30 histoloģiski apstiprinātas melanomas, 8 histoloģiski apstiprinātas pigmentētas bazālo šūnu karcinomas, 65 dermatoloģiski apstiprināti pigmentēti nēvusi.

3.2. Modificēta digitālā video mikroskopa apraksts un tā izmantošana ādas patoloģiju novērtējumam

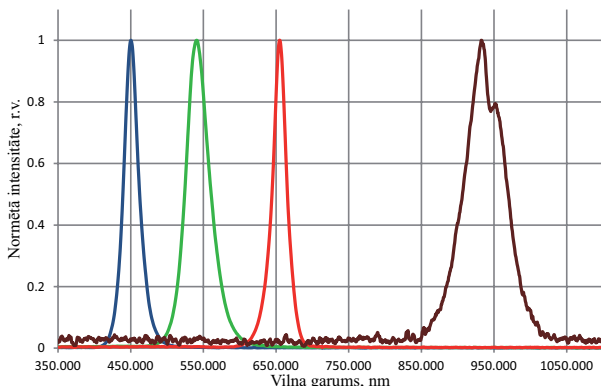


12. att. Modificēta digitālā videomikroskopa iekārtas shēma

Multispektrālā digitālā videomikroskopa iekārta (12. att.) sastāv no pārveidotas *Dino-Lite pro* iekārtas, objektīva, polarizatoriem, LED (no angļu val. *light emitting diode*) jeb gaismu emitējošo diožu gredzena, difuzora un distancera. *Dino-Lite pro* oriģinālajai iekārtai tika nomainīts baltās gaismas diožu gredzens pret gredzenu ar 16 gaismas diodēm, kas sagrupētas četrās grupās pa četrām diodēm katrā: 1) četras 450 nm, 2) četras 545 nm, 3) četras 660 nm, 4) četras 940 nm. LED spektri redzami 13. attēlā. Difuzors un polarizators novietots gaismas avota ceļā, neaizsedzot objektīvu. Diodes izvēlētas ar pietuvinātiem viļņa garumiem (kādi bija pieejami laboratorijā), kuri izmantoti melanomas atšķiršanas kritērija aprēķinam. Lai izslēgtu tiešo atstarošanos no virsmas, polarizators, kas novietots gaismas avota ceļā, novietots ortogonāli polarizatoram, kas atrodas pirms CCD (no angļu val. *charge coupled device*) matricas. Tādējādi

tieši atstarotā gaisma no virsmas, kas nav mainījusi savu polarizācijas plakni, netiek detektēta.

Lai nodrošinātu 5 cm objektīva attālumu no ādas virsmas, tiek izmantots distanceris, kuru novieto kontaktā ar ādu.



13. att. Modificētā digitālā videomikroskopa iekārtā izmantoto LED spektri

Hromoforas raksturojošo parametru reālā laika aprēķināšana, izmantojot pārveidoto multispektrālo *Dino-Lite pro* iekārtu [P3, P4, P8]

1. Tiek palaista *Dino-Lite pro* piemērota programma *Matlab* vidē, un iekārta tiek novietota uz interesējošā ādas apgabala.
2. Reālā laikā, programmatūrai mainot LED ieslēgšanās laikus, tiek uzņemti attēli pie 450 nm, 545 nm, 660 nm un 940 nm.
3. Reālā laikā no uzņemtajiem attēliem tiek aprēķinātas eritēmas indeksa E un melanomas atšķiršanas kritērija p' kartes:

$$E = I_{660} / I_{545}, \quad (23)$$

$$p' = \frac{I_{545}}{I_{660} \cdot I_{940}}, \quad (24)$$

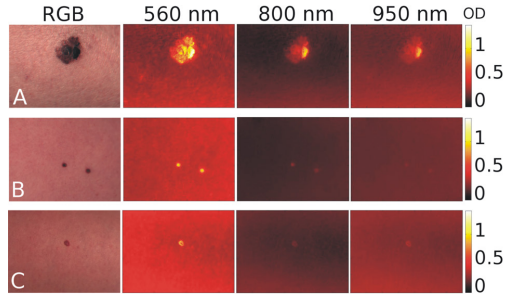
kur I_{450} , I_{545} , I_{660} un I_{940} ir attiecīgi intensitāte pie atšķirīgiem apgaismojumiem – 450 nm, 545 nm, 660 nm un 940 nm.

Datu apstrāde notiek *Matlab* vidē.

4. MĒRĪJUMU REZULTĀTI

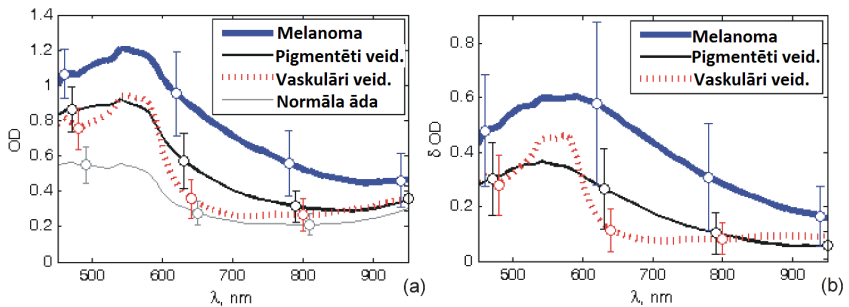
4.1. Patoloģiju novērtējums, izmantojot multispektrālo kameru *Nuance EX*

Hromoforu koncentrāciju raksturojošo parametru aprēķinu rezultāti [P2, P5]



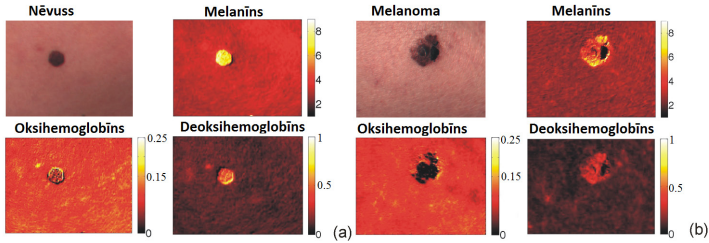
14. att. Ādas patoloģiju RGB un spektrālie attēli pie trīs viļņa garumiem (A – melanoma, B – nēvuss, C – angioma). OD krāsu skala [P2, P5]

14. attēlā apskatāmi pigmentētu veidojumu (melanomas un nēvusu) un vaskulāra veidojuma (angiomas) RGB un spektrālie optiskā blīvuma attēli pie 560 nm, 800 nm un 950 nm. Salīdzinot šīs patoloģijas, redzams, ka pie 560 nm visām patoloģijām ir izteikts kontrasts ar apkārtējo ādu. Pie lielākiem viļņa garumiem kontrasts ar apkārtējo ādu labdabīgām patoloģijām samazinās, kamēr melanoma joprojām uzrāda izteikti kontrastējošu apgabalu. Tas saistāms ar to, ka melanoma ir iespiedusies dziļāk ādas slāņos nekā labdabīgās patoloģijas.



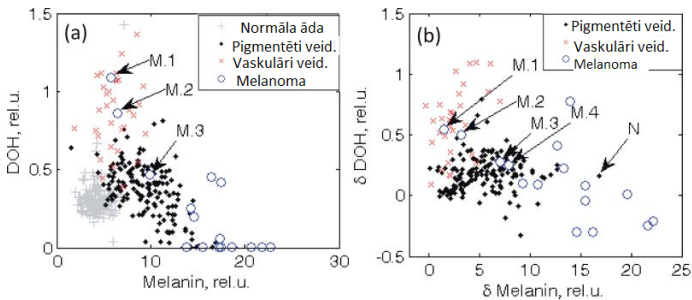
15. att. Vidējie OD (a) un optiskā blīvuma starpību spektri ΔOD (b) melanomām, labdabīgiem pigmentētiem veidojumiem, vaskulāriem veidojumiem un normālai ādai [P2, P5]

15. attēlā redzami OD un δOD (iegūts, no vidējās patoloģijas OD vērtības atņemot vidējo normālas ādas OD vērtību) statistiski vidējie spektri melanomām, labdabīgiem pigmentētiem veidojumiem, vaskulāriem veidojumiem un normālai ādai. Redzams, ka vaskulāriem veidojumiem 600 nm apkārtņē ir hemoglobīna absorbcijai raksturīgais kritums. Vidējie melanomas spektri visā apgabalā uzrāda lielākas OD un δOD vērtības nekā citu pigmentēto un vaskulāro veidojumu spektri.



16. att. Nēvusa (a) un melanomas (b) RGB un aprēķinātās melanīna, oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna relatīvo koncentrāciju (a_{mel} , a_{HbO_2} , a_{Hb}) sadalījuma kartes. Attēliem ir relatīvo koncentrāciju krāsu skala [P2, P5]

16. attēlā salīdzinātās hromoforu kartes jeb relatīvās hromoforu koncentrācijas (a_{mel} , a_{HbO_2} , a_{Hb}) labdabīgam nēvusam un ļaundabīgai melanomai. Redzams, ka abām patoloģijām ir paaugstināts melanīna un deoksihemoglobīna saturs un samazināts oksihemoglobīna saturs salīdzinājumā ar apkārtējo, veselo ādu. Hromoforas melanomā izkārtojušās nevienmērīgi, un deoksihemoglobīna saturs nav tik stipri atšķirīgs no veselas ādas, kā tas ir nēvusa gadījumā.



17. att. Korelāciju grafiks (a) deoksihemoglobīna (DOH jeb a_{Hb}) relatīvā koncentrācija vs. melanīna relatīvā koncentrācija (Melanin jeb a_{mel}): normālā ādā, labdabīgās pigmentētās patoloģijās, vaskulāros veidojumos un melanomās; (b) normētā (pret veselu ādu) deoksihemoglobīna (δDOH jeb δa_{Hb}) relatīvā koncentrācija vs. normētā melanīna relatīvā koncentrācija ($\delta Melanin$ jeb δa_{mel}): labdabīgām pigmentētām patoloģijām, vaskulāriem veidojumiem un melanomām. M1, M2 – čūlojošas melanomas uz muguras un pēdas, M3 – melanoma uz pēdas, M4 – melanoma uz muguras, N – intradermāls nēvuss ar matiņu folikuliem [P2, P5]

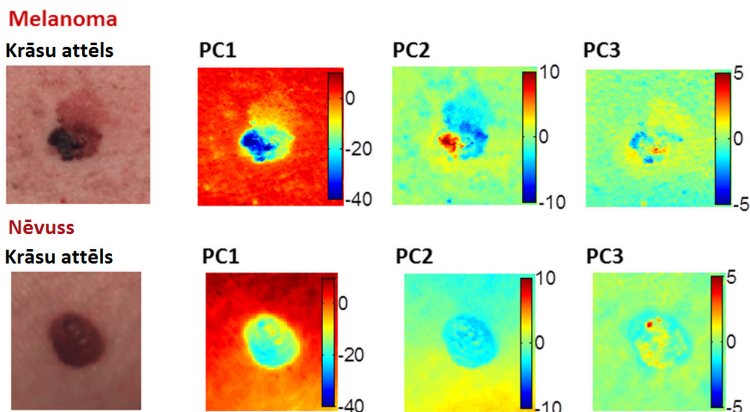
17. attēlā parādīti korelāciju grafiki: 17. att. (a) – deoksihemoglobīna (*DOH*) relatīvā koncentrācija vs. melanīna relatīvā koncentrācija (jeb a_{Hb} vs. a_{mel}), un 17. att. (b) – normētā (pret veselu ādu) deoksihemoglobīna (δDOH) relatīvā koncentrācija vs. normētā melanīna relatīvā koncentrācija (jeb δa_{Hb} vs. δa_{mel}). Tika analizēti dažādu hromoforu pāru grafiki, bet izvēlēto hromoforu pāru korelācijas grafikos vislabāk redzams, ka katrs patoloģiju veids grafikā ieņem noteiktu apgabalu. Redzams, ka melanomas (izņemot M1–M4, kur M1, M2 ir čūlojošas melanomas pēdējā attīstības stadijā) sagrupējas grafika labajā pusē, kamēr labdabīgās pigmentētās un vaskulārās patoloģijas (izņemot N – nēvusu ar matiņu folikuliem) sagrupējas tuvāk grafika kreisajai malai.

Rezumējums

1. Klīnisko mērījumu rezultātā uzkrāts statistiski pietiekams labdabīgo (pigmentēto un vaskulāro) un ļaundabīgo patoloģiju datu apjoms.
2. Salīdzināti melanomas, nēvusa un angiomas *OD* attēli pie dažādiem viļņa garumiem (560 nm, 800 nm, 950 nm); konstatēts, ka melanomas visā spektra apgabalā uzrāda augstākas *OD* vērtības salīdzinājumā ar normālu ādu, kamēr labdabīgo patoloģiju *OD* kontrasts ar normālu ādu IS daļā ir būtiski samazinājies.
3. Aprēķinātas hromoforu relatīvo koncentrāciju a_{mel} , a_{HbO_2} , a_{Hb} un normēto (pret katra indivīda normālo ādu) relatīvo koncentrāciju δa_{mel} , δa_{HbO_2} , δa_{Hb} kartes un iegūtas šo parametru vidējās vērtības katrai patoloģijai.
4. Konstatēts, ka hromoforu sadalījums melanomās ir nevienmērīgs.
5. Konstatēts, ka patoloģiju atšķiršanai izmantojami korelāciju grafiki: deoksihemoglobīna (*DOH*) relatīvā koncentrācija vs. melanīna relatīvā koncentrācija (jeb a_{Hb} vs. a_{mel}), normētā (pret veselu ādu) deoksihemoglobīna (δDOH) relatīvā koncentrācija vs. normētā melanīna relatīvā koncentrācija (jeb δa_{Hb} vs. δa_{mel}). Iegūtie rezultāti prezentēti publikācijās P2 un P5.

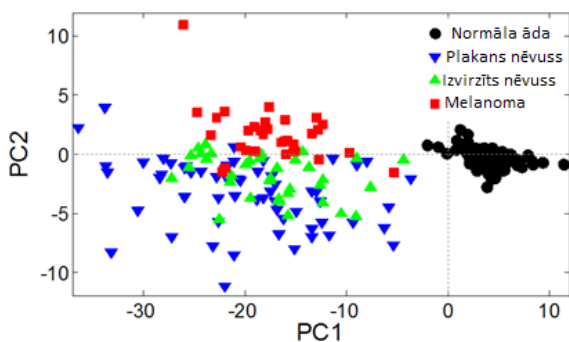
Ar galveno komponentu analīzes metodi iegūtie rezultāti [P9, P10]

18. attēlā redzams RGB un pirmo trīs galveno komponentu (*PC1*, *PC2*, *PC3*) salīdzinājums melanomai un nēvusam. Redzams, ka izteiktāka atšķirība starp melanomu un nēvusu parādās pirmajos divos komponentos (*PC1* un *PC2*). Novērota sakarība, ka *PC1* kartēs visi pigmentētie veidojumi uzrāda negatīvas vērtības, kamēr normālai ādai ir pozitīvas *PC1* vērtības. Negatīvas *PC1* vērtības uzrāda arī ādas virsmas liekumi un ēnas, kas var radīt artefaktus. No 31 melanomas 27 ir novērojami apgabali, kur *PC2* vērtības ir paaugstinātas salīdzinājumā ar normālu ādu. Lielākai daļai nēvusu šādi apgabali neparādās. Viena no četrām melanomām, kuras neatbilst kritērijam $PC2 > 0$, bija čūlojoša melanoma pēdējā stadijā, pārējās trīs bija ar virsmas liekumu un matiņiem, kas rada artefaktus. Aprēķinu rezultātā 3 no 59 plakanajiem un 5 no 35 izvīzītajiem



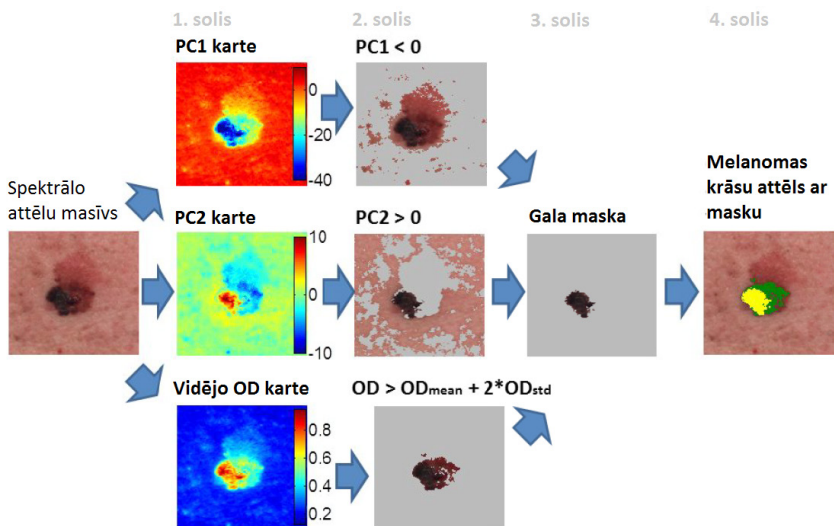
18. att. RGB un pirmo trīs galveno komponentu ($PC1$, $PC2$, $PC3$) salīdzinājums melanomai un nēvusam [P9]

nēvusiem uzrādīja pozitīvas $PC2$ vērtības, kas neatbilst kritērijam, ka nēvusos $PC2 < 0$. Multispektrālā attēlošana labi parāda plakanus nēvusus, bet ne tik labi izvirzītos nēvusus, jo pacēlums rada ēnas un nevienmērīga apgaismojuma artefaktus. $PC3$ un citi galvenie komponenti neuzrāda būtiskas atšķirības starp melanomām un nēvusiem.



19. att. $PC1$ un $PC2$ korelāciju grafiks normālai ādai (melnie apli), plakaniem nēvusiem (zilie trīsstūri), izvirzītiem nēvusiem (zaļie trīsstūri) un melanomām (sarkanie kvadrāti) [P9]

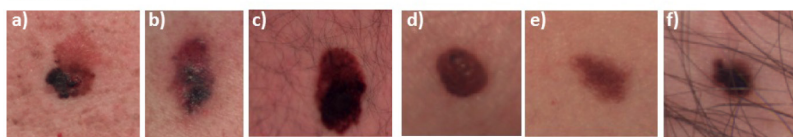
19. attēlā redzams $PC1$ un $PC2$ korelāciju grafiks normālai ādai, plakaniem nēvusiem, izvirzītiem nēvusiem un melanomām. Novērojams, ka normālas ādas dati sakārtojas grafika labajā pusē, kamēr pigmentētie nēvusi atrodas grafika kreisajā pusē, kur $PC1 < 0$. Redzama melanomu tendence sakārtoties grafikā virs robežlīmeņa $PC2 > 0$, kamēr nēvusi tendēti ieņemt vērtības $PC2 < 0$.



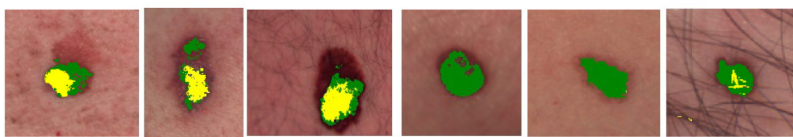
20. att. Shēma automatizētai ādas pigmentēto patoloģiju aizdomīgo reģionu noteikšanai [P10]

20. attēlā parādīta shēma aizdomīgo apgabalu noteikšanai pigmentētās ādas patoloģijās. No multispektrālā attēlu masīva aprēķināti $PC1$, $PC2$ un vidējo OD karte, kur katrā pikselī aprēķināta vidējā OD vērtība pa visu spektru (450–950 nm). Izmantojot iepriekš formulētos trīs nosacījumus (18), rezultātā iegūta maska (dzeltenā krāsā), kas raksturo aizdomīgos patoloģiju apgabalus. Ar zaļu iezīmēta trešā nosacījuma $OD > OD_{mean} + 2 \cdot OD_{std}$ maska, kas raksturo pastiprinātā pigmenta saturu ādā.

Krāsu attēli



Krāsu attēli ar maskām



Melanomas

Labdabīgi nēvusi

21. att. RGB attēli melanomām (a, b, c) un labdabīgiem pigmentētiem nēvsiem (d, e, f) un krāsu attēli ar paaugstinātā pigmenta saturu (zaļā krāsā) un aizdomīgā reģiona (dzeltenā krāsā) maskām [P10]

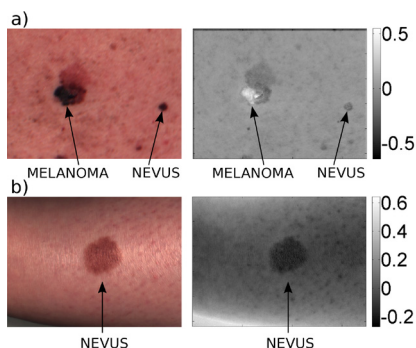
21. attēlā salīdzināti trīs melanomu un trīs pigmentētu nēvusu krāsu (RGB) attēli un krāsu attēli ar paaugstināta pigmenta satura (zaļā krāsā) un aizdomīgā reģiona (dzeltenā krāsā) maskām. Redzams, ka melanomas uzrāda reģionus dzeltenā krāsā, kas norāda uz to, ka ir aizdomas par šo patoloģiju ļaundabīgo dabu. Nēvusus šādi apgabali (dzeltenā krāsā) parādās artefaktu – virsmas liekuma, ēnu vai matiņu folikulu – dēļ.

Rezumējums

- Galveno komponentu analīzes metode ir izmantojama labdabīgu un ļaundabīgu pigmentētu patoloģiju atšķiršanai.
- Konstatēts, ka $PC1$ un $PC2$ apraksta būtiskākās atšķirības starp melanomu un labdabīgu, pigmentētu nēvusu multispektrāliem datiem.
- Attēlojot pigmentēto patoloģiju un normālas ādas vidējo $PC1$ vs. $PC2$ vērtību korelāciju grafiku, konstatēts, ka normālai ādai izpildās nosacījums $PC1 > 0$, melanomām izpildās nosacījumu kopa: $PC1 < 0$ un $PC2 > 0$, un lielākā daļa nēvusu iekļaujas nosacījumu kopā $PC1 < 0$ un $PC2 < 0$.
- Datorizētai patoloģiju atšķiršanai izmantojama maska, kas attēlo potenciālos melanomas reģionus.

Iegūtie rezultāti prezentēti publikācijās P9 un P10.

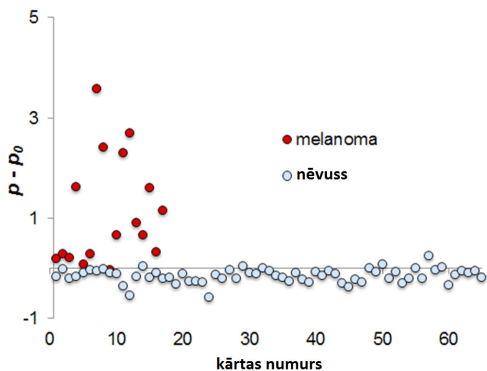
Melanomas – nēvusa un melanomas – pigmentētas bazālo šūnu karcinomas atšķiršanas kritēriju attēli un to interpretācija [P1, P6, P7, P8]



22. att. Melanomas (a) un nēvusa (b) RGB attēli (kreisajā pusē) un melanomas atšķiršanas kritērija p attēli (labajā pusē). Veselas ādas kritērija p vērtība ir 0. Kritērija p vērtības – pelēkāajā skalā [P1]

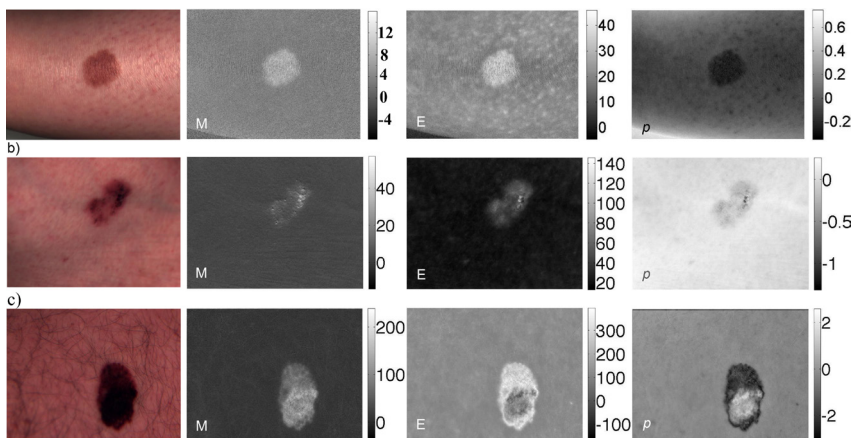
22. attēlā salīdzināti melanomas un nēvusa (a) un atsevišķi nēvusa (b) RGB un melanomas atšķiršanas kritērija p attēli. Vidējā p vērtība veselā ādā ir 0, lai rezultāti būtu salīdzināmi indivīdiem ar dažādu ādas krāsu jeb ādas tipu.

Nēvusu apgabali abos gadījumos redzami ar zemākām p vērtībām nekā veselā ādā, bet melanomas uzrāda augstākas p vērtības visā tās redzamajā apgabalā vai daļā no tā.



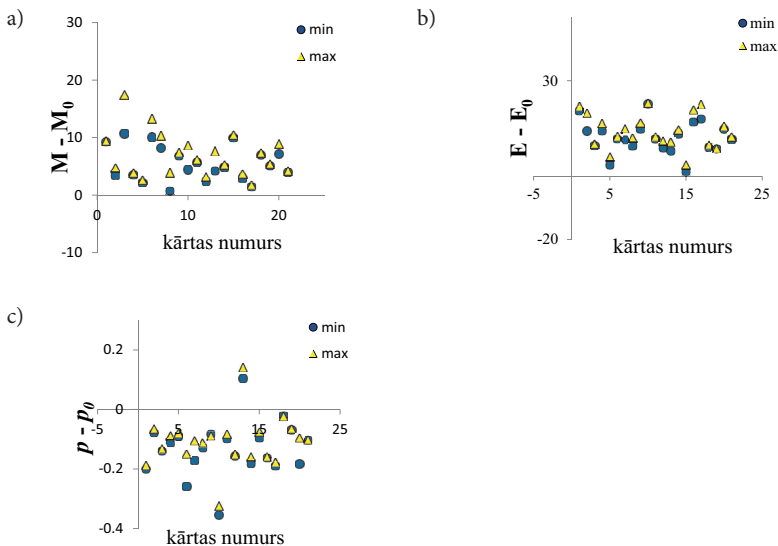
23. att. Normētā kritērija $p-p_0$ vērtību sadalījums melanomām (tumšie apli) un nēvusiem (gaišie apli) [P1]

23. attēlā redzams normētā kritērija $p-p_0$ vērtību sadalījums melanomām un nēvusiem. Grafikā redzams, ka 16 no 17 melanomām $p-p_0 > 0$ jeb $p > p_0$, kur p ir patoloģijas vidējā kritērija vērtība un p_0 atbilst vidējai normālas ādas kritērija vērtībai. Pēc 65 nēvusu analīzes 58 no tiem uzrādīja zemākas kritērija p vērtības nekā apkārtējā ādā, jeb $p < p_0$.

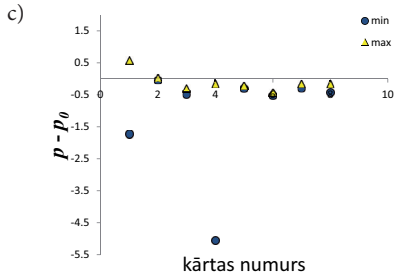
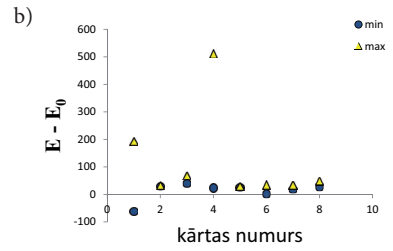
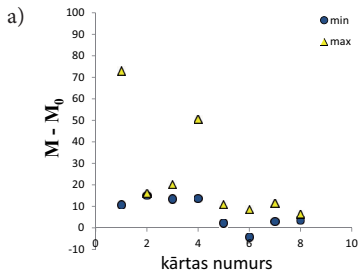


24. att. RGB, melanīna indeksa (M), eritēmas indeksa (E) un melanomas atšķiršanas kritērija p attēli (a) nēvusam, (b) pigmentētai bazālo šūnu karcinomai un (c) melanomai [P7, P8]

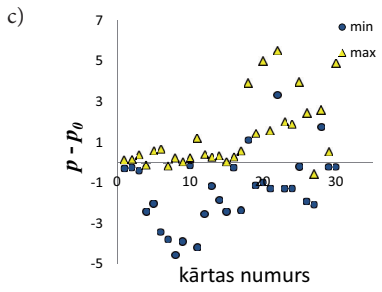
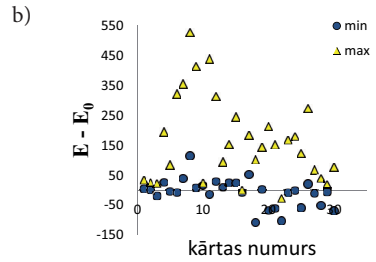
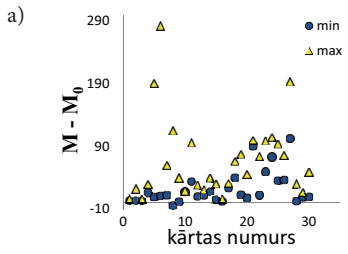
24. attēlā salīdzināti RGB, melanīna indeksa M , eritēmas indeksa E , kritērija p attēli nēvusam, pigmentētai bazālo šūnu karcinomai un melanomai. Redzams, ka melanīna sadalījums gan nēvusā, gan bazālo šūnu karcinomā, gan arī melanomā ir salīdzinoši vienmērīgs (24. att. M kartes), kamēr hemoglobīna sadalījums (24. att. E kartes) un kritērijs p (24. att. p kartes) melanomās uzrāda krasi atšķirīgus vērtību reģionus. Tāpat redzams, ka kritērijam p melanomās ir augstākas vērtības nekā apkārtējā ādā, kamēr nēvusā un pigmentētā bazālo šūnu karcinomā p ir zemākas vai vienādas vērtības salīdzinājumā ar apkārtējo, normālo ādu.



25. att. Nēvusu vidējās vērtības no patoloģijas minimālo vērtību (tumšie apli) un maksimālo vērtību (gaišie trsstūri) apgabaliem: a) normētais melanīna indekss $M - M_0$, b) normētais eritēmas indekss $E - E_0$, c) normētais melanomas atšķiršanas kritērijs $p - p_0$ [P7, P8]



26. att. Pigmentēto bazālo šūnu karcinomu vidējās vērtības no patoloģijas minimālo vērtību (tumšie aplī) un maksimālo vērtību (gaišie trīsstūri) apgabaliem: a) normētais melanīna indekss $M - M_0$, b) normētais eritēmas indekss $E - E_0$, c) normētais melanomas atšķiršanas kritērijs $p - p_0$ [P7, P8]



27. att. Melanomu vidējās vērtības no patoloģijas minimālo vērtību (tumšie aplī) un maksimālo vērtību (gaišie trīsstūri) apgabaliem: a) normētais melanīna indekss $M - M_0$, b) normētais eritēmas indekss $E - E_0$, c) normētais melanomas atšķiršanas kritērijs $p - p_0$ [P7, P8]

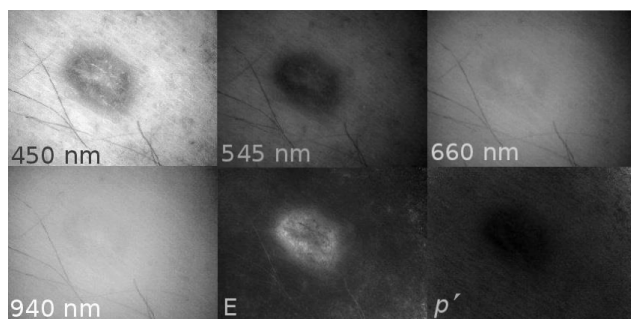
25.–27. attēlā parādīta vidējo $M-M_0$, $E-E_0$, $p-p_0$ vērtību izkliede no nēvusu, pigmentēto bazālo šūnu karcinomu un melanomu minimālo un maksimālo vērtību reģioniem. Grafikos labi redzams, ka melanomās ir apgabali ar stipri atšķirīgām normētā melanīna indeksa $M-M_0$, normētā eritēmas indeksa $E-E_0$ un normētā melanomas atšķiršanas kritērija $p-p_0$ vērtībām. Vidējā parametra $M-M_0$ atšķirība melanomām starp minimālām un maksimālām vērtībām $\overline{M_{\max}} - \overline{M_{\min}} = 46,19$ rel. v., kamēr 6 no 8 pigmentētām bazālo šūnu karcinomām $\overline{M_{\max}} - \overline{M_{\min}} = 8,35$ rel. v., bet nēvusiem $\overline{M_{\max}} - \overline{M_{\min}} = 1,51$ rel. v. Vidējā parametra $E-E_0$ atšķirība melanomām starp minimālām un maksimālām vērtībām $\overline{E_{\max}} - \overline{E_{\min}} = 172,59$ rel. v., kamēr 6 no 8 pigmentētām bazālo šūnu karcinomām $\overline{E_{\max}} - \overline{E_{\min}} = 30,19$ rel. v., bet nēvusiem $\overline{E_{\max}} - \overline{E_{\min}} = 1,96$ rel. v. Vidējā kritērija $p-p_0$ atšķirība melanomām starp minimālām un maksimālām vērtībām ir $\overline{p_{\max}} - \overline{p_{\min}} = 2,69$ rel. v., kamēr 6 no 8 pigmentētām bazālo šūnu karcinomām tā ir $\overline{p_{\max}} - \overline{p_{\min}} = 0,27$ rel. v., bet nēvusiem $\overline{p_{\max}} - \overline{p_{\min}} = 0,02$ rel. v.

Rezumējums

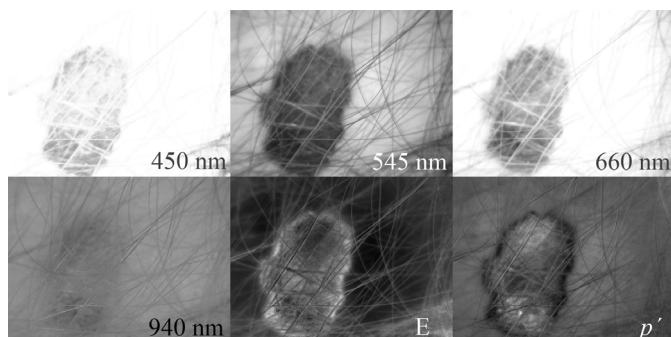
1. Ieviests melanomas spektrālā novērtējuma kritērijs – parametrs p .
2. Konstatēts, ka melanomām kritērija p kartēs parādās apgabali ar paaugstinātām vērtībām (salīdzinājumā ar normālu ādu), bet nēvusu p vērtība ir vienāda vai mazāka par normālas ādas vērtību p_0 .
3. Aprēķināti melanīna indeksa M , eritēmas indeksa E , kritērija p attēli nēvusiem, pigmentētām bazālo šūnu karcinomām un melanomām; iegūtas šo parametru vidējās vērtības no atšķirīgiem patoloģiju apgabaliem.
4. Konstatēts, ka normēto (pret normālu ādu) parametru $M-M_0$, $E-E_0$, $p-p_0$ sadalījums nēvusus (vidējā atšķirība ir 1,5 rel. v., 2 rel. v. un 0,02 rel. v.) un bazālo šūnu karcinomās (vidējā atšķirība 6 no 8 gadījumiem ir 8 rel. v., 30 rel. v. un 0,3 rel. v.) ir salīdzinoši vienmērīgāks nekā melanomās (vidējā atšķirība starp maks. un minim. vērtību apgabaliem ir 46 rel. v., 173 rel. v. un 2,7 rel. v.).
5. Pigmentētu bazālo šūnu karcinomās, līdzīgi kā nēvusiem, izpildās sakarība $p < p_0$. Secināts, ka kritēriju p iespējams izmantot melanomu un pigmentētu bazālo šūnu karcinomu atšķiršanā, kas ir būtiski ķirurģijā – bazālo šūnu karcinomas gadījumā izgriežot ievērojami mazāku ādas laukumu. No tā izriet, ka kritērijs nav derīgs nēvusu un pigmentētu bazālo šūnu karcinomu atšķiršanai.

Iegūtie rezultāti prezentēti publikācijās P1, P6, P7 un P8.

4.2. Ar pārveidoto digitālo videomikroskopu *Dino-Lite pro* iegūtie kliniskie rezultāti

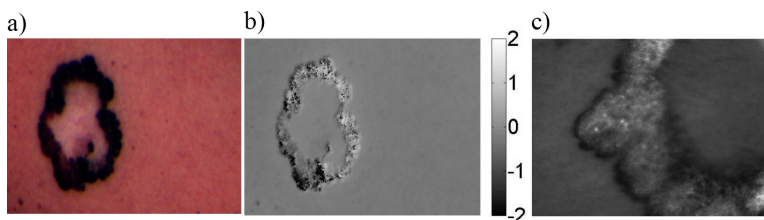


28. att. Multispektrālie un parametriskie attēli pigmentētai ādas papillomai. Intensitāšu sadalījums pie 450 nm, 545 nm, 660 nm, 940 nm. Reālā laika parametriskie attēli – eritēmas indekss E un melanomas atšķiršanas kritērijs p' [P3, P4]



29. att. Ar modificēto *Dino-Lite* ierīci iegūtie pekrālie un parametriskie attēli melanomai. Intensitāšu sadalījums pie 450 nm, 545 nm, 660 nm, 940 nm. Reālā laika parametriskie attēli – eritēmas indekss E , melanomas atšķiršanas kritērijs p' [P3]

28. un 29. attēlā redzami multispektrālie un parametriskie attēli pigmentētai papillomai un melanomai. Atsevišķi attēlots intensitāšu sadalījums pie 450 nm, 545 nm, 660 nm, 940 nm, kā arī reālā laika parametriskie attēli – eritēmas indekss E un melanomas atšķiršanas kritērijs p' . Attēlos redzams, ka abās patoloģijās ir paaugstināts eritēmas indekss E salīdzinājumā ar apkārtējo normālo ādu. Melanomai salīdzinājumā ar apkārtējo ādu ir paaugstināts arī melanomas noteikšanas kritērijs p' .



30. att. Melanomas atšķiršanas kritēriju p un p' karšu salīdzinājums melanomai, izmantojot dažādas multispektrālās attēlošanas iekārtas: a) melanomas RGB attēls, b) kritērija p karte, izmantojot multispektrālo kameru *Nuance EX*, c) kritērija p' karte, izmantojot multispektrālo iekārtu *Dino-Lite pro* [P8]

30. attēlā redzams melanomas RGB attēls un melanomas atšķiršanas kritēriju p un p' karšu salīdzinājums melanomai, izmantojot multispektrālo kameru *Nuance EX* un multispektrālo iekārtu *Dino-Lite pro*. Salīdzināšanai izmantota viena un tā pati melanoma. Ar *Dino-Lite pro* redzama tikai daļa no melanomas, kas attēlota pa kreisi. Redzams, ka abas kartes uzrāda līdzīgu tendenci – melanomas apgabaliem ir lielākas parametra vērtības nekā apkārtējai, normālai ādai.

Rezumējums

1. Digitālais videomikroskops *Dino-Lite pro* pārveidots par multispektrālu ierīci ādas diagnostikas vajadzībām ar secīgi mainīgu apgaismojumu 450 nm, 545 nm, 660 nm, 940 nm spektra joslās.
2. Iegūtas reālā laika eritēmas indeksa E un melanomas atšķiršanas kritērija p' kartes.
3. Konstatēts, ka melanomas atšķiršanas kritērija p' kartes, kas iegūtas ar multispektrālo videomikroskopu, melanomām un nēvusiem uzrāda līdzīgu tendenci kā melanomas diagnostikas parametrs p , kas iegūts, izmantojot multispektrālo kameru *Nuance EX*, t. i., melanomās $p > p_0$, bet nēvūsos $p < p_0$.

4.2. nodaļas rezultāti prezentēti publikācijās P3, P4 un P8.

5. KOPSAVILKUMS

1. Uzkrāta labdabīgo un ļaundabīgo ādas patoloģiju datubāze (~ 300 multi-spektrālo attēlu masīvi).
2. Piedāvātas 4 jaunas metodes neinvazīvai melanomu atšķiršanai no citām ādas patoloģijām.
 - 2.1. Hromoforu relatīvo koncentrāciju raksturojošo parametru aprēķinu metode:
 - novērots, ka melanomu OD vērtību kontrasts IS spektra daļā ir lielāks nekā nēvusiem un asinsvadu veidojumiem. Tas saistāms ar to, ka melanomas iespiežas dziļāk ādā nekā labdabīgi ādas veidojumi;
 - aprēķinātas sadalījuma kartes un hromoforu vidējās relatīvo a_{mel} , a_{HbO_2} , a_{Hb} un normēto (pret katra indivīda normālo ādu) δa_{mel} , δa_{HbO_2} , δa_{Hb} koncentrāciju vērtības no patoloģiju un normālas ādas reģioniem;
 - novērots, ka melanomās hromoforu sadalījums ir nevienmērīgs;
 - konstatēts, ka patoloģijas ir iespējams atšķirt, izmantojot korelācijas grafikus a_{Hb} vs. a_{mel} un δa_{Hb} vs. δa_{mel} .
 - 2.2. Galveno komponentu analīzes metode:
 - konstatēts, ka labdabīgu un ļaundabīgu patoloģiju atšķiršanai izmantojams pirmo divu komponentu $PC1$ un $PC2$ korelāciju grafiks;
 - melanomām izpildās nosacījumu kopa $PC1 < 0$ un $PC2 > 0$, kamēr lielākā daļa nēvusu izpildās nosacījumu kopa $PC1 < 0$ un $PC2 < 0$;
 - datorizētai patoloģiju atšķiršanai un dermatologu ikdienas lietošanai izveidota maska, kas grafiski attēlo potenciālos melanomu reģionus.
 - 2.3. Melanomas atšķiršanas spektrālā kritērija attēlošana:
 - ieviests kritērijs p melanomas atšķiršanai no pigmentētiem nēvusiem un pigmentētām bazālo šūnu karcinomām;
 - novērots, ka melanomās parādās apgabali, kas atbilst kritērijam $p > p_0$, kur p_0 ir kritērija vērtība normālai ādai, kamēr citiem pigmentētiem veidojumiem (nēvusiem, pigmentētām bazālo šūnu karcinomām) $p \leq p_0$;
 - aprēķinātas melanīna indeksa M , eritēmas indeksa E , melanomas atšķiršanas kritērija p kartes un vidējās vērtības no iezīmētiem patoloģiju reģioniem; konstatēts, ka normēto (pret normālu ādu) parametru $M-M_0$, $E-E_0$, $p-p_0$ sadalījums melanomās ir nevienmērīgs;
 - vidējā atšķirība starp parametra $M-M_0$ minimālo un maksimālo vērtību apgabaliem melanomām ir 5,5 reizes lielāka nekā pigmentētām bazālo šūnu karcinomām un 31 reizi lielāka nekā nēvusiem. Vidējā atšķirība starp parametra $E-E_0$ minimālo un maksimālo vērtību apgabaliem melanomām ir 5,7 reizes lielāka nekā pigmentētām bazālo

šūnu karcinomām un 88 reizes lielāka nekā nēvusiem. Vidējā atšķirība starp kritērija $p-p_0$ minimālo un maksimālo vērtību apgabaliem melanomām ir 10 reizes lielāka nekā pigmentētām bazālo šūnu karcinomām un 115 reizes lielāka nekā nēvusiem;

- ieviestā kritērija p un galveno komponentu analīzes metodes jutība un specifiskums ir labāka vai salīdzināma ar komerciāli pieejamām multispektrālajām iekārtām;

2. tabula

Tehnoloģija	Jutība (<i>sensitivity</i>)	Specifiskums (<i>specificity</i>)
<i>MelaFind</i>	78% (praksē)	45,8% (praksē)
<i>SIAscope</i>	83–96%	80–87%
<i>SolarScan</i>	91%	68%
Melanomas atšķiršanas kritērijs p	94%	89%
Galveno komponentu analīze	87%	69% (izvirzītiem nēvusiem) 83% (plakaniem nēvusiem)

- secināts, ka ieviestais melanomas diagnostikas kritērijs p var kalpot kā papildu primārās diagnostikas līdzeklis dermatologu praksē. Tā vienkāršā lietošana un novērtējums (gaiši/tumši attēla apgabali) ir piemērots ātrai patoloģiju novērtēšanai, piemēram, ģimenes ārstu praksē.

2.4. Pārveidotā videomikroskopa attēlošanas metode:

- izveidots multispektrāls video mikroskops, kas reālā laikā, secīgi mainot apgaismojumu – 450 nm, 545 nm, 660 nm, 940 nm LED, aprēķina un attēlo eritēmas indeksa E un melanomas atšķiršanas kritērija p' kartes;
- veikta multispektrālā videomikroskopa un multispektrālās kameras *Nuance EX* iegūto p un p' karšu salīdzināšana. Secināts, ka abas iekārtas uzrāda līdzīgu tendenci – t. i., melanomās $p > p_0$, bet nēvusos $p \leq p_0$, kur p_0 – kritērija vērtība veselai ādai.

AIZSTĀVAMĀS TĒZES

1. Melnomas uzrāda augstāku melanīna un zemāku deoksihemoglobīna saturu nekā labdabīgie pigmentētie un vaskulārie veidojumi. Melanīna un deoksihemoglobīna relatīvo koncentrāciju korelāciju analīzes metode dod iespēju atšķirt melanomas no citiem ādas veidojumiem.
2. Izmantojot galveno komponentu analīzes metodes pirmo divu komponentu ($PC1$ vs. $PC2$) korelāciju grafiku, 87% gadījumu ir iespējams melanomas atšķirt no nēvusiem ar jutību un specifiskumu, 69% gadījumu – no izvīrzītiem un 83% gadījumu – no plakaniem nēvusiem.
3. Piedāvātais melanomas atšķiršanas kritērijs p , kas iegūts no trim šaurjoslas spektrālajiem optiskā blīvuma attēliem (OD_{540} , OD_{650} , OD_{950}), ir izmantojams melanomas atšķiršanai no nēvusiem ar augstu jutību un specifiskumu (attiecīgi 94% un 89%). Šī kritērija attēlošana pelēkajā skalā ir ērta primārās ekspresdiagnostikas metode, jo sniedz tūlītēju secinājumu par ādas veidojuma labdabību vai ļaundabību.
4. Ir iespējams primāri atšķirt melanomas no citiem pigmentētiem ādas veidojumiem, izmantojot modificētu digitālo videomikroskopu ar nomainītu apgaismes sistēmu un programmatūru.

IZMANTOTĀ LITERĀTŪRA

- [1] American Cancer Society, Cancer Facts & Figures 2009, <http://www.cancer.org>
- [2] A. Garcia-Uribe et al., *Appl. Opt.* **43**, 2643-2650 (2004).
- [3] E. Salomatina et al., *J. Biomed. Opt.* **11** (6), 064026 (2006).
- [4] A. N. Bashkatov et al., *J. Phys. D: Appl. Phys.* **38**, 2543-2555 (2005).
- [5] E. N. Marieb et al., *Human Anatomy & Physiology*, 7th ed. (Pearson International Edition, San Francisco, 2006) Ch. 5, 152-170.
- [6] K. S. Stenn, *The skin Cell and Tissue Biology*, edited by L. Weiss (Urban & Shwarzenberg, Baltimore, 1988) 541-572.
- [7] G. F. Odland, in *Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin*, edited by L. A. Goldsmith, 1 vol., (Oxford University Press, Oxford, 1991) 3-62.
- [8] T. J. Ryan, in *Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin*, edited by L. A. Goldsmith, 2 vol., (Oxford University Press, Oxford, 1991) 1019-1084.
- [9] A. R. Young, *Phys. Med. Biol.* **42**, 789-802 (1997).
- [10] P. Apinis, *Cilvēks. Anatomija, fizioloģija, patoloģijas pamati* (Nacionālais Medicīnas apgāds & Apgāds Jāņa sēta, Rīga, 1998) 429-501.
- [11] M. R. Chedekel, *Photophysics and photochemistry of melanin Melanin: Its Role in Human Photoprotection*, edited by L. Zeise et al. (Valdenmar, Overland Park, 1995) 11-22.
- [12] J. Uitto, et al., *J. Am. Acad. Dermatol.* **5** (3), 441-461 (1980).
- [13] M. I. Gurr et al., *Int. J. Obes.* **6**, 419-436 (1982).
- [14] Y. Taton, *Obesity. Pathphysiology, Diagnostics, Therapy* (Medical Press, Warsaw, 1981).
- [15] D. Y. Shurigin et al., *Obesity* (Medicine, Leningrad, 1975).
- [16] R. R. Anderson et al., *J. Invest. Dermatol.* **77**, 13-18 (1981).
- [17] D. W. Ball, *The basics of spectroscopy* (SPIE Press, Bellingham, Washington, 2001) 122.
- [18] S. L. Jacques et al., *J. Biomed. Opt.* **13** (4), (2008).
- [19] W. F. Cheong et al., *IEEE J. Quantum Electron.*, **26** (12), 2166-2185 (1990).
- [20] L. V. Wang et al., *Biomedical optics: principles and imaging* (Wiley-Interscience, Hoboken, New Jersey, 2007) 362.
- [21] W. G. Zijlstra et al., *Visible and Near Infrared Absorption Spectra of Human and Animal Haemoglobin* (VSP BV, Leiden, The Netherlands, 2000) 368.
- [22] SPIE Press, *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics*, edited by V. V. Tuchin. (SPIE Press, Bellingham, Washington, 2002).
- [23] S. L. Jacques, OSA TOPS on Advances in Optical Imaging and Photon Migration **2**, 364-369 (1996).
- [24] J. Mobley et al., in *Biomedical photonics handbook*, edited by T. Vo-Dinh (CRC Press: Boca Raton, Florida, 2003).
- [25] T. J. Farrell et al., *Med. Phys.*, **19** (4), 879-888 (1992).

- [26] R. J. Scheuplein, *J. Soc. Cosmet. Chem.* **15**, 111-122 (1964).
- [27] J. Allen et al., *Physiol. Meas.* **20**, 287-301 (1999).
- [28] M. A. Ansari et al., *Opt. Laser. Eng.* **47**, 965-970 (2009).
- [29] S. L. Jacques et al., *Photochem. Photobiol.* **53**, 769-775 (1991).
- [30] E. Claridge et al., *Proc SPIE* **6511**, 17-22 (2007).
- [31] R. Yip, *Am. J. Clin. Nutr.* **72**, 272S-9S (2000).
- [32] A. Zourabian et al., *J. Biomed. Opt.* **5** (4), 391-405 (2000).
- [33] T. Hamaoka et al., *J. Biomed. Opt.* **5**, 102-105 (2000).
- [34] S. A. Prahl, Tabulated Molar Extinction Coefficient for Hemoglobin in Water (1998), <http://omlc.org/spectra/hemoglobin/summary.html>
- [35] P. A. Riley et al., *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **29**, 1235 (1997).
- [36] T. Ligonzo et al., *J. Non-Cryst. Solids* **22-23** (355), 1221-1226 (2009).
- [37] D. S. Galvao et al., *J. Chem. Phys.* **92**, 2630 (1990).
- [38] T. Sarna et al., The physical properties of melanins (1988), <http://omlc.org/spectra/melanin/eumelanin.html>
- [39] T. Sarna et al., The physical properties of melanins (1988), <http://omlc.org/spectra/melanin/pheomelanin.html>
- [40] P. Meredith et al., *Soft Matter.* **2**, 37-44 (2006).
- [41] J. B. Nofsinger et al., *Biopolymers* **67**, 302 (2002).
- [42] K. B. Stark et al., *J. Phys. Chem. B* **107**, 11558-11562 (2003).
- [43] N. Ahmad et al., *Biochim. Biophys. Acta BBA – Gen. Subjects* **1760**, 227-232 (2006).
- [44] G. B. Odell, *J. Clin. Invest.* **38** (5), 823-833 (1959).
- [45] T. R. Boggs et al., *J. Pediatr.* **71** (4), 553-560, (1967).
- [46] W. S. Beck, *Hematology*, 5th ed. (MIT Press, Cambridge, Massachusetts 1991) 667.
- [47] E. Häggblad, *In Vivo Diffuse Reflectance Spectroscopy of Human Tissue*. Doctoral thesis. Linköping, Linköping University, 151 p. (2008).
- [48] L. L. Randeberg et al., *Laser. Surg. Med.* **38** (4), 277-289 (2006).
- [49] S. A. Prahl, Optical absorption spectrum of Bilirubin in chloroform (2012), <http://omlc.ogi.edu/spectra/PhotochemCAD/data/119-abs.txt>
- [50] G. Britton, *FASEB J.* **9** (15), 1551-1558 (1995).
- [51] A. R. Young et al., *J. Invest. Dermatol.* **115** (1), 37 (2000).
- [52] T. J. Phillips et al., *J. Am. Acad. Dermatol.* **43** (4), 610-8 (2000).
- [53] O. Dumay et al., *Br. J. Dermatol.* **144**, 1161-1168 (2001).
- [54] C. R. Taylor et al., *Annu. Rev. Med.* **47**, 181-191 (1996).
- [55] J. Krutmann, *Schweiz Rundsch. Med. Prax.* **90** (8), 297-299 (2001).
- [56] J. S. Moon et al., *Dermatology* **202** (4), 289-292 (2001).
- [57] J. Krutmann, *Hautarzt* **52**, 62-63 (2001).
- [58] I. V. Ermakov et al., *J. Biomed. Opt.* **9** (2), 332-338 (2004).
- [60] M. E. Darvin et al., *Laser Phys.* **15**, 295 (2005).
- [60] S. A. Prahl, Optical absorption spectrum of Beta-carotene in hexane (2012), <http://omlc.ogi.edu/spectra/PhotochemCAD/data/041-abs.txt>

- [61] K. Wolf et al., *Fitzpatrick's color atlas & synopsis of clinical dermatology*, 6th ed. (McGraw-Hill, New York, 2009).
- [62] D. S. Rigel et al., *CA Cancer J. Clin.* **60**, 301-316 (2010).
- [63] A. Montella et al., *Eur. J. Cancer.* **45**, 2360-2366 (2009).
- [64] C. Bevona et al., *Dermatol. Clin.* **20**, 589-595 (2002).
- [65] R. J. Friedman et al., *CA Cancer J. Clin.* **35**, 130-151 (1985).
- [66] D. S. Rigel et al., *J. Am. Acad. Dermatol.* **29**, 1060-1061 (1993).
- [67] J. K. Robinson et al., *Arch. Dermatol.* **142**, 447-452 (2006).
- [68] A. A. Marghoob et al., *J. Am. Acad. Dermatol.* **49**, 777-799 (2003).
- [69] B. Farina et al., *Phys. Med. Biol.* **45**, 1243-1254 (2000).
- [70] M. Carrara et al., *Phys. Med. Biol.* **52**, 2599-2613 (2007).
- [71] M. Elbaum et al., *J. Am. Acad. Dermatol.* **44**, 207-218 (2001).
- [72] A. Hauschild et al., *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* **12** (7), 606-14 (2014).
- [73] A. W. Kopf et al., *Skin Res. Technol.* **3**, 1-7 (1997).
- [74] D. Gutkowitz-Krusin et al., *Melanoma Res.* **10**, 563-570 (2000).
- [75] S. W. Menzies et al., *Arch. Dermatol.* **137**, 1583-159 (2001).
- [76] S. W. Menzies et al., *Arch. Dermatol.* **141**, 1388-1396 (2005).
- [77] M. Michalska et al., *Ann. Univ. Mariae Curie Sklodowska (Med)*. **59**, 421-431 (2004).
- [78] A. L. Branzan et al., *Lasers Med. Sci.* **22**, 73-82 (2007).
- [79] K. J. Busam et al., *Melanoma Res.* **12**, 349-355 (2002).
- [80] Z. S. Tannous et al., *J. Am. Acad. Dermatol.* **46**, 260-263 (2002).
- [81] D. Huang et al., *Science* **254** (5035), 1178 (1991).
- [82] T. Gambichler et al., *J. Am. Acad. Dermatol.* **57**, 629-637 (2007).
- [83] N. J. Hangiandreou, *Radiographics* **23**, 1019-1033 (2003).
- [84] F. M. Abu-Zidan, *J. Emerg. Trauma Shock* **4** (4), 501-503 (2011).
- [85] T. Gambichler et al., *Dermatol. Surg.* **33**, 818-824 (2007).
- [86] C. C. Harland et al., *Br. J. Dermatol.* **143**, 281-289 (2000).
- [87] P. Aberg et al., *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **51**, 2097-2102 (2004).
- [88] B. Blad et al., *Physiol. Meas.* **17**, 105-115 (1996).
- [89] Y. Har-Shai et al., *Plast. Reconstr. Surg.* **116**, 782-790 (2005).
- [90] J. K. Patel et al., *Eur. J. Dermatol.*, **18** (6), 617-631 (2008).
- [91] S. Tomatis et al., *Phys. Med. Biol.* **50**, 1675-1687 (2005).
- [92] B. Farina et al., *Phys. Med. Biol.* **45** (5), 1243-1254 (2000).
- [93] M. Elbaum et al., *J. Am. Acad. Dermatol.* **44**, 207-218 (2001).
- [94] H. Ganster et al., *IEEE Trans. Med. Imaging.* **20**, 233-239 (2001).
- [95] M. Moncrieff et al., *Br. J. Dermatol.* **146**, 448-457 (2002).
- [96] P. Rubegni et al., *J. Invest. Dermatol.* **119**, 471-474 (2002).
- [97] N. Binder et al., *Arch. Dermatol.* **131**, 286-291 (1995).
- [98] E. Salomatina et al., *J. Biomed. Opt.* **11**, 064026 (2006).
- [99] N. MacKinnon et al., *Proc. SPIE* **8947**, 89470I-1 (2014).
- [100] F. Vasefi et al., *Proc. SPIE* **8947**, 89470J-1 (2014).

- [101] F. Vasefi et al., *Sci. Rep.* **4**, 4924 (2014).
- [102] K. Terstappen et al., *J. Biomed. Opt.* **18**, 061223 (2013).
- [103] S. Vyas et al., *J. Biomed. Opt.* **18**, 057008 (2013).
- [104] J. M. Kirkwood et al., *Mol. Med.* **5**, 11-20 (1999).
- [105] Y. Yuan et al., *Investigation of skin and skin components using polarized fluorescence and polarized reflectance towards the detection of cutaneous melanoma*, Doctoral thesis. Toledo, University of Toledo (2006).
- [106] Z. Huang et al., *Proc. SPIE* **4164**, 43-47 (2000).
- [107] Y. P. Sinichkin et al., *J Biomed Opt.* **3** (2), 201-211 (1998).
- [108] A. J. Thompson et al., *J. Biophotonics* **5** (3), 240-254 (2012).
- [109] R. Patalay et al., *Proc. SPIE* **8087**, 808718 (2011).
- [110] E. Borisova et al., *Proc. SPIE* **9129**, 91291O (2014).
- [111] D. Jakovels et al., *J. Biophoton.* **3**, 125-9 (2010).
- [112] J. B. Dawson et al., *Phys. Med. Biol.* **25**, 695-702 (1980).
- [113] V. V. Tuchin, *Handbook of optical biomedical diagnostics* (SPIE – The International Society for Optical Engineering, Bellingham, 2002), 746-748.

PATEICĪBAS

Vēlos izteikt pateicību šī darba vadītājam profesoram Jānim Spīgulim par palīdzību un iesaistīšanos darba tapšanas procesā. Paldies kolēģiem Ilonai Kuzminai, Dainim Jakovelam, Lāsmai Asarei un Aminai Bekinai par iesaistīšanos un palīdzību klīnisko mērījumu veikšanā, kas notika Latvijas Onkoloģijas centrā, skaistuma klīnikā „4. dimensija”, Lāzerplastikas klīnikā un Estētiskās dermatoloģijas klīnikā. Liels paldies dermatoonkologiem Jānim Kāpostiņam un Aleksandram Derjabo, kā arī citiem iesaistītajiem onkologiem par iespēju iegūt ādas melanomu spektrālos datus. Paldies visiem iesaistītajiem dermatologiem. Paldies Jānim Zaharanam un Uldim Rubīnam par palīdzību iekārtas izveidē. Vēlreiz paldies visiem publikāciju līdzautoriem. Sirsnīgs paldies arī manam vīram Aleksejam Ļihačovam par sapratni, par lietderīgiem padomiem un interesantām diskusijām. Vēlos pateikties arī savai meitiņai Letīcijai par iedvesmu.