

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
FIZIKAS UN MATEMĀTIKAS FAKULTĀTE
FIZIKAS NODAĻA

**Ādas hromoforu kartēšana trihromātiskā lāzeru
apgaismojumā**

BAKALAURA DARBS

Autors: Ilze Ošiņa

Studenta apliecības nr.: io11063

Darba vadītājs: Dr. habil. phys., prof. Jānis Spīgulis

RĪGA 2015

ANOTĀCIJA

Bakalaura darba mērķis ir noskaidrot, vai no trihromātiskā apgaismojumā uzņemta ādas attēla iespējams iegūt trīs hromoforu – melanīna, oksi- un deoksi- hemoglobīna – sadalījuma kartes.

Darba gaitā tika izveidots attēlu apstrādes algoritms un veikti RGB attēlu mērījumi trīs lāzeru apgaismojumā (473, 532 un 659 nm). No attēla datu masīva izdevās izdalīt trīs monohromātiskus spektrālos attēlus pie katra izmantotā viļņa garuma. Tika novērtēts iespējamais gaismas ceļa garums ādas audos un piedāvāts aprēķinu modelis trīs hromoforu kartēšanai, ko izmantojot, tika analizēti ādas pigmentēto un vaskulāro patoloģiju mērījumi, kā arī oklūzijas tests.

Iegūtie rezultāti pierāda, ka izveidotais algoritms var tikt sekmīgi izmantots ātrai ādas hromoforu kartēšanai.

Atslēgvārdi: ādas hromoforu kartēšana, hemoglobīns, melanīns, trihromātisks apgaismojums.

ABSTRACT

The aim of the Bachelor theses was to determine if it is possible to obtain three chromophore – melanin, oxy- and deoxy-hemoglobin - maps from skin image acquired at trichromatic illumination.

During the work an algorithm for image processing was created and RGB image measurements were done at three laser illumination (473, 532 and 659 nm). Single RGB image dataset was separated into three monochromatic spectral images, one for every wavelength. The possible light path length in skin tissues was evaluated and calculation model was offered for mapping the chromophores. The algorithm was used to analyse pigmented and vascular skin malformations and occlusion test.

The obtained results show that the algorithm could be used for fast mapping of skin chromophores.

Key words: skin chromophore mapping, hemoglobin, melanin, trichromatic illumination.

SATURS

APZĪMĒJUMU SARAKSTS	1
IEVADS	3
1. TEORĒTISKAIS APRAKSTS	4
1.1. Ādas anatomija	4
1.1.1. Epiderma.....	4
1.1.2. Derma	5
1.1.3. Hipoderma	6
1.2. Ādas hromoforas.....	6
1.2.1. Hemoglobīns.....	6
1.2.2. Melanīns	7
1.2.3. Mioglobīns.....	8
1.2.4. Citohromi.....	9
1.2.5. Bilirubīns	10
1.2.6. Beta karotīns	10
1.2.7. Lipīdi	11
1.2.8. Ūdens.....	12
1.3. Ādas optiskās īpašības	13
1.3.1. Gaismas izkliede ādā	13
1.3.2. Gaismas absorbcija ādā	15
1.3.3. Gaismas iespiešanās dziļums ādā	17
1.3.4. Difūzā atstarošanās	17
1.4. Citu autoru piedāvātās ādas hromoforu kartēšanas metodes	18
1.4.1. Melanīna noteikšana	18
1.4.2. Ādas tūskas novērošana, izmantojot spektrālos attēlus redzamajā un tuvajā infrasarkanajā gaismā.....	19
1.4.3. Ādas melanomu noteikšana, izmantojot multispektrālo attēlu analīzi	20
1.4.4. RGB attēlu izmantošana hemoglobīna sadalījuma kartēšanai ādā	21
1.4.5. SKImager.....	22
1.5. Lāzeru diožu moduļi	23
1.5.1. Pusvadītāju diožu lāzeri.....	23
1.5.2. DPSS lāzeri.....	24
1.6. Krāsu attēlu sensori.....	24

2. METODISKĀ DAĻA.....	26
2.1. Eksperimentālā iekārta.....	26
2.2. RGB pārklāšanās (<i>crosstalk</i>) korekcijas aprēķini.....	28
2.3. Hromoforu karšu aprēķināšana.....	31
2.4. Gaismas optiskā ceļa garums ādā.....	33
3. REZULTĀTI UN ANALĪZE	34
3.1. RGB pārklāšanās (<i>crosstalk</i>) korekcija, izmantojot eksperimentāli noteiktus koeficientus.....	34
3.1.1. Eksperimenti ar baltu lapu kā referenci.....	34
3.1.2. Eksperimenti ar veselu ādu kā referenci.....	35
3.2. Optiskā ceļa garumu novērtējumi.....	37
3.2.1. Pigmentēto pataloģiju uzņēmumu analīze.....	38
3.2.2. Vaskulāro pataloģiju uzņēmumu analīze.....	41
3.2.3. Pigmentēto un vaskulāro pataloģiju rezultātu apkopojums.....	43
3.2.4. Hromoforu karšu piemēri dažādu ādas veidojumu gadījumos.....	45
3.3. Oklūzijas tests.....	49
KOPSAVILKUMS	52
PUBLICITĀTE.....	53
PATEICĪBAS.....	54
IZMANTOTĀ LITERATŪRA UN AVOTI	55
PIELIKUMI.....	59
1. pielikums. RGB pārklāšanās (<i>crosstalk</i>) korekcijas koeficeintu iegūšanas programmas kods.....	59
2. pielikums. Paraugs hromoforu koncentrāciju aprēķināšanas izteiksmēm.....	64
3. pielikums. Trīs hromoforu – oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna- karšu iegūšanas programmas kods.....	66
4. pielikums. Apskatītie 513 varianti x , y un z kombinācijām, ar kurām tika noteikts iespējamais gaismas optiskā ceļa garums ādā.....	69
5. pielikums. Pigmentētu pataloģiju diagnostikai derīgās x , y un z vērtību kombinācijas.....	72
6. pielikums. Vaskulāru pataloģiju diagnostikai derīgās x , y un z vērtību kombinācijas.....	74
7. pielikums. Konferences „OSA Optics in Life Sciences” tēzes.....	75
8. pielikums. Stenda referāts konferencē „Developments in Optics and Comuncations 2015”.....	78
9. pielikums. Publikācija: J. Spigulis, I. Oshina, <i>Snapshot RGB mapping of skin melanin and hemoglobin</i> , J Biomed Opt. 2015 May 1;20(5):50503. doi: 10.1117/1.JBO.20.5.050503.....	79

APZĪMĒJUMU SARAKSTS

$a(\lambda)$ – absorbance

a_{fona} – atšķirība starp izmērīto un sagaidāmo spektru

A_λ – absorbcija

$A_{R1}, A_{R2}, A_{R3}, A_{G1}, A_{G2}, A_{G3}, A_{B1}, A_{B2}$ un A_{B3} – korekcijas konstantes

BL – bilirubīns

c – hromoforu koncentrācija

C_1, C_2, \dots, C_8 – normēšanas koeficienti, kas ir iegūti, izmantojot balto referenci

$CMOS$ – kameras sensora tips – komplimentāri metāla-oksīda pusvadītāji (*complementary metal-oxide semiconductor*)

c_R – relatīvā hromoforu koncentrācija

Δc – hromoforu koncentrācijas izmaiņas

Δc_{TH} – hemoglobīna kopīgā izmaiņa

$c_{vakuumā}$ – gaismas ātrums vakuumā

DOH – deoksihemoglobīns

$DPSS$ – ar lāzerdiodi uzpumpēts cietvielu kristāla lāzers (*diode-pumped solid state*)

E_1 – fotona enerģija pirmajā enerģijas līmenī

E_2 – fotona enerģija otrajā enerģijas līmenī

E_F – Fermī līmeņa enerģija

E_g – aizliegtās zonas platums

ΔE – enerģijas izmaiņa starp diviem molekulā atļautiem enerģijas līmeņiem

g – anizotropijas faktors

h – Planka konstante

HB – hemoglobīns

I – atstarotā stara intensitāte

I' – cauri audiem izejošās gaismas intensitāte

I_0 – krītošās gaismas intensitāte

I_R, I_G, I_B un I_{IR} – reģistrētā gaismas intensitāte

I_{ref} – no baltas references vai veselas ādas atstarotās gaismas intensitāte

k – spektrālās vājināšanas koeficients

l – optiskā ceļa garums

L – LED emisijas spektrs
 LED – gaismu emitējoša diode
 M – sensoru matricu jūtība
 MD – ādas melanīns
 MEL – melanīns
 n – laušanas koeficients
 OD – optiskais blīvums
 OH – oksihemoglobīns
 RGB – krāsu modelis, kur R ir sarkanā, G ir zaļā un B ir zilā komponente
 R_{im} – pilnā difūzā atstarošanās
 S – ādas spektrālais optiskais blīvums
 $S(B_1)$, $S(G_1)$, $S(R_1)$, $S(B_2)$, $S(G_2)$, $S(R_2)$, $S(B_3)$, $S(G_3)$ un $S(R_3)$ – kameras spektrālās jūtības vērtības katrā RGB kanālā
 x , y un z – konstantes
 δ – gaismas iespiešanās dziļumu audos
 δc_R – relatīvo koncentrāciju atšķirība starp veselu ādu un ādas veidojumu
 δOD – optiskā blīvuma starpība
 $\varepsilon(\lambda)$ – ekstinkcijas koeficients
 η – troksnis
 λ – viļņa garums
 μ_a – absorbcijas koeficients
 μ_s – izkliedes koeficients
 μ_s' – reducētais izkliedes koeficients
 ν – elektromagnētiskā viļņa frekvence

IEVADS

Dermatoloģijā plaši tiek izmantotas dažādas optiskās metodes, lai analizētu konkrētas pataloģijas un noteiktu ādas veselības stāvokli. Šādas metodes ir ērtas izmantošanai, neinvazīvas un sniedz rezultātus salīdzinoši īsā laika periodā.

Gaismas stars, krītot uz ādu, tiek tieši atstarots, vai iespiežas dziļāk ādas audos, kur tiek izkliedēts līdz pilnīgai absorbcijai, vai arī tiek difūzi atstarots ārpus ādas audiem. Gaismas ceļš ādā ir atkarīgs no ādas sastāva un dažādu vielu koncentrācijas, tādēļ atstarotā gaisma var sniegt informāciju par ādas stāvokli un procesiem tajā [1].

Bakalaura darbā piedāvātā metode ļauj noteikt trīs hromoforu koncentrāciju ādas paraugā, izmantojot trihromātiskā apgaismojumā iegūtu momentuzņēmumu. Šādā veidā var izvairīties no kustības artefaktiem, kas rastos gadījumā, ja būtu nepieciešams uzņemt vairāk kā vienu attēlu ar konkrēto pataloģiju. Apgaismojumam tiek izmantoti trīs lāzeri ar zināmiem viļņu garumiem, tādā veidā nodrošinot rezultātu precizitāti.

Šajā darbā pirmo reizi hromoforu koncentrāciju sadalījuma noteikšanai tiek izmantots trihromātiskā apgaismojumā iegūts ādas parauga momentuzņēmums.

Darba mērķis ir noteikt ādas melanīna, oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna sadalījuma kartes, izmantojot viena triju spektrālīniju apgaismojumā uzņemta RGB attēla datus.

Darba gaitā tika izvirzīti vairāki uzdevumi.

1. Izveidot matemātisku modeli hromoforu kartēšanai.
2. Atrast ādai piemērotu spektru pārklāšanās korekcijas algoritmu.
3. Novērtēt absorbcijas optisko ceļu ādā pie izmantotajiem viļņu garumiem.
4. Pārbaudīt algoritmu praksē, izmantojot pigmentētu un vaskulāru ādas veidojumu RGB attēlus.

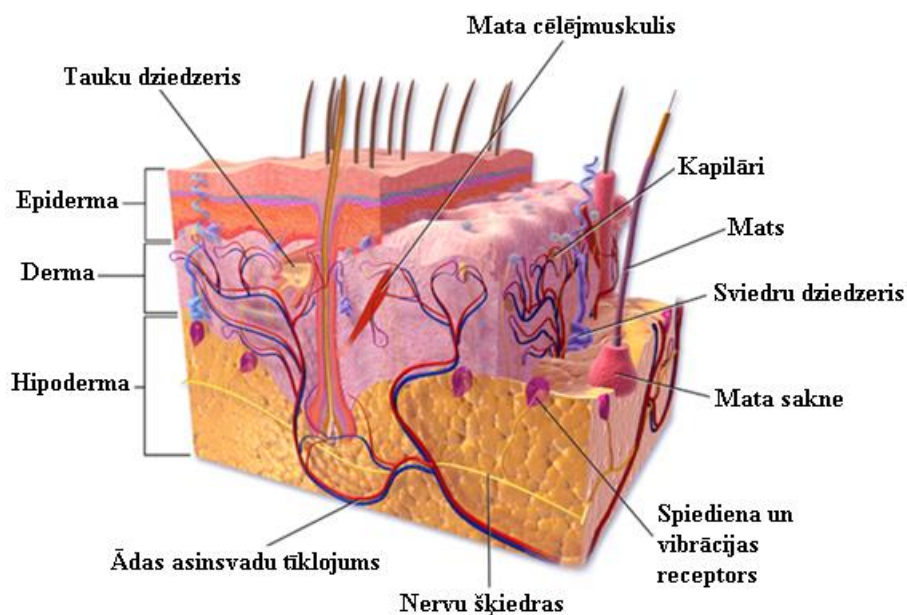
Darba apjoms ir 82 lapaspuses, no tām 24 ir pielikumi.

Darbā iekļauti 55 attēli, 7 tabulas un 41 literatūras atsauce.

1. TEORĒTISKAIS APRAKSTS

1.1. Ādas anatomija

Cilvēku lielākais orgāns ir āda. Tās laukums ir 1,5 – 2 m² un masa ir 4 – 10 kg. Ādas pamatfunkcijas ir aizsargfunkcija un termoregulācijas funkcija. Āda sastāv no epidermas, dermas un zemādas jeb hipodermas [2]. Skatīt attēlu 1.1.



1.1. att. Ādas uzbūve [pielāgots no 3]

1.1.1. Epiderma

Ādas ārējais slānis ir epiderma. Tās biezums ir atkarīgs no atrašanās vietas uz ķermeņa, cilvēka vecuma, dzimuma, individualitātes. 1.1. tabulā ir redzams aptuvenais epidermas biezums konkrētajā ķermeņa daļā.

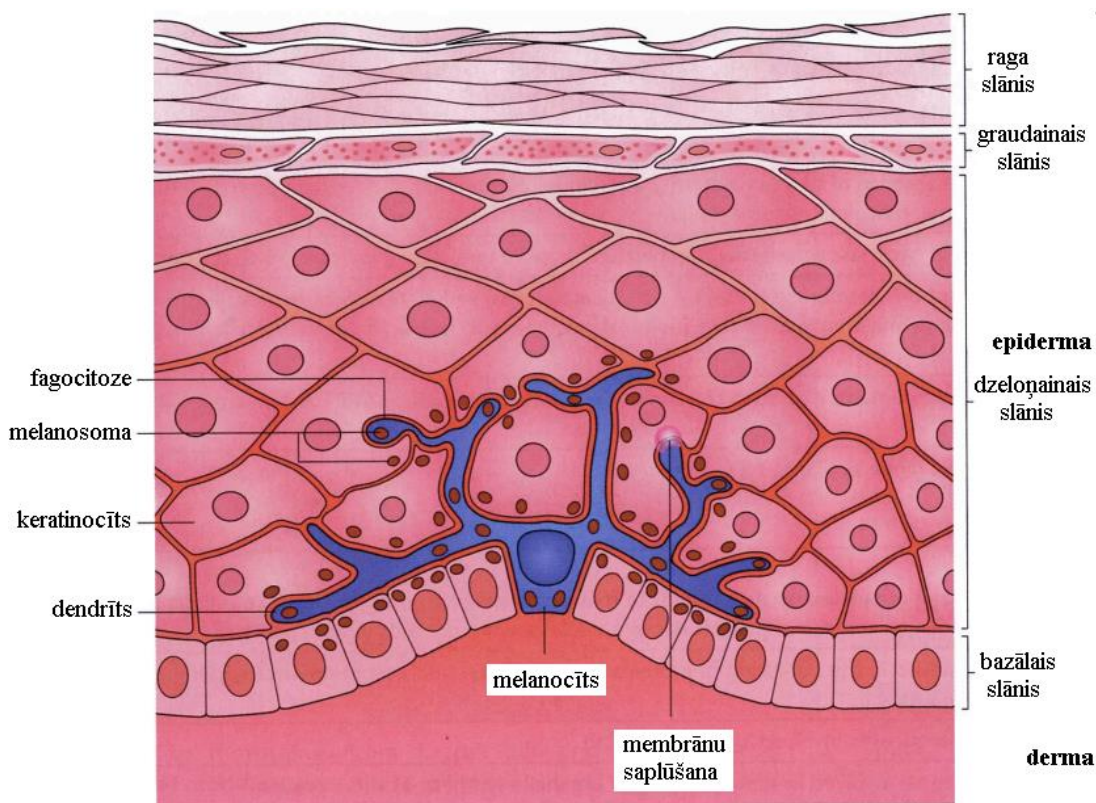
1.1. tabula

Epidermas vidējā biezuma atkarība no apskatāmās ķermeņa daļas [4]

Ķermeņa daļa	Epidermas vidējais biezums, μm
Plaukstas ārpuse	62.5
Kāju ikri	60.5
Ārējais apakšdelms	60.3
Iekšējais apakšdelms	59.4
Muguras augšdaļa	55.6
Krūtis	56.0
Vēders	61.3
Acs kaktiņš	56.8
Deniņi	61.4

Epidermu var nosacīti sadalīt 4 slāņos (1.2. att.):

- bazālajā slānī,
- dzeloņainajā slānī,
- graudainajā slānī,
- raga slānī.



1.2. att. Melanocītu novietojums cilvēka ādā [pielāgots no 5]

Bazālajā slānī atrodas keratoblasti un melanocīti. Melanocītu funkcija ir ražot ādas pigmentu melanīnu. Atkarībā no tā, kāds ir melanīna graudiņu skaits un lielums, un kā tie ir izvietoti ādas šūnās, cilvēkiem ir gaišāka vai tumšāka ādas krāsa [2].

Bazālajā slānī šūnas daloties rada dzeloņaino slāni, kurā tās attīstās un noveco, zaudējot kodolu un citoplazmas aktīvās sastāvdaļas. No tām veidojas graudainais slānis. Kad šūnas graudainajā slānī ir pārragojušās tās sāk veidot raga slāni [2].

Ādas papildorgāni jeb derivāti ir mati, nagī, sviedru un tauku dziedzeri. Mata krāsu nosaka melanocīti, kas atrodas mata saknē. Dažādās ķermeņa vietās matu sastāvs var būt atšķirīgs [2].

1.1.2. Derma

Vidējais ādas slānis ir derma. Tajā atrodas asinsvadi, nervi, epidermas derivāti, saistaudu kūlīši un amorfā pamatviela [2].

Dermas saistaudi nodrošina ādas stiprību un elastību. Galvenokārt derma sastāv no fibroblastiem, histocītiem un tuklajām šūnām. Fibroblasti nodrošina kalogēno un elastīgo šķiedru sintēzi. Histocīti ir iesaistīti imunoloģiskās funkcijas nodrošināšanā. Tuklās šūnas sintezē vielas, kas ir iesaistītas iekaisuma procesā. Dermā izšķir dziļo arteriālo pinumu un virspusējo arteriālo pinumu. Tie ir savstarpēji savienoti un kopā veido asinsvadu tīklu. Ar asinsvadu sistēmas palīdzību tiek regulēta ķermeņa temperatūra, apgādāta āda ar barības vielām un veicināta imūnā aizsargsistēma [2].

1.1.3. Hipoderma

Ādas slāni, kas atrodas starp dermu un saistaudiem un sedz muskuļus, sauc par hipodermu jeb zemādas tauku kārtu. Tā sastāv no tauku šūnu daivām, saistaudu sieniņām, asinsvadiem un nerviem. Hipodermas pamatfunkcijas ir uzglabāt barības vielas, sargāt ķermeni no aukstuma un muskuļus – no ievainojumiem [2].

1.2. Ādas hromoforas

Hromoforas jeb pigmenti ir molekulu funkcionālās grupas, kas absorbē uz ādu krītošo gaismu. No hromoforu daudzuma un izplatības ādas audos ir atkarīga cilvēka ādas un tajā esošo audu krāsa. Hromoforas atšķiras ar dažādiem absorbcijas spektriem. Izplatītākās hromoforas ādā ir hemoglobīns, melanīns, mioglobīns, lipīdi, ūdens u.c. [1].

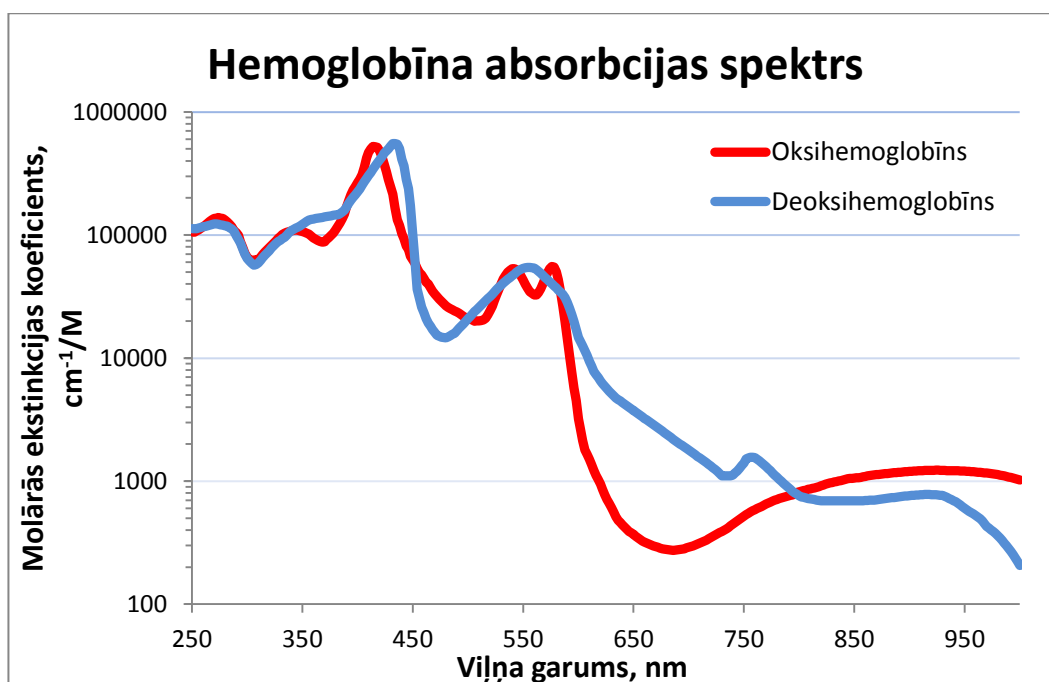
1.2.1. Hemoglobīns

Hemoglobīns ir olbaltumvielu grupa, kas atrodas sarkanajās asins šūnās jeb eritrocītos. Tā galvenā funkcija ir transportēt skābekli no plaušām uz audiem. Hemoglobīns mijiedarbojas arī ar trīs citām gāzēm – slāpekļa oksīdu (NO), oglekļa monoksīdu (CO) un dioksīdu (CO₂) [6].

Ja hemoglobīns piesaista skābekli, tad to sauc par oksihemoglobīnu. Savukārt, ja pie hemoglobīna molekulas nav piesaistīts skābekļa atoms, tad to sauc par nepiesātinātu hemoglobīnu jeb deoksihemoglobīnu [1].

1.3. attēlā redzami oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna absorbcijas spektri. Tie raksturo hemoglobīna gaismas absorbcijas spēju atkarībā no viļņa garuma. Molārās

ekstinkcijas koeficientu mēra $\frac{cm^{-1}}{M}$ jeb $\frac{cm^{-1}}{mol/l}$.



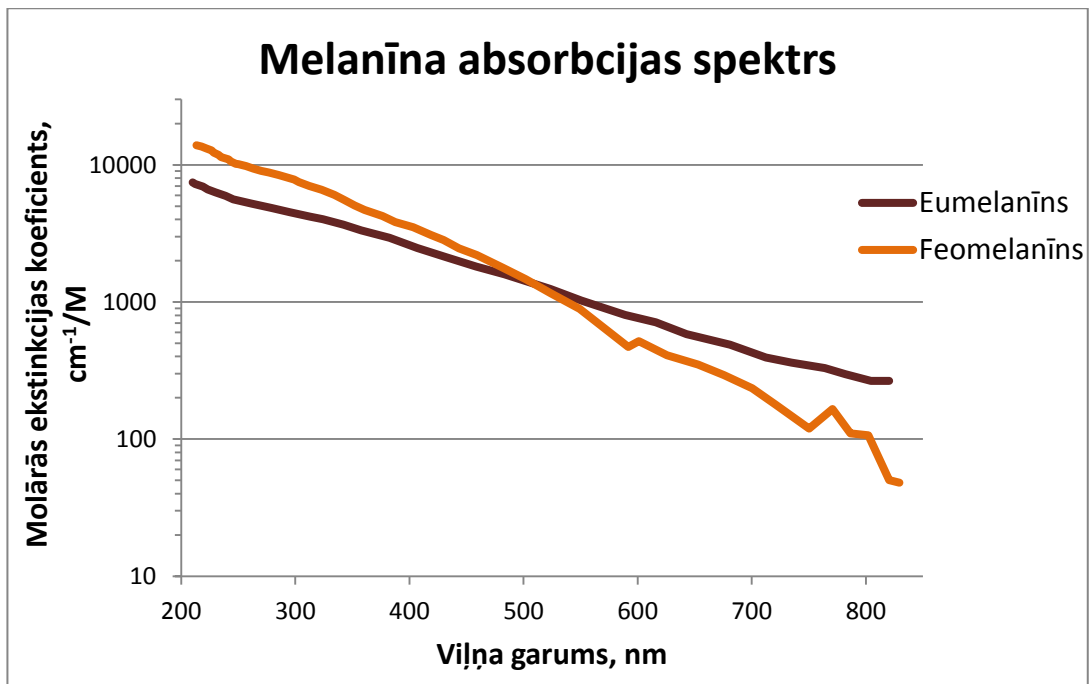
1.3. att. Oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna absorbcijas spektri logaritmiskā skalā [7]

1.2.2. Melanīns

Melanīns ir viena no galvenajām hromoforām. Ir vairāki melanīna veidi: eumelanīns, feomelanīns, neiromelanīns un allomelanīns [5]. Eumelanīns ir sastopams gan eiropēdās, gan negroīdās rases pārstāvju ādā. Savukārt, feomelanīns pārsvarā ir tikai eiropēdās rases cilvēku ādā [1]. Eumelanīns un feomelanīns ir atrodami ādā, matos un acīs. Tie nodrošina fotoaizsardzību, absorbējot kaitīgo ultravioleto un redzamās gaismas radiāciju. Eumelanīna krāsa ir no melnas līdz brūnai. Feomelanīna krāsa ir no sarkanās līdz dzeltenai. Tas ir atbildīgs par sarkano matu krāsojumu. Allomelanīns atrodas augu sēklās, sēnēs un augsnē. Neiromelanīns atrodas iegarenajās smadzenēs un iekšējā ausī [5].

Melanocīti ir pigmenta šūnas, kas atrodas epidermas bazālajā slānī. Aptuveni katra desmitā šūna normālā ādā šajā slānī ir melanocīts. Tām ir daudz izaugumu un to citoplazmā atrodas melanosomas, kurās tiek sintezēts melanīns. Melanosomas no melanocītu dendrītiem tiek nodotas blakus esošajos keratinocītos [5].

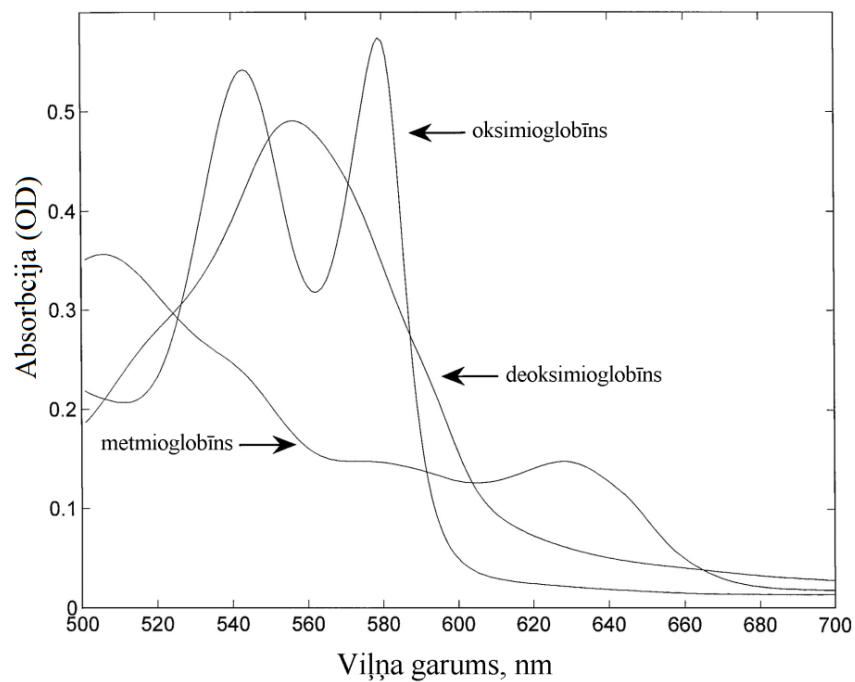
Cilvēka ādas krāsu nosaka tas, kāds ir melanocītu izmērs, to daudzums un kā tie ir izvietoti keratinocītos. Cilvēkiem ar tumšāku ādas krāsu ir lielāka melanīna granulu izplatība un līdz ar to arī vairāk melanīna [1]. Eumelanīna un feomelanīna absorbcijas spektri, kas nosaka cilvēka matu un ādas melno un sarkano pigmentāciju, atšķiras salīdzinoši ļoti maz (1.4. att.).



1.4. att. Eumelanīna un feomelanīna absorbcijas spektri logaritmiskā skalā [8]

1.2.3. Mioglobīns

Mioglobīns darbojas kā buferis un palīdz skābeklim izplatīties muskuļos. Sārtais mioglobīns, tāpat kā hemoglobīns, ir hemoproteīns. Tas ir atrodams skeleta un sirds muskuļu šķiedrās [1]. Mioglobīna absorbcijas spektrs ir līdzīgs hemoglobīna absorbcijai (1.5. att.).

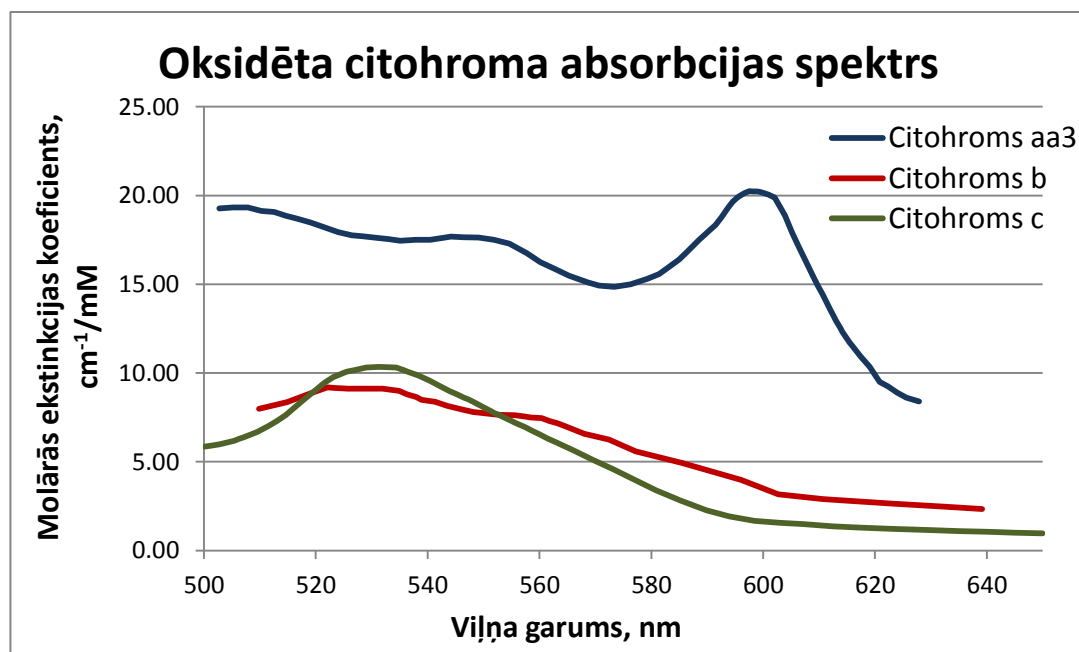


1.5. att. Oksi-, deoksi- un metmioglobīna absorbcijas spektri. OD – optiskais blīvums [pielāgots no 9]

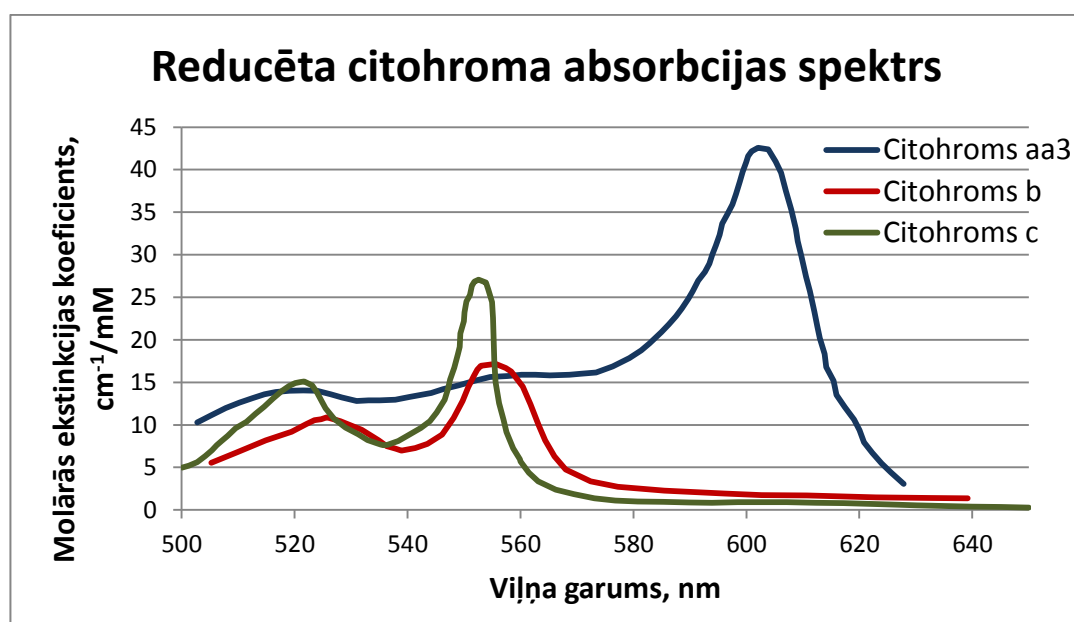
1.2.4. Citohromi

Citohromi ir hemoproteīni, kas piedalās elektronu pārnesei procesos. Tie atrodas iekšējā mitohondriju membrānā. Citohromi *aa3*, *b* un *c* ir iesaistīti skābekļa transportēšanā. Citohroms *b₅*, sasaistīts ar eritrocītu, piedalās methemoglobīna pārveidošanā par funkcionālu hemoglobīnu [1].

Citohromu koncentrācija parasti ir laikā nemainīga, bet atkarībā no tā, vai tiem ir oksidēta vai reducēta forma, mainās citohromu absorbcijas spēja (1.6., 1.7. att.).



1.6. att. Citohromu *aa3*, *b* un *c* oksidēto formu absorbcijas spektri [10]

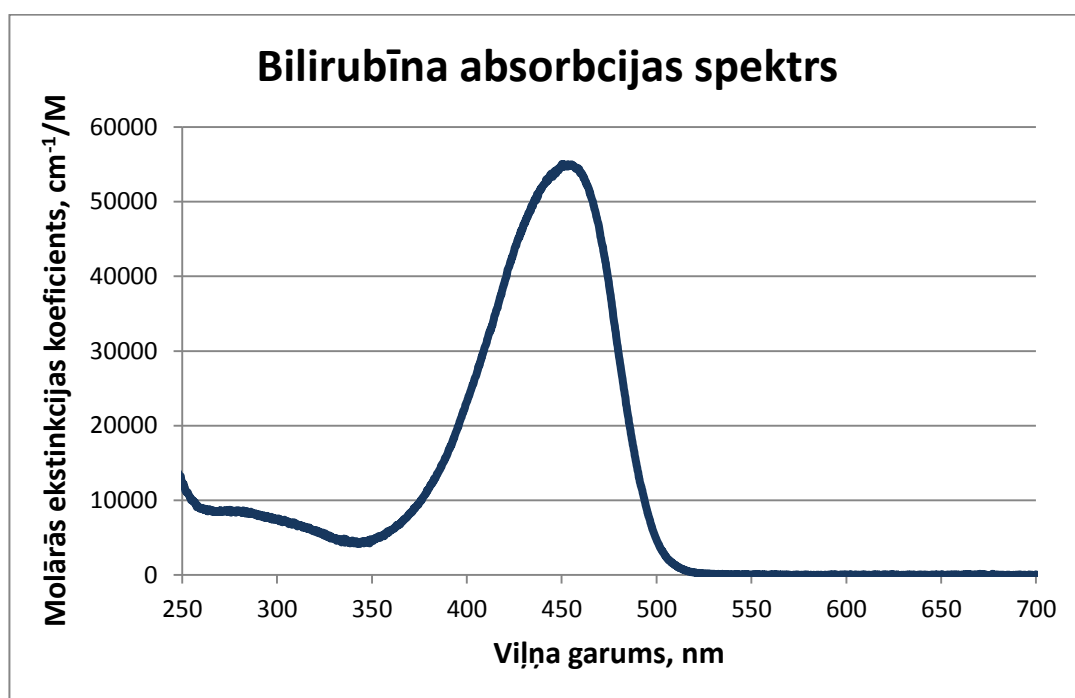


1.7. att. Citohromu *aa3*, *b* un *c* reducēto formu absorbcijas spektri [10]

1.2.5. Bilirubīns

Sabrūkot hemoglobīnam, rodas zaļas krāsas hromofora biliverdīns, kas piešķir ādai zaļu nokrāsu, bet to parasti nevar vizuāli novērot, jo biliverdīnam ir īss dzīves laiks. Tālāk tas pārtop par dzeltenīgu atlikumu – bilirubīnu, kas tiek absorbēts aknās. Gadījumā, ja aknas neabsorbē visu bilirubīnu, tas ar asinsrites palīdzību nokļūst audos un izraisa dzeltena ādas toņa veidošanos. To var novērot zīdaiņiem kā dzelti un cilvēkiem, kuriem ir aknu traucējumi kādas slimības laikā [1].

Bilirubīns ir dzeltens pigments, tādēļ redzamās gaismas spektrā tas spēj absorbēt tikai violeto, zilo un nedaudz arī zaļo gaismu. 1.8. attēlā redzams bilirubīna absorbcijas spektrs. Novērojams izteikts maksimums pie aptuveni 450 nm.



1.8. att. Bilirubīna absorbcijas spektrs [11]

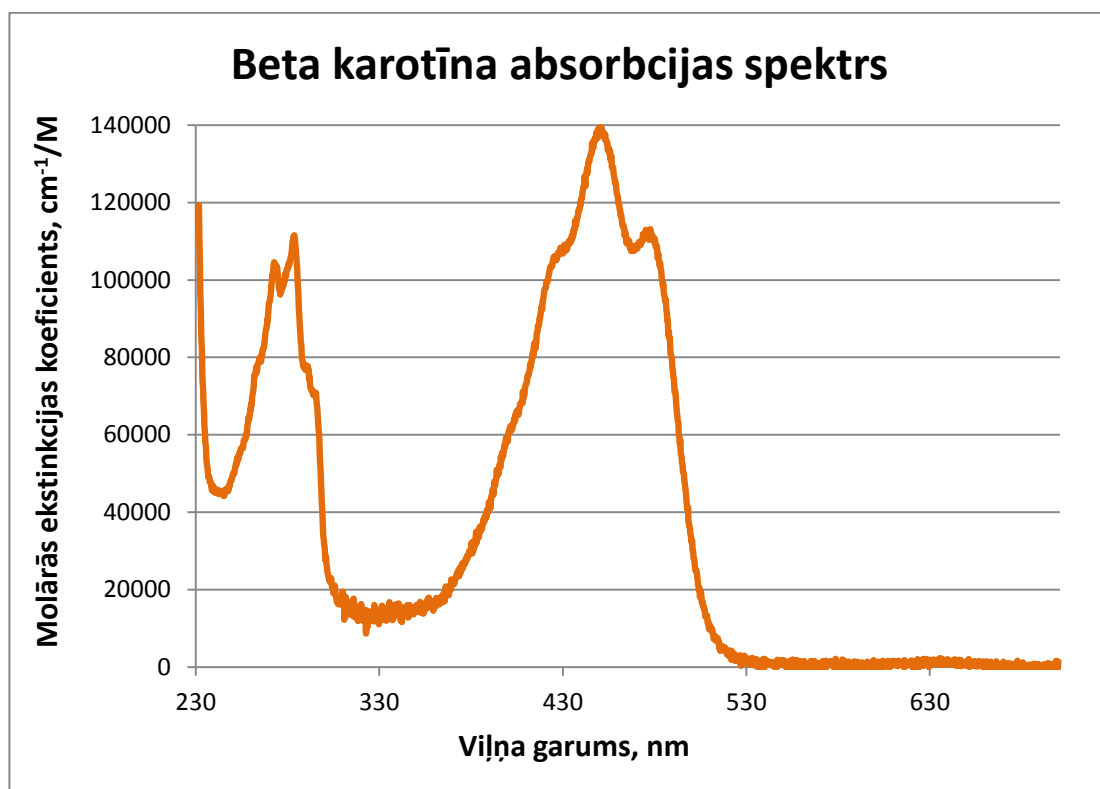
1.2.6. Beta karotīns

Beta karotīns ir viens no 600 karotenoīdiem. Tas veidojas asinīs dermā un piešķir ādai iedzeltenu vai olīvu krāsas nokrāsu. Beta karotīns ir sastopams arī epidermā, hlorofilu saturošos augos un baktērijās [12,13].

Nonākot cilvēka organismā divas beta karotīna molekulas var apvienoties un veidot retinolu (vitamīnu A). Tā pārmērīga lietošana uzturā nerada hipervitaminozi, jo A vitamīna veidošanās no beta karotīna organismā tiek kontrolēta [13].

Beta karotīns darbojas kā imūnsistēmas stimulators un antioksidants. Tas spēj aizkavēt dažādu vēžu rašanos, nodrošināt aizsardzību pret paralīzi, aterosklerozi un sirds saslimšanām [13].

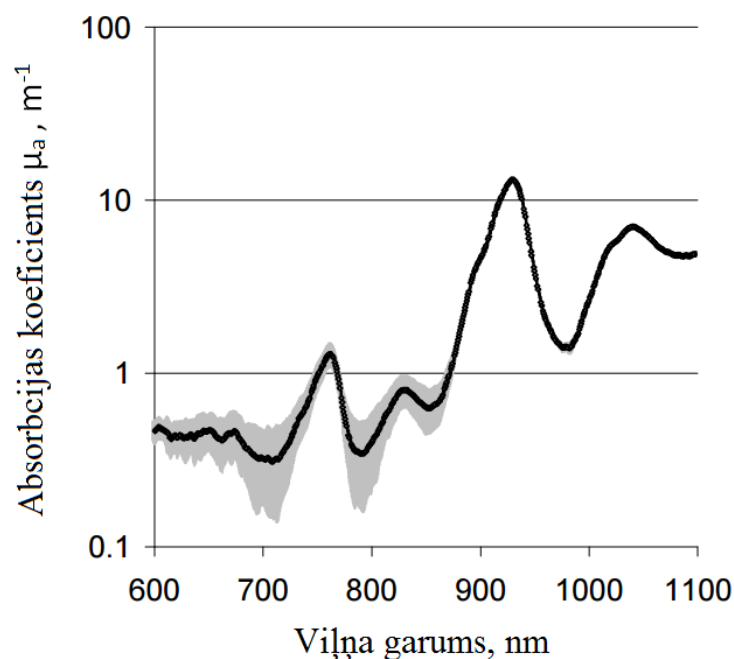
Beta karotīns stipri absorbē gaismu ultravioletajā un violetajā spektra daļā, bet redzamajā gaismā visvairāk no 400 nm līdz 500 nm (1.9. att.). Izteiktais maksimums spektra zilajā daļā ir pie 450 nm [14].



1.9. att. Beta karotīna absorbcijas spektrs [14]

1.2.7. Lipīdi

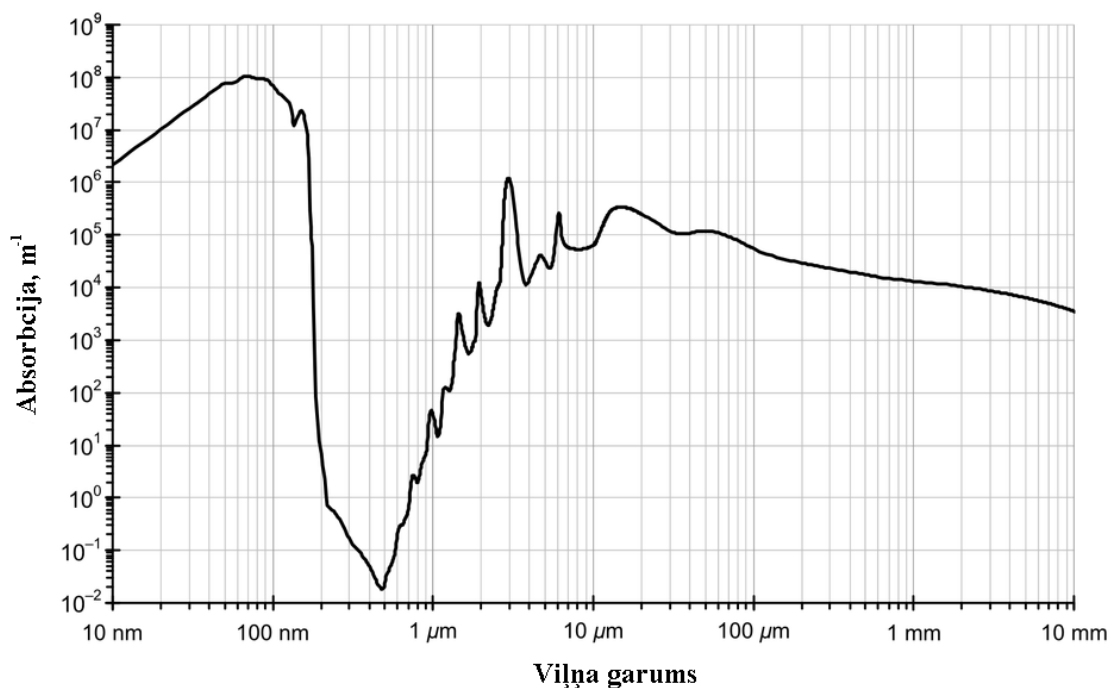
Lipīdi ir ķermeņa tauki. Tie korelācijā ar ūdeni ir atrodami visā ķermenī, piemēram, epikadriālajos taukos un zemādas tauku slānī. Taukaudi tiek uzskatīti par gaismu izkliedējošiem audiem, kaut gan tie darbojas arī kā absorbējoša viela [1] (1.10. att.).



1.10. att. Tauku absorbcijas koeficients. Kļūdu nogriežņi attēlo standarta novirzi divu temperatūru gadījumā – pie 37°C un 60°C [pielāgots no 15]

1.2.8. Ūdens

Ūdens vāji absorbē gaismu redzamajā starojumā, bet ievērojami absorbē gaismu ultravioletajā un infrasarkanajā starojumā (1.11. att.). Tas ir sastopams visā ķermenī gan starpšūnu vidē, gan ārpusšūnu šķidrumā, piemēram, plazmā un asinīs. Ūdens koncentrācija variē no 11% tauku saturošajos audos līdz aptuveni 92% plazmā [1].



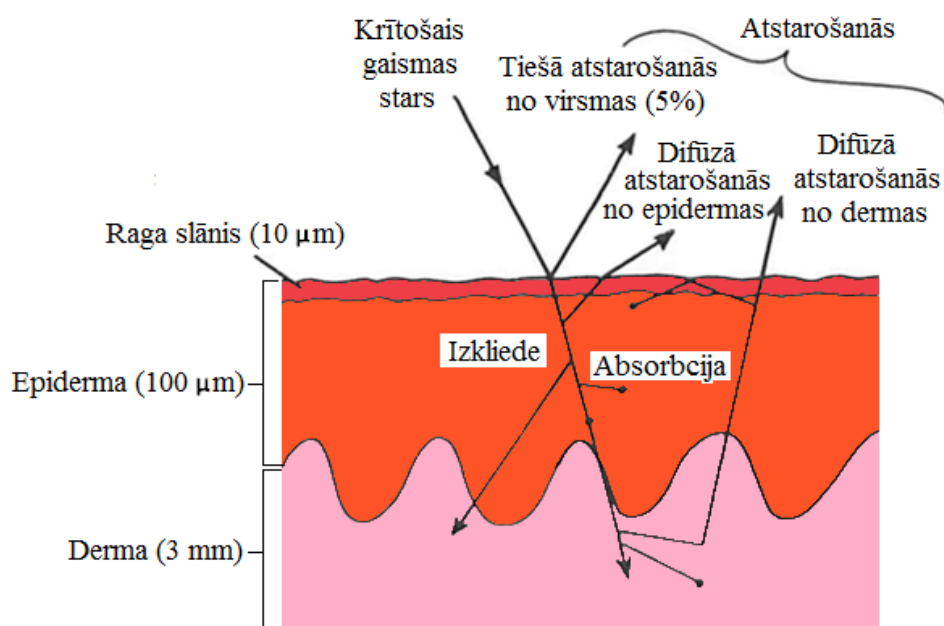
1.11. att. Ūdens absorbcijas spektrs logaritmiskā skalā [pielāgots no 16]

1.3. Ādas optiskās īpašības

Ādas optika apraksta to, kā āda atstaro un uzņem dažādu viļņa garuma gaismu. Gaisma, kas netiek uzreiz atstarota no ādas virsmas, iespiežas dziļāk audos, kur tā tiek izkliedēta, līdz vai nu tiek pilnībā absorbēta, vai tiek izstarota ārpus audiem (1.12. att.). Gaismas stara ceļu ādā nosaka konkrētā ādas slāņa optiskās īpašības. Atšķirība starp ādas slāņiem pamatā ir atkarīga no melanīna, asins un karotīna koncentrācijas [1,17].

Raksturīgās optiskās īpašības konkrētam slānim var tikt aprakstītas, izmantojot vairākus no izmantotā viļņa garuma atkarīgus lielumus – optisko dziļumu, vienas izkliedes albedo, normalizēta tilpuma izkliedes funkciju [17].

Ādas slāņa optiskais dziļums ir vidējais starojuma iespiešanās dziļums, kad intensitāte nokrīt līdz $1/e$ līmenim. Gaisma var tikt vājināta absorbcijas un gaismas izkliedes dēļ. Vienas izkliedes albedo nosaka varbūtību, ka gaismas vājināšanās notiek izkliedes rezultātā. Normalizēta tilpuma izkliedes funkcija nosaka varbūtību izkliedei notikt kādā konkrētā virzienā [17].



1.12. att. Shematiska diagramma gaismas stara ceļam ādā [pielāgots no 18]

1.3.1. Gaismas izkliede ādā

Gaismas izkliedes rezultātā fotons maina savu kustības virzienu. Tas var būt gan elastīgs, gan neelastīgs process. Fotona izkliedi var uzskatīt arī kā absorbciju, pēc kuras uzreiz seko jauna fotona emisija tajā pašā vai citā virzienā [1].

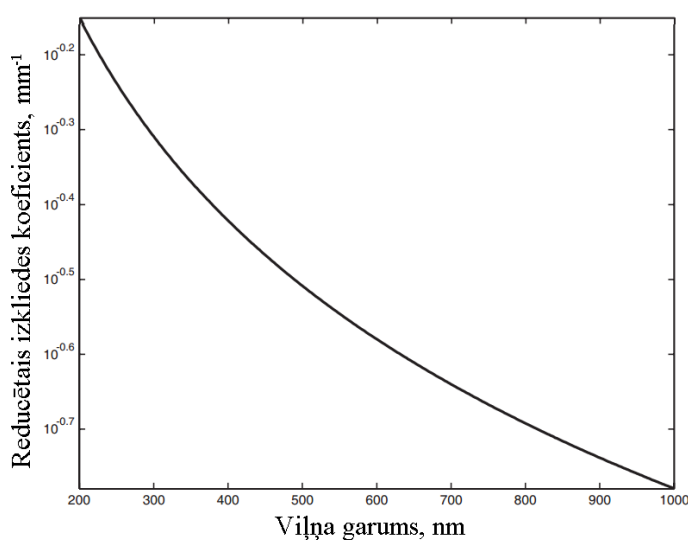
Izkliede ir atkarīga no gaismas viļņa garuma un izkliedējošo daļiņu izmēra. Ja daļiņa ir daudz lielāka par gaismas viļņa garumu, tad to sauc par ģeometrisku izkliedi. Izkliedētās

gaismas virzienu dažādos ādas slāņos un audos var aprēķināt, izmantojot refrakcijas indeksu un Snelliusa likumu. Ja daļiņa ir aptuveni tāda paša izmēra, kā gaismas viļņa garums, tad tā ir Mī veida izkliede. Savukārt, ja daļiņas ir daudz mazākas par viļņa garumu, tad to sauc par Releja izkliedi. Tā ir gandrīz izotropiska un apgriezti proporcionāla viļņa garuma ceturtajai pakāpei. Cilvēka ādā nozīmīgākā ir Mī izkliede [1].

Gaismas izkliede raksturo gaismas stara virziena, fāzes, vai polarizācijas izmaiņas. No ādas virsmas tiek atstaroti 4% līdz 7% redzamās gaismas neatkarīgi no ādas krāsas. Pārējā gaisma tiek lauza, kad tā no gaisa iet ādā [19].

Ādas dermas slānī izkļiedes īpašības nosaka audu struktūra – kolagēna šķiedru veidotie saišķi. Gaisma tiek izkļiedēta gan konkrētā šķiedrā, gan izkļiedes centrā, ko veido vairāku šķiedru sapinums [20].

Reducētais izkļiedes koeficients tiek definēts kā: $\mu_s' = \mu_s(1 - g) [cm^{-1}]$, kur μ_s ir izkļiedes koeficients un g ir anizotropijas faktors. Anizotropijas faktors apraksta vidējo izkļiedes leņķu kosinusu: $g = \langle \cos \theta \rangle$. Ja šis koeficients ir tuvs nullei, tad to uzskata par izotropisku izkliedi, ja tuvs vērtība 1 – uz priekšu vērstu izkliedi un, ja tuvs vērtībai -1, tad to sauc par atpakaļ vērstu izkliedi. Ādas audos anizotropijas faktora vērtība ir no $0,74_{\lambda=476nm}$ līdz $0,995_{\lambda=665nm}$. Reducedais izkļiedes koeficients apraksta to, kā fotoni tiek izkļiedēti, noejot $1/\mu_s'$ [cm] lielu attālumu, ja katrā solī notiek izotropiska izkliede (1.13. att.). To var apskatīt arī kā fotona kustību, veicot daudzus mazus soļus $1/\mu_s$, kur katrs no tiem maina savu virzienu par leņķi θ [1, 21].



1.13. att. Reducētā izkļiedes koeficienta atkarība no viļņa garuma logaritmiskā skalā, izmantota aproksimācija $a\lambda^{-\beta}$ [pielāgots no 1]

1.3.2. Gaismas absorbcija ādā

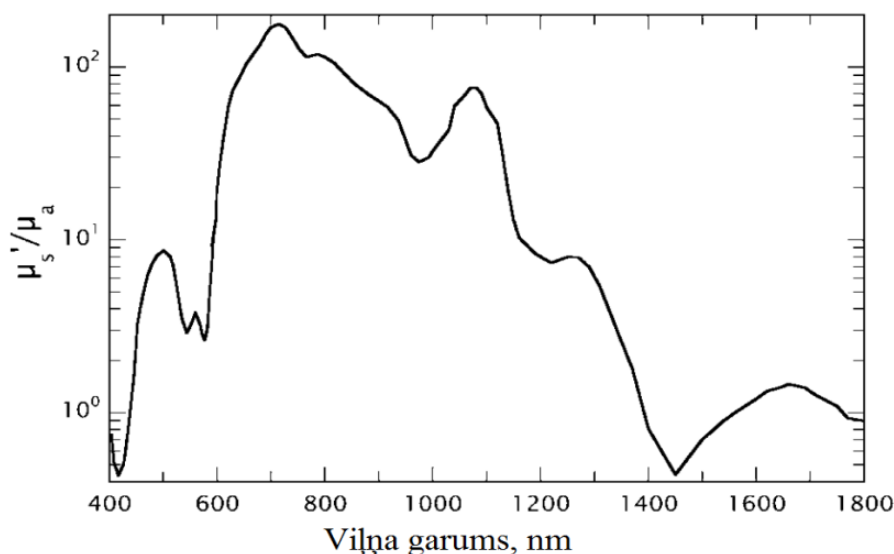
Absorbcija notiek tad, kad visa fotona enerģija pāriet molekulu iekšējā enerģijā. Fotons var tikt pilnībā absorbēts tikai tad, ja tā enerģija pilnībā atbilst enerģijas izmaiņai starp diviem molekulā atļautiem enerģijas līmeņiem. To var izteikt, izmantojot Bora postulātu:

$$\Delta E = E_1 - E_2 = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c_{\text{vakuumā}}}{\lambda}$$

Absorbcijas rezultātā molekula tiek ierosināta augstākā enerģijas stāvoklī. No šī stāvokļa lielā enerģija laika gaitā tiek izkliedēta siltuma starojuma veidā, retāk tā tiek emitēta kā jauns fotons fluorescences, fosforescences, vai fotoķīmiskās reakcijas veidā. Atļautie enerģijas līmeņi dažādām molekulām atšķiras. Tādēļ absorbcija ir atkarīga no krītošās gaismas viļņa garuma [1].

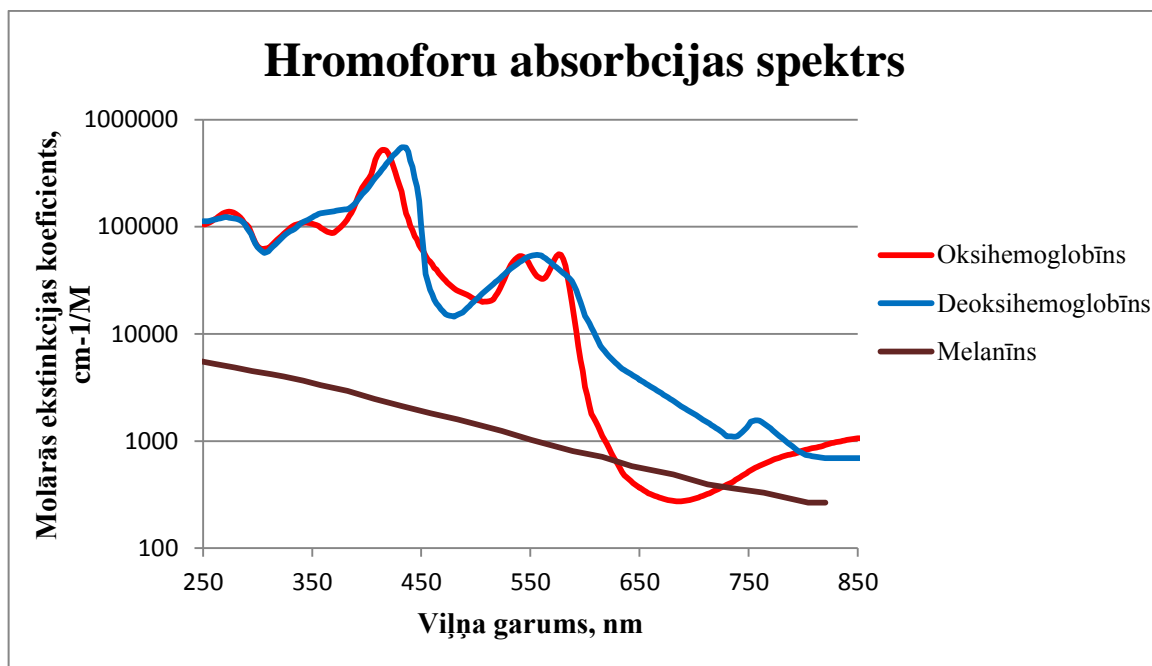
Absorbcijas aprakstīšanai izmanto absorbcijas koeficientu $\mu_a(\lambda)$ [mm^{-1}]. Tas nosaka vidējo attālumu, kāds jānoiet fotonam, līdz tas tiek absorbēts. Absorbcijas aprakstīšanai izmanto arī molāro absorbciju $\varepsilon(\lambda)$ [$\text{L}/(\text{mol} \cdot \text{mm})$] un absorbanci $a(\lambda)$ [$\text{L}/(\text{g} \cdot \text{mm})$]. To savstarpējā saistība ir šāda: $\mu_a(\lambda) = \ln(10) \cdot \varepsilon(\lambda) \cdot c = \ln(10) \cdot a(\lambda) \cdot c$, kur c ir hromoforu koncentrācija [mol/L vai g/L] [1].

1.14. attēlā attēlota ādas reducētā izkliedes koeficienta un absorbcijas koeficienta attiecības atkarība no viļņa garuma. Kā redzams, kad $\lambda < 450$ nm, gaismas absorbcijas ietekme ir daudz lielāka, nekā gaismas izkliedei. Savukārt no 450 nm līdz 1750 nm gaismas izkliede izpaužas spēcīgāk, kā absorbcija, lai gan no 450 nm līdz 600 nm melanīns un hemoglobīns ievērojami palielina ādas absorbcijas spējas, tāpat kā ūdens pie $\lambda > 1350$ nm [22].



1.14. att. Reducētā izkliedes koeficienta un absorbcijas koeficienta attiecība cilvēka ādā
logaritmiskā skalā [pielāgots no 22]

Galvenās hromoforas, kas nosaka gaismas absorbciju redzamajā spektra daļā, ir hemoglobīns un melanīns (1.15. att.).

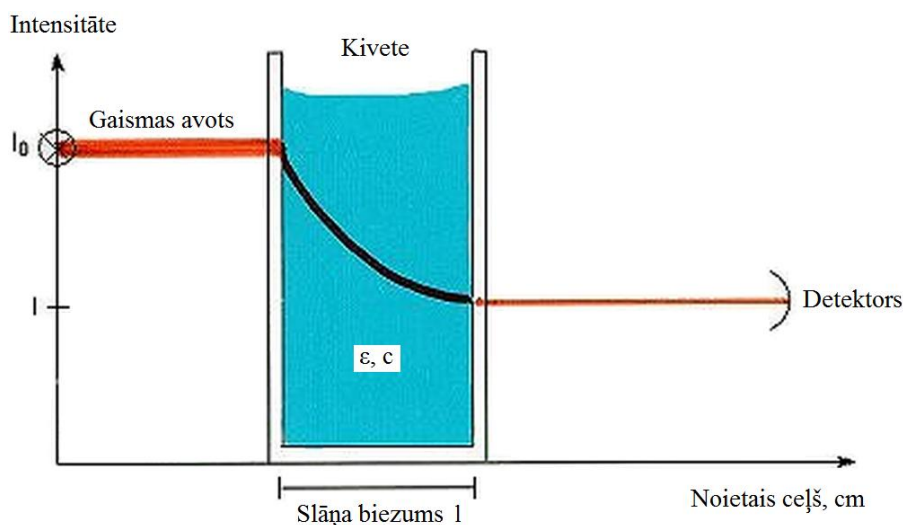


1.15. att. Melanīna un hemoglobīna absorbcijas spektri logaritmiskā skalā [7, 8]

Lai raksturotu optiskā starojuma izplatību audos, izmanto Lamberta – Bēra likumu:

$$\frac{I'}{I_0} = e^{-\mu_a l}, \quad (1.1.)$$

kur I_0 ir krītošās gaismas intensitāte, I' ir cauri audiem izejošās gaismas intensitāte, μ_a ir vidējais absorbcijas koeficients (to parasti mēra cm⁻¹) un l ir optiskā ceļa garums audos [23] (1.16. att.).



1.16. att. Lamberta – Bēra likums [pielāgots no 24]

1.3.3. Gaismas iespiešanās dziļums ādā

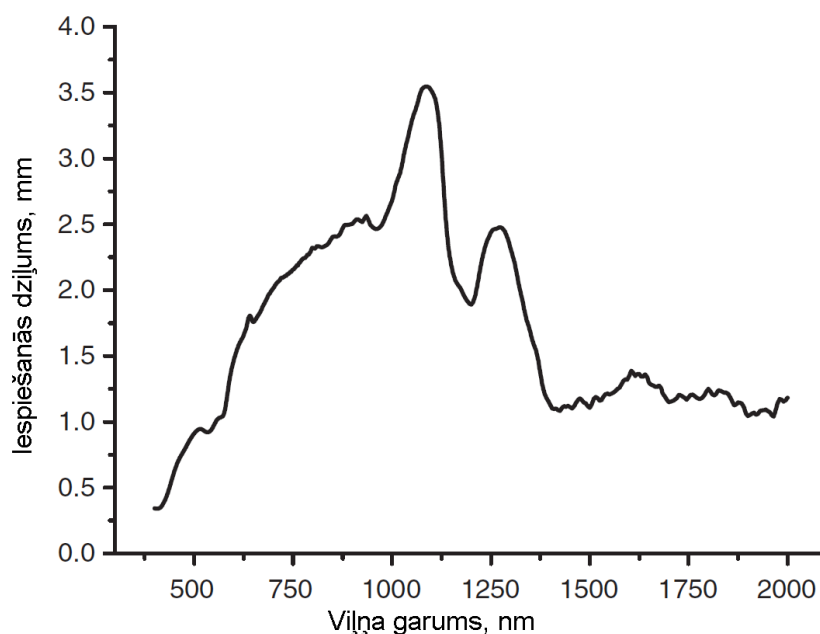
Optiskā starojuma iespiešanās dziļums ādā ir atkarīgs no daudz dažādiem faktoriem: ādas vecuma, tās atrašanās vietas uz ķermeņa, temperatūras, hidratācijas pakāpes, veselības stāvokļa utt. [25].

Gaismas vidējo ($1/e$ līmenī) iespiešanās dziļumu audos δ var aprēķināt, izmantojot formulu:

$$\delta = \frac{1}{\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu_s')}}, \quad (1.2.)$$

kur μ_a ir absorbcijas koeficients un μ_s' ir reducētais izkliedes koeficients [20].

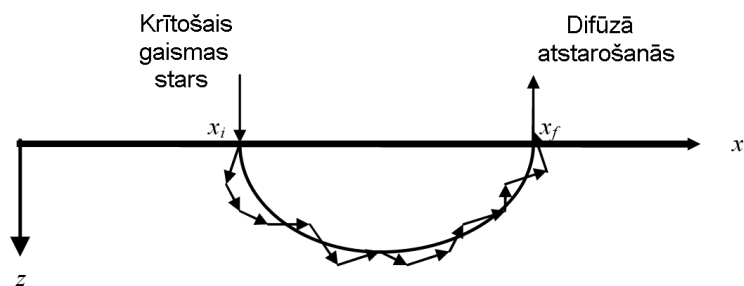
Sarkanā gaisma iespiežas ādas audos daudz dziļāk, nekā zilā gaisma (1.17. att.). Vislielākais vidējais iespiešanās dziļums ādā (3,5 mm) tiek novērots pie 1090 nm. Gaismas diapazonu no 600 nm līdz 1200 nm sauc par optisko jeb terapeitisko logu [20].



1.17. att. Vidējā iespiešanās dziļuma ādā atkarība no viļņa garuma [pielāgots no 20]

1.3.4. Difūzā atstarošanās

Vienkāršotā modelī difūzo gaismas atstarošanos var aprakstīt ar gaismas staru, kurš krīt uz homogēnu ādas virsmu. Ādas audus raksturo absorbcijas koeficients μ_a un reducētās izkliedes koeficients μ_s' , kā arī laušanas koeficients n (ādas audiem n : 1,35 – 1,45). Fotonu izplatīšanās virzienu maiņu lielā mērā nosaka pārejas starp apgabaliem ar atšķirīgām n vērtībām. Gaisma, nonākot audos, tiek daudzkārt izkliedēta, līdz atkal sasniedz ādas virsmu un tiek difūzi atstarota (1.18. att.) [26].



1.18. att. Gaismas difūzā atstarošana [pielāgots no 26]

Pilno difūzās atstarošanas koeficientu var definēt ar šādu formulu:

$$R_{im} = \frac{1}{1 + kn^2 \frac{\mu_a}{\mu_s}}, \quad (1.3.)$$

kur k ir empīrisks reizinātājs, n laušanas koeficients, μ_a absorbcijas koeficients un μ_s reducētās izkliedes koeficients [26].

1.4. Citu autoru piedāvātās ādas hromoforu kartēšanas metodes

1.4.1. Melanīna noteikšana

R. Amelard *et al.* darbā [27], izmantojot melanīna un hemoglobīna ekstinkcijas koeficientus, tika izraudzītas trīs dažādu viļņa garuma gaismas diodes (LED) – 530 nm, 660 nm un 850 nm. Tika izmērīta atstarotā gaisma. Absorbciju pie noteikta viļņu garuma λ noteica, izmantojot Bēra – Lamberta likumu:

$$A_\lambda = \log\left(\frac{I}{I_0}\right) = \varepsilon_\lambda l c, \quad (1.4.)$$

kur I_0 ir krītošā stara intensitāte, I ir atstarotā stara intensitāte, ε_λ ir vidējais ekstinkcijas koeficients pie viļņa garuma λ , l ir fotona ceļa garums, c ir hromoforu koncentrācija [27].

Iegūtie dati tika modelēti kā lineāra kombinācija no vairākām hromoforām un fona signāla:

$$A_\lambda = \sum_j \varepsilon_{\lambda,j} (c_j l_j) + \eta, \quad (1.5.)$$

kur A_λ ir gaismas absorbcija pie viļņa garuma λ , j ir konkrēta hromofora, η ir troksnis [27].

Šis vienādojums matricu formā:

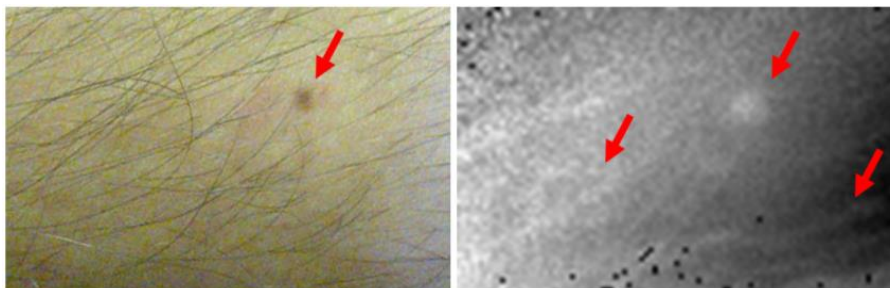
$$A = Ecl^T. \quad (1.6.)$$

Hromoforu relatīvo koncentrāciju var izteikt kā:

$$c_R = ((E^T E)^{-1} E^T) A. \quad (1.7.)$$

Eksperimentā tika ņemta vērā tikai oksihemoglobīna un melanīna koncentrācija. Četri attēli tika uzņemti 40 ms laikā – pie katra no viļņa garumiem un viens ar izslēgtām LED spuldzēm [27].

Rezultātā, izmantojot šo metodi, ir iespējams noteikt ādas apgabalus ar augstu melanīna koncentrāciju. Attēlā 1.19. redzams, ka dzimumzīmei un matiem ir paaugstināta melanīna koncentrācija.



a) RGB attēls

b) Melanīna karte

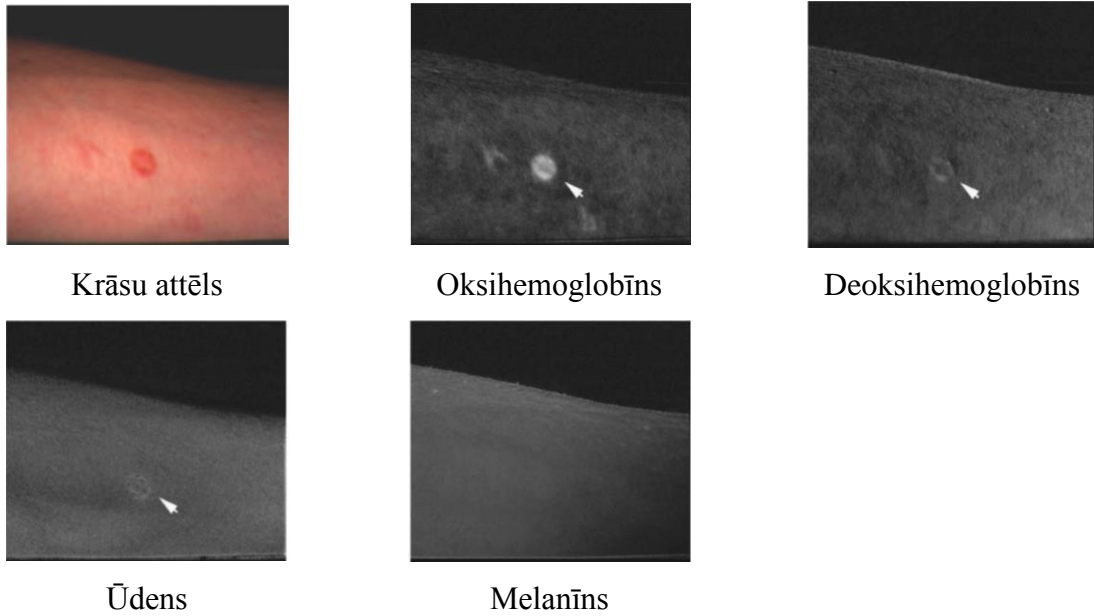
1.19. att. Eksperimentā iegūtie rezultāti. a) RGB attēls, tajā ar bultiņu atzīmēta dzimumzīme, b) melanīna karte, tajā ar bultiņām atzīmēta dzimumzīme un vietas, kur āda tiek pārapgaismota vai par maz apgaismota ar LED spuldzēm [27]

1.4.2. Ādas tūskas novērošana, izmantojot spektrālos attēlus redzamajā un tuvajā infrasarkanajā gaismā

G.N. Stamatias *et al.* darbā [28] tika izmantota spektrālā kamera ar 18 šaurjoslu filtriem intervālā no 400 nm līdz 970 nm un 3 platjoslu filtriem – sarkanajā, zaļajā un zilajā reģionā. Tika iegūta spektrālo attēlu sērija redzamajā un tuvajā infrasarkanajā reģionā. Katrs attēls tika uzņemts aptuveni 5 sekundes. Vienā sērijā tika iegūti vismaz 6 attēli. Attēli tika izlīdzināti, izmantojot algoritmu, kas balstās uz attāluma samazināšanu Furjē domēnā.

Tie vispirms tika pārveidoti par optiskā blīvuma (absorbcijas) kartēm, no kurām pēc tam katrā pikselī tika izrēķinātas hromoforu koncentrācijas [28] (1.20. att.).

Absorbcijas spektrs katrā attēla pikselī tika rēķināts kā negatīvs logaritms no interesējošā attēla attiecībā pret attēlu pie 850 nm, kur melanīna, ūdens un hemoglobīna absorbcija ir neliela.



1.20. Hromoforu kartēs redzams hromoforu koncentrācijas intensitāte un telpiskais sadalījums ādas apsārtumā un tūskā [28]

1.4.3. Ādas melanomu noteikšana, izmantojot multispektrālo attēlu analīzi

I. Kuzminas *et al.* darbā [29] izmantotas trīs halogēnās lampas ādas apgaismojumam spektra diapazonā no 450 nm līdz 950 nm. Filtrēšanas joslas platums ir 15 nm.

Apstrādājot iegūtos attēlus, tika sastādītas optiskā blīvuma kartes (OD):

$$OD = -\log_{10} \left(\frac{I}{I_{ref}} \right), \quad (1.8.)$$

kur I_{ref} ir no balta papīra atstarotās gaismas intensitāte un I ir no ādas atstarotās gaismas intensitāte [29].

Tika izmantots 3 hromoforu absorbcijas modelis:

$$OD = c_{ROH} \varepsilon_{OH} + c_{RDOH} \varepsilon_{DOH} + c_{RMEL} \varepsilon_{MEL} + a_{fona}, \quad (1.9.)$$

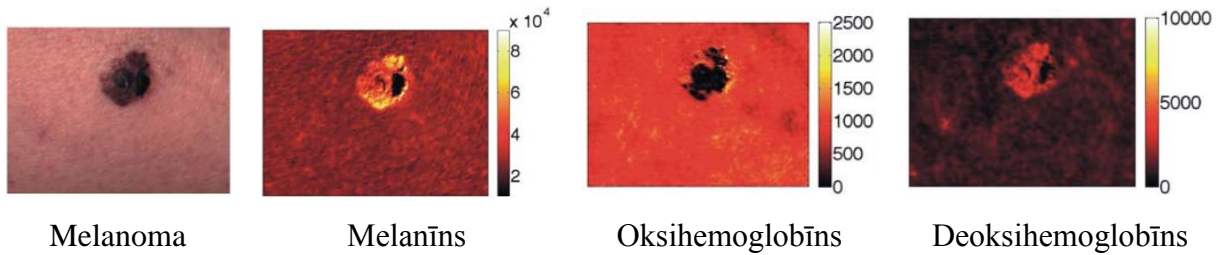
kur OH – oksihemoglobīns, DOH – deoksihemoglobīns, MEL – melanīns, ε – ekstinkcijas koeficients, c_R – relatīvā hromoforu koncentrācija un a_{fona} – atšķirība starp izmērīto un sagaidāmo spektru [29].

Tika aprēķināta arī optiskā blīvuma starpība (δOD) starp ādas veidojumu un apkārtējo veselo ādu:

$$\delta OD = OD_{veidojuma} - OD_{vesela_āda} = \delta c_{ROH} \varepsilon_{OH} + \delta c_{RDOH} \varepsilon_{DOH} + \delta c_{RMEL} \varepsilon_{MEL} \quad (1.10.)$$

kur δc_R ir relatīvo koncentrāciju atšķirība starp veselu ādu un ādas veidojumu [29].

Izmantojot trīs hromoforu absorbcijas modeli, tika aprēķinātas oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna relatīvās koncentrācijas un sastādītas to kartes (1.21. att.).



1.21. att. Melanomas RGB attēls, melanīna, oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna kartes [29]

1.4.4. RGB attēlu izmantošana hemoglobīna sadalījuma kartēšanai ādā

D. Jakovela *et al.* darbā [30] izmantots RGB CMOS sensors un RGB LED gredzenveida apgaismojums. Sistēma strādā 3 – 10 cm attālumā. Tika izmantots gan foto, gan video režīms.

Izmantojot atstarotās gaismas intensitātes vērtības I_R , I_G , I_B tika izrēķināts optiskais blīvums OD:

$$\Delta OD = -\log\left(\frac{I}{I_{ref}}\right), \quad (1.11.)$$

kur I_{ref} ir no veselas ādas atstarotās gaismas intensitāte [30].

Optiskais blīvums ir atkarīgs no hromoforu absorbcijas spektriem:

$$\Delta OD = (\varepsilon_{OH} \cdot \Delta c_{OH} + \varepsilon_{DOH} \cdot \Delta c_{DOH} + \varepsilon_{MEL} \cdot \Delta c_{MEL}) \cdot l, \quad (1.12.)$$

kur OH – oksihemoglobīns, DOH – deoksihemoglobīns, MEL – melanīns, ε – ekstinkcijas koeficients, Δc ir hromoforu koncentrācijas izmaiņas, l ir optiskā ceļa garums, kas ir proporcionāls gaismas iespiešanās dziļumam ādā [30].

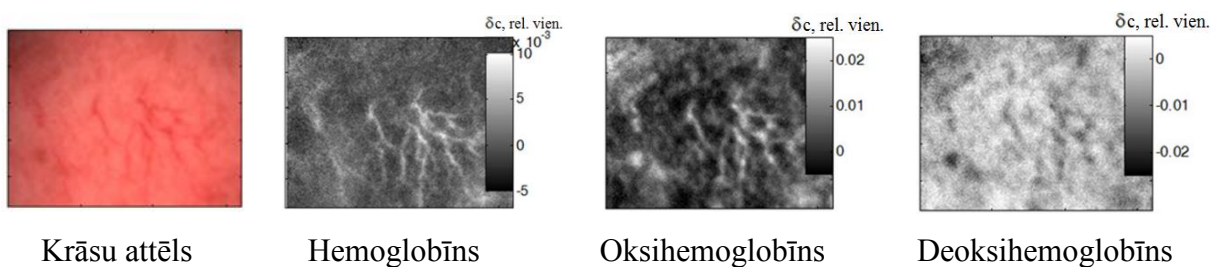
Iegūto ādas un tās veidojuma OD spektru starpības aproksimē ar mazāko kvadrātu metodi. Optiskais blīvums tiek izteikts katram krāsu kanālam. To var pārveidot matricu formā:

$$\begin{bmatrix} \Delta OD(R) \\ \Delta OD(G) \\ \Delta OD(B) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \varepsilon_{OH}(R) \cdot d(R) & \varepsilon_{DOH}(R) \cdot d(R) \\ \varepsilon_{OH}(G) \cdot d(G) & \varepsilon_{DOH}(G) \cdot d(G) \\ \varepsilon_{OH}(B) \cdot d(B) & \varepsilon_{DOH}(B) \cdot d(B) \end{bmatrix} \times \begin{bmatrix} \Delta c_{OH} \\ \Delta c_{DOH} \end{bmatrix}. \quad (1.13.)$$

Hemoglobīna kopīgo izmaiņu var izteikt kā oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna koncentrāciju izmaiņu summu:

$$\Delta c_{TH} = \Delta c_{OH} + \Delta c_{DOH}. \quad (1.14.)$$

Rezultātā tika iegūta pilnā hemoglobīna, oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna koncentrāciju kartes (1.22. att.).



1.22. att. Krāsu attēls un oksī-, deoksi- un kopīgā hemoglobīna koncentrāciju kartes [30]

1.4.5. SKImager

J.Spīguļa *et al.* darbā [31] tiek apskatīts LU ASI izstrādāta eksperimentāla prototipa ierīce SkImager. Tās pamatā tiek lietots CMOS sensors un LED apgaismošanas sistēma. Tiek izmantotas 24 gaismu izstarojošas diodes (LED) – 4 baltas diodes un 4 diodes ar maksimumu katrā no pieciem viļņa garumiem: 365, 450, 540, 660 un 940 nm.

Hromoforu kartes tiek aprēķinātas, izmantojot četrus spektrālos attēlus. Tiek aprēķinātas hemoglobīna, bilirubīna un melanīna kartes.

$$HB_{i,j} = C_1 + C_2 \log \left(\frac{I_{R_{ij}}}{I_{G_{ij}}} \right), \quad (1.15.)$$

$$BL_{i,j} = C_3 + C_4 \log \left(\frac{I_{G_{ij}}}{I_{B_{ij}}} \right), \quad (1.16.)$$

$$ML_{i,j} = C_5 + C_6 \log \left(\frac{I_{IR_{ij}}}{I_{R_{ij}}} \right), \quad (1.17.)$$

$$MD_{i,j} = C_7 \log \left(\frac{C_8}{I_{IR_{ij}}} \right), \quad (1.18.)$$

kur HB – hemoglobīns, BL – bilirubīns, ML – melanīns, MD – ādas melanīns, I_R , I_G , I_B un I_{IR} ir reģistrētā gaismas intensitāte attēla i, j pikselī, C_1, C_2, \dots, C_8 ir normēšanas koeficienti, kas ir iegūti, izmantojot balto referenci [31].

Reģistrētais signāls pie katra apgaismojuma ir atkarīgs no ādas spektrālā optiskā blīvuma S , LED emisijas spektra L un sensoru matricu jūtības M :

$$I_{R_{ij}} = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} M_{R_{ij}}(\lambda) L_{660}(\lambda) S(\lambda) d\lambda, \quad (1.19.)$$

$$I_{G_{ij}} = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} M_{G_{ij}}(\lambda) L_{540}(\lambda) S(\lambda) d\lambda, \quad (1.20.)$$

$$I_{B_{ij}} = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} M_{B_{ij}}(\lambda) L_{450}(\lambda) S(\lambda) d\lambda, \quad (1.21.)$$

$$I_{IR_{ij}} = \int_{\lambda_1}^{\lambda_2} M_{IR_{ij}}(\lambda) L_{940}(\lambda) S(\lambda) d\lambda. \quad (1.22.)$$

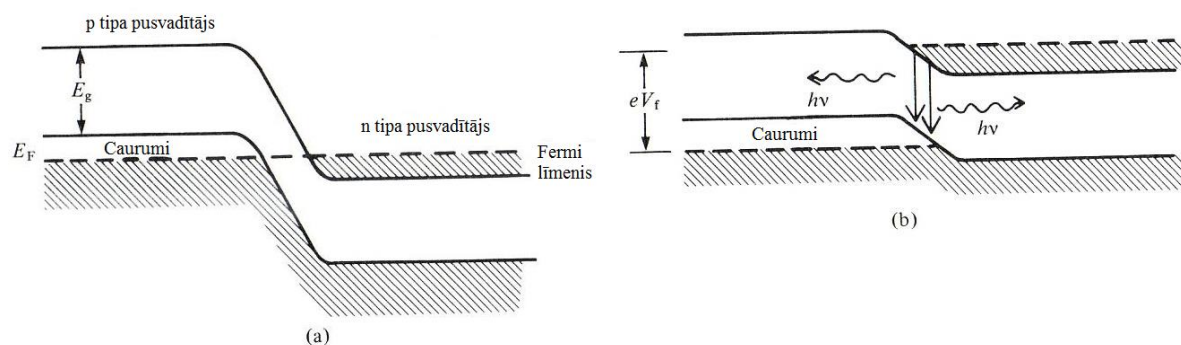
1.5. Lāzeru diožu moduļi

Lāzeru diožu moduļu priekšrocība ir to mazais izmērs, nelielā patērētā jauda un ilgais dzīves laiks. Tiem ir plašs pielietojums gan zinātnē, gan industrijā. Lāzeru diodes piedāvā plašu gaismas viļņa garumu, izejas jaudu un lāzera stara formu [32]. Bakalaura darbā tika izmantoti punktveida lāzeri.

1.5.1. Pusvadītāju diožu lāzeri

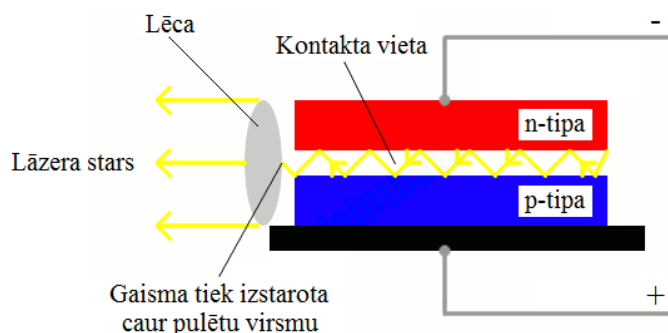
Darbā izmantotais sarkanais lāzers (659 nm) ir pusvadītāju diožu lāzers. Tie ir ļoti mazi pēc izmēriem, efektīvi un patērē maz jaudas. Darbības principa pamatā ir elektronu – caurumu pāreja (p-n pāreja). Tie sastāv no diviem dažādiem materiāliem: vienam no tiem ir liela brīvu elektronu koncentrācija (n-tipa), bet otram ir elektronu iztrūkums – daudz brīvi pozitīvi caurumi (p-tipa) [33].

P-tipa pusvadītājos Fermī līmenis atrodas valentajā zonā, bet n-tipa – vadāmības zonā. Ārējā elektriskā lauka ietekmē Fermī līmeņi abos pusvadītājos tiek savstarpēji nobīdīti. Tā rezultātā elektroni no n-tipa pusvadītāja pārvietojas uz p-tipa pusvadītāju, savukārt pozitīvie caurumi pārvietojas pretējā virzienā. Negatīvi lādētie elektroni pievelk pozitīvi lādētos caurumus un, kad tie satiekas, elektriskais lādiņš tiek neitralizēts – notiek elektrona-cauruma rekombinācija. Tajā pašā laikā tiek izstarots atbilstošas enerģijas fotons (1.23. att.).



1.23. att. Enerģētiskā shēma n- un p-tipa pusvadītāju kontakta vietā: a) bez ārēja lauka, b) ar ārējo lauku; E_g – aizliegtās zonas platums, E_F – Fermī līmeņa enerģija [pielāgots no 34]

1.24. attēlā dota vienkārša pusvadītāju lāzeru diodes shēma.

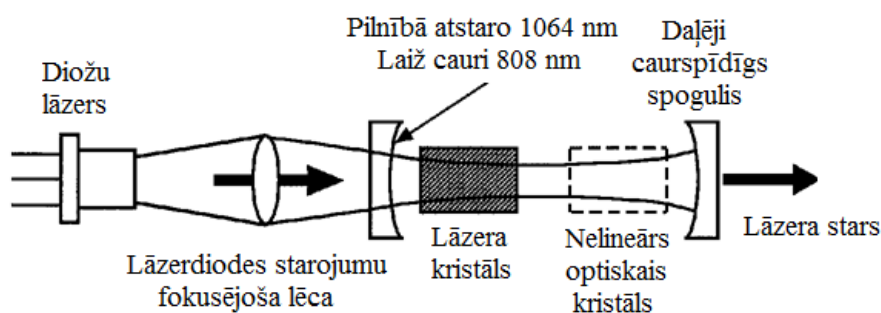


1.24. att. Pusvadītāju lāzeru diodes shēma [pielāgots no 35]

1.5.2. DPSS lāzeri

Zaļais lāzers (532 nm) un zilais lāzers (473 nm) pieder pie DPSS (*diode-pumped solid state*) grupas lāzeriem. Starojums rodas ar lāzerdiodi uzpumpējot cietvielu kristālu (piemēram, Nd:YVO₄ un KTP) [33].

1.25. attēlā sniegta vienkāršota DPSS lāzera shēma. Zaļā lāzera gadījumā diožu lāzera starojums tiek fokusēts uz Nd:YVO₄ kristālu. Kreisajā pusē redzams spogulis, kas kalpo kā rezonators. No tā daļa starojuma tiek pilnībā atstarota (1064 nm), bet daļa tiek laista cauri (808 nm). Labajā pusē atrodas otrs spogulis, kas laiž cauri 1064 nm un 532 nm viļņu garumu, bet aiztur 808 nm. 532 nm viļņa garumu ģenerē nelineārais optiskais kristāls [33].

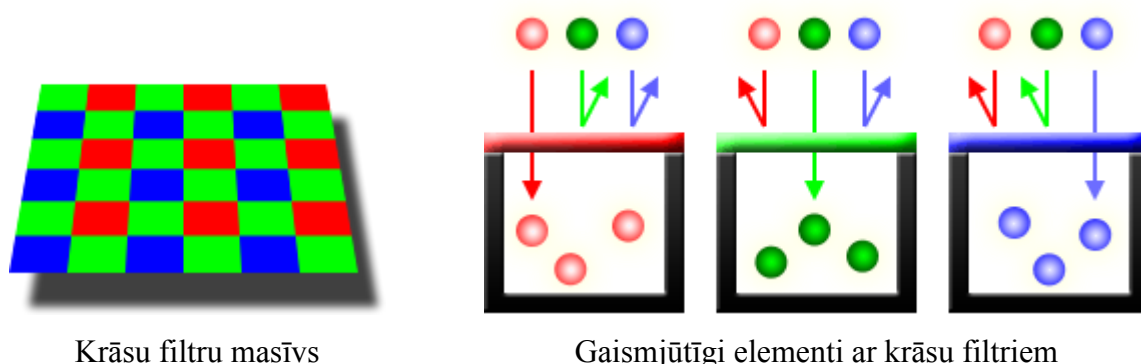


1.25. att. DPSS lāzera shēma [pielāgots no 33]

1.6. Krāsu attēlu sensori

Krāsu attēlu sensoru darbības pamatā ir process, kurā uz sensora dažādiem virsmas elementiem (pikseļiem) krītošā gaisma tiek pārveidota elektronu plūsmā. Jo stiprāka ir fotonu plūsma, jo vairāk elektroni tiek ģenerēti. Šī gaismas plūsma tiek detektēta, izmantojot gaismjutīgus elementus, kas sakārtoti matricas formā. Lai iegūtu krāsainu attēlu, katram

gaismjūtīgajam elementam priekšā tika novietots filtrs. Izmanto trīs veidu filtrus – sarkanu, zaļu un zilu (RGB) (1.26. att.) [36, 37].



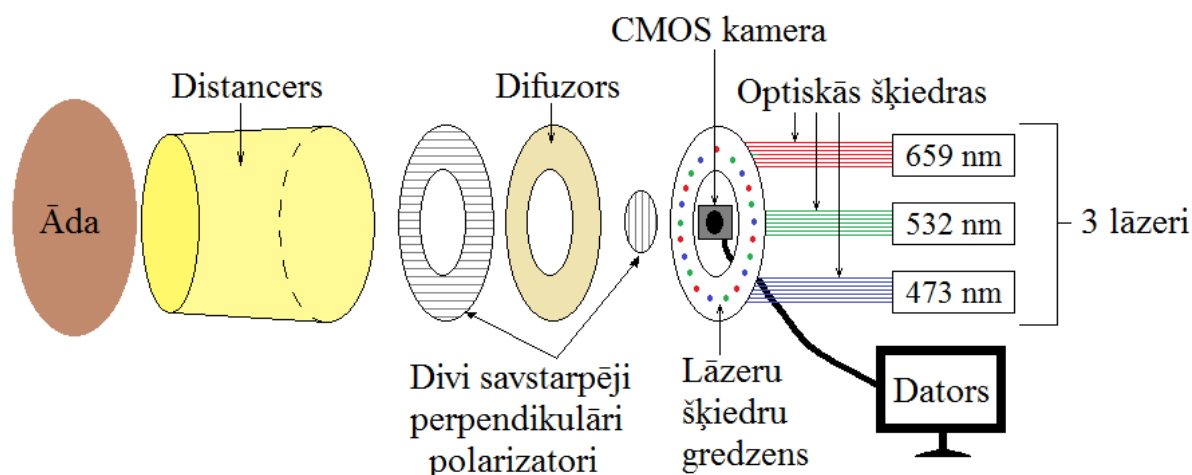
1.26. att. Baijera krāsu filtrs [37]

Darba izstrādē tika izmantots CMOS (*complementary metal-oxide semiconductor*) sensors. CMOS sensoriem ir zems enerģijas patēriņš un mazi izmēri. Tiem ir iespējams atdalīti nolasīt R , G un B vērtības katra pikseļa izejā, kā arī nolasīt katru konkrēto pikseli atsevišķi – tātd var palielināt kadru uzņemšanas ātrumu kādā konkrētā sensora apgabalā, ja tiek apskatīts tikai šis apgabals [36].

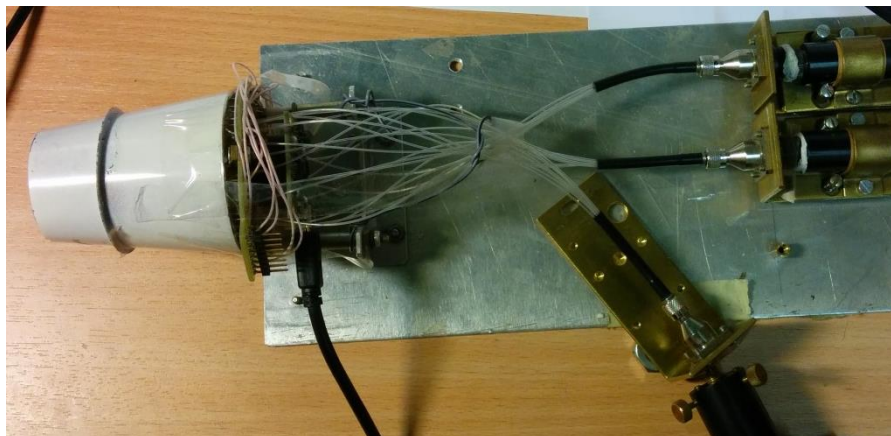
2. METODISKĀ DAĻA

2.1. Eksperimentālā iekārta

Eksperimentā tika izmantota Atomfizikas un spektroskopijas institūta izveidota iekārta. Tās shēma redzama 2.1. attēlā, bet prototipa vizuālo izskatu var redzēt 2.2. attēlā.



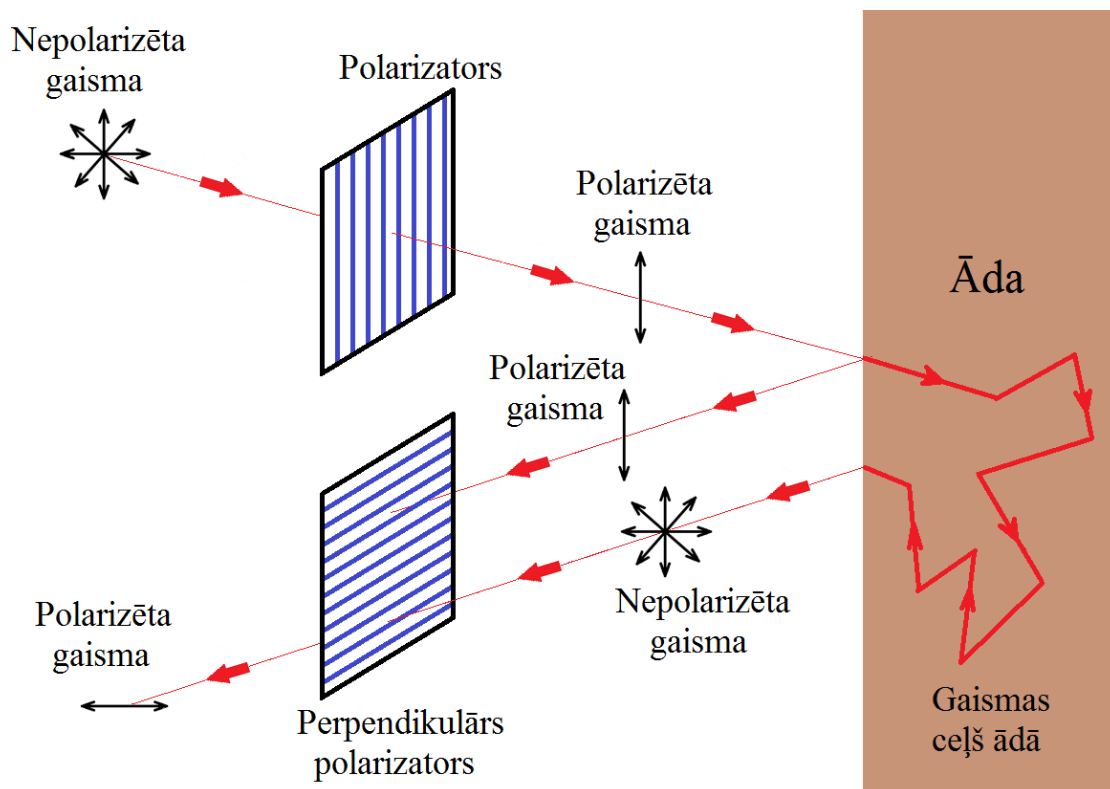
2.1. att. Eksperimentālās iekārtas shēma



2.2. att. Eksperimentālās iekārtas vizuālais izskats

Iekārtā tiek izmantoti trīs lāzeri, ar zināmiem viļņu garumiem: 473 nm, 532 nm un 659 nm. Katra lāzera stars tiek ievadīts 7 optiskajās šķiedrās. Tās visas tiek apkopotas speciāli izveidotā šķiedru gredzenā, ko izmanto objekta apgaismošanai. Gredzenam priekšā atrodas difuzors, lai iegūtais apgaismojums būtu pēc iespējas vienmērīgāks. Lai nodrošinātu to, ka visos eksperimentos attālums no kameras līdz apskatāmajai ādai ir vienāds, tiek lietots distancers. Attēls tiek uzņemts ar CMOS kameru un nosūtīts uz datoru. Datorā tas tiek apstrādāts ar *Matlab* programmatūras palīdzību.

Lai uzlabotu iegūto attēlu kontrastu un nodzēstu tieši atstaroto gaismu, tiek izmantoti divi krusteniski novietoti polarizatori (2.3. att.). Pirmais polarizators tiek novietots pēc lāzeru šķiedru gredzena un difuzora. Tā tiek nodrošināts tas, ka visa ādu apstarojošā gaisma ir lineāri polarizēta. Gaismas stars, sasniedzot ādu, tiek vai nu tieši atstarots, vai arī tas iespiežas dziļāk ādas audos. Ādā tas izkliedējas līdz tiek pilnībā absorbēts, vai tiek izstarots ārpus ādas audiem difūzās atstarošanas veidā. Tieši atstarotā gaisma saglabā savu polarizācijas virzienu, bet difūzi atstaroto gaismu var uzskatīt par nepolarizētu. Otrs polarizators, kas ir vērsts perpendikulārā virzienā pirmajam, tiek novietots priekšā kamerai. Tādā veidā tieši atstarotā gaisma tiek pilnībā nodzēsta.



2.3. att. Divu krustotu polarizatoru darbības shēma

Izmantotie lāzeri ir:

- 659 nm lāzers – modelis DB650-12-3, 12mW jauda;
- 532 nm lāzers – modelis DD532-10-5, 10mW jauda;
- 473 nm lāzers – CNI modelis MBL-III, 30mW jauda (tika vājināts)

Eksperimentā izmantots CMOS attēlu sensors UI-1221LE-C-HQ ar izmēru 1/3 collas. Pikseļu skaits kadrā ir 752 x 480. Kameras matricas relatīvā jūtības līkne attēlota 2.4. attēlā [38].

2.2. RGB pārklāšanās (*crosstalk*) korekcijas aprēķini

RGB joslu jutības pārklāšanās (*crosstalk*) korekcijas aprēķinu pamatā tika izmantots ASI izstrādāts algoritms [39].

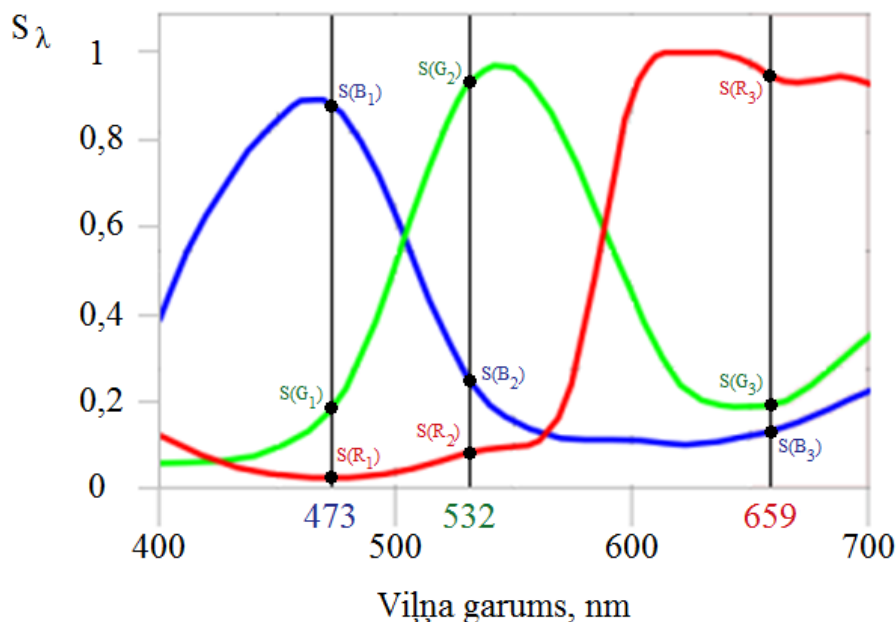
Tika izvēlēti trīs dažāda viļņa garuma lāzери – 473 nm, 532 nm, 659 nm. Katram no tiem tika atrastas kameras spektrālās jutības vērtības katrā RGB kanālā – $S(B_1)$, $S(G_1)$, $S(R_1)$, $S(B_2)$, $S(G_2)$, $S(R_2)$, $S(B_3)$, $S(G_3)$ un $S(R_3)$ (2.4. att.), kur 1, 2 un 3 apzīmē izmantotos viļņa garumus: $1 = 473$ nm, $2 = 532$ nm, $3 = 659$ nm, R , G un B apzīmē katru no trīs uztveršanas kanāliem. Šīs vērtības ir fiksētas, un to savstarpējās attiecības ir nemainīgas:

$$\begin{aligned} S_{R12} &= \frac{S(R_1)}{S(R_2)}, S_{R13} = \frac{S(R_1)}{S(R_3)}, S_{R23} = \frac{S(R_2)}{S(R_3)}, \\ S_{G12} &= \frac{S(G_1)}{S(G_2)}, S_{G13} = \frac{S(G_1)}{S(G_3)}, S_{G23} = \frac{S(G_2)}{S(G_3)}, \\ S_{B12} &= \frac{S(B_1)}{S(B_2)}, S_{B13} = \frac{S(B_1)}{S(B_3)}, S_{B23} = \frac{S(B_2)}{S(B_3)}. \end{aligned} \quad (2.1)$$

Tika sastādītas vienādojumu sistēmas katram no uztverošajiem R, G un B kanāliem:

$$R = R_1 + R_2 + R_3, G = G_1 + G_2 + G_3, B = B_1 + B_2 + B_3, \quad (2.2.)$$

kur R_1 , G_1 un B_1 ir katrā kanālā uztvertās vērtības pie viļņa garuma 473 nm, R_2 , G_2 un B_2 – pie 532 nm un R_3 , G_3 un B_3 – pie 659 nm viļņa garuma.



2.4. att. Kameras matricas relatīvās jutības liknes ar atzīmētiem trīs izvēlētiem viļņa garumiem (473, 532, 659 nm) un spektrālajām jutības vērtībām katrā kanālā pie katra viļņa garuma – $S(B_1)$, $S(G_1)$, $S(R_1)$, $S(B_2)$, $S(G_2)$, $S(R_2)$, $S(B_3)$, $S(G_3)$, $S(R_3)$ [pielāgots no 38]

Izmantojot noteiktās spektrālās jūtības līkņu vērtības, pie katra no viļņu garumiem, kameras uztvertās signālu vērtības var izteikt šādi:

$$\begin{aligned}
 R_1 &= \frac{R}{1 + \frac{1}{S_{R12}} + \frac{1}{S_{R13}}}, & R_2 &= \frac{R}{S_{R12} + 1 + \frac{1}{S_{R23}}}, & R_3 &= \frac{R}{S_{R13} + S_{R23} + 1}, \\
 G_1 &= \frac{G}{1 + \frac{1}{S_{G12}} + \frac{1}{S_{G13}}}, & G_2 &= \frac{G}{S_{G12} + 1 + \frac{1}{S_{G23}}}, & G_3 &= \frac{G}{S_{G13} + S_{G23} + 1}, \\
 B_1 &= \frac{B}{1 + \frac{1}{S_{B12}} + \frac{1}{S_{B13}}}, & B_2 &= \frac{B}{S_{B12} + 1 + \frac{1}{S_{B23}}}, & B_3 &= \frac{B}{S_{B13} + S_{B23} + 1}.
 \end{aligned} \tag{2.3}$$

Tālākajos aprēķinos izmantotas attiecīgi koriģētās vērtības $R_1, R_2, R_3, G_1, G_2, G_3, B_1, B_2$ un B_3 .

Eksperimentos sākumā par referenci tika izmantota balta papīra lapa, jo tā atstaro gandrīz visu krītošo gaismu. Attīstot pielietotos algoritmus, par referenci tika piedāvāts izmantot veselas ādas apgabalus attēla zonā. Šādā gadījumā nevar izmantot iepriekš aprakstītos pārklāšanās (*crosstalk*) koeficientus. Tādēļ tika sastādīti algoritmi, kā aprēķināt nepieciešamos korekcijas koeficientus.

2.3. vienādojumos saucēji tika apzīmēti ar konstantēm $A_{R1}, A_{R2}, A_{R3}, A_{G1}, A_{G2}, A_{G3}, A_{B1}, A_{B2}$ un A_{B3} :

$$\begin{aligned}
 R_1 &= \frac{R}{A_{R1}}, & R_2 &= \frac{R}{A_{R2}}, & R_3 &= \frac{R}{A_{R3}}, \\
 G_1 &= \frac{G}{A_{G1}}, & G_2 &= \frac{G}{A_{G2}}, & G_3 &= \frac{G}{A_{G3}}, \\
 B_1 &= \frac{B}{A_{B1}}, & B_2 &= \frac{B}{A_{B2}}, & B_3 &= \frac{B}{A_{B3}}.
 \end{aligned} \tag{2.4.}$$

Veselas ādas paraugs tika uzņemts četros dažādos veidos – apgaismojot to trihromātiski, kad apgaismojumam izmantoti trīs lāzeri vienlaicīgi, un 3 veidos ādu apgaismojot monohromātiski: atsevišķi ar zilo, zaļo un sarkano lāzeri.

No iegūtajiem attēliem tika izdalīti trīs reģioni un sastādītas trīs vienādojumu sistēmas katram no kanāliem:

$$\begin{cases} R_a = A_{R1} \cdot R_{1a} + A_{R2} \cdot R_{2a} + A_{R3} \cdot R_{3a} \\ R_b = A_{R1} \cdot R_{1b} + A_{R2} \cdot R_{2b} + A_{R3} \cdot R_{3b} \\ R_c = A_{R1} \cdot R_{1c} + A_{R2} \cdot R_{2c} + A_{R3} \cdot R_{3c} \end{cases} \quad (2.5.)$$

$$\begin{cases} G_a = A_{G1} \cdot G_{1a} + A_{G2} \cdot G_{2a} + A_{G3} \cdot G_{3a} \\ G_b = A_{G1} \cdot G_{1b} + A_{G2} \cdot G_{2b} + A_{G3} \cdot G_{3b} \\ G_c = A_{G1} \cdot G_{1c} + A_{G2} \cdot G_{2c} + A_{G3} \cdot G_{3c} \end{cases} \quad (2.6.)$$

$$\begin{cases} B_a = A_{B1} \cdot B_{1a} + A_{B2} \cdot B_{2a} + A_{B3} \cdot B_{3a} \\ B_b = A_{B1} \cdot B_{1b} + A_{B2} \cdot B_{2b} + A_{B3} \cdot B_{3b} \\ B_c = A_{B1} \cdot B_{1c} + A_{B2} \cdot B_{2c} + A_{B3} \cdot B_{3c} \end{cases} \quad (2.7.)$$

Ar indeksiem a , b un c tiek apzīmētas iegūtās vērtības katrā no trīs izdalītajiem ādas reģioniem.

No vienādojumu sistēmām tika izteikti nezināmie korekcijas koeficienti katram no kanāliem (R, G un B):

$$\begin{aligned} A_{R1} &= \frac{R_{2a} \cdot R_{3b} \cdot R_{4c} - R_{2a} \cdot R_{4b} \cdot R_{3c} - R_{3a} \cdot R_{2b} \cdot R_{4c} + R_{3a} \cdot R_{4b} \cdot R_{2c} + R_{4a} \cdot R_{2b} \cdot R_{3c} - R_{4a} \cdot R_{3b} \cdot R_{2c}}{R_{1a} \cdot R_{2b} \cdot R_{3c} - R_{1a} \cdot R_{3b} \cdot R_{2c} - R_{2a} \cdot R_{1b} \cdot R_{3c} + R_{2a} \cdot R_{3b} \cdot R_{1c} + R_{3a} \cdot R_{1b} \cdot R_{2c} - R_{3a} \cdot R_{2b} \cdot R_{1c}} \\ A_{R2} &= -\frac{R_{1a} \cdot R_{3b} \cdot R_{4c} - R_{1a} \cdot R_{4b} \cdot R_{3c} - R_{3a} \cdot R_{1b} \cdot R_{4c} + R_{3a} \cdot R_{4b} \cdot R_{1c} + R_{4a} \cdot R_{1b} \cdot R_{3c} - R_{4a} \cdot R_{3b} \cdot R_{1c}}{R_{1a} \cdot R_{2b} \cdot R_{3c} - R_{1a} \cdot R_{3b} \cdot R_{2c} - R_{2a} \cdot R_{1b} \cdot R_{3c} + R_{2a} \cdot R_{3b} \cdot R_{1c} + R_{3a} \cdot R_{1b} \cdot R_{2c} - R_{3a} \cdot R_{2b} \cdot R_{1c}} \end{aligned} \quad (2.8.)$$

$$A_{R3} = \frac{R_{1a} \cdot R_{2b} \cdot R_{4c} - R_{1a} \cdot R_{4b} \cdot R_{2c} - R_{2a} \cdot R_{1b} \cdot R_{4c} + R_{2a} \cdot R_{4b} \cdot R_{1c} + R_{4a} \cdot R_{1b} \cdot R_{2c} - R_{4a} \cdot R_{2b} \cdot R_{1c}}{R_{1a} \cdot R_{2b} \cdot R_{3c} - R_{1a} \cdot R_{3b} \cdot R_{2c} - R_{2a} \cdot R_{1b} \cdot R_{3c} + R_{2a} \cdot R_{3b} \cdot R_{1c} + R_{3a} \cdot R_{1b} \cdot R_{2c} - R_{3a} \cdot R_{2b} \cdot R_{1c}}$$

$$A_{G1} = \frac{G_{2a} \cdot G_{3b} \cdot G_{4c} - G_{2a} \cdot G_{4b} \cdot G_{3c} - G_{3a} \cdot G_{2b} \cdot G_{4c} + G_{3a} \cdot G_{4b} \cdot G_{2c} + G_{4a} \cdot G_{2b} \cdot G_{3c} - G_{4a} \cdot G_{3b} \cdot G_{2c}}{G_{1a} \cdot G_{2b} \cdot G_{3c} - G_{1a} \cdot G_{3b} \cdot G_{2c} - G_{2a} \cdot G_{1b} \cdot G_{3c} + G_{2a} \cdot G_{3b} \cdot G_{1c} + G_{3a} \cdot G_{1b} \cdot G_{2c} - G_{3a} \cdot G_{2b} \cdot G_{1c}}$$

$$A_{G2} = -\frac{G_{1a} \cdot G_{3b} \cdot G_{4c} - G_{1a} \cdot G_{4b} \cdot G_{3c} - G_{3a} \cdot G_{1b} \cdot G_{4c} + G_{3a} \cdot G_{4b} \cdot G_{1c} + G_{4a} \cdot G_{1b} \cdot G_{3c} - G_{4a} \cdot G_{3b} \cdot G_{1c}}{G_{1a} \cdot G_{2b} \cdot G_{3c} - G_{1a} \cdot G_{3b} \cdot G_{2c} - G_{2a} \cdot G_{1b} \cdot G_{3c} + G_{2a} \cdot G_{3b} \cdot G_{1c} + G_{3a} \cdot G_{1b} \cdot G_{2c} - G_{3a} \cdot G_{2b} \cdot G_{1c}} \quad (2.9.)$$

$$A_{G3} = \frac{G_{1a} \cdot G_{2b} \cdot G_{4c} - G_{1a} \cdot G_{4b} \cdot G_{2c} - G_{2a} \cdot G_{1b} \cdot G_{4c} + G_{2a} \cdot G_{4b} \cdot G_{1c} + G_{4a} \cdot G_{1b} \cdot G_{2c} - G_{4a} \cdot G_{2b} \cdot G_{1c}}{G_{1a} \cdot G_{2b} \cdot G_{3c} - G_{1a} \cdot G_{3b} \cdot G_{2c} - G_{2a} \cdot G_{1b} \cdot G_{3c} + G_{2a} \cdot G_{3b} \cdot G_{1c} + G_{3a} \cdot G_{1b} \cdot G_{2c} - G_{3a} \cdot G_{2b} \cdot G_{1c}}$$

$$A_{B1} = \frac{B_{2a} \cdot B_{3b} \cdot B_{4c} - B_{2a} \cdot B_{4b} \cdot B_{3c} - B_{3a} \cdot B_{2b} \cdot B_{4c} + B_{3a} \cdot B_{4b} \cdot B_{2c} + B_{4a} \cdot B_{2b} \cdot B_{3c} - B_{4a} \cdot B_{3b} \cdot B_{2c}}{B_{1a} \cdot B_{2b} \cdot B_{3c} - B_{1a} \cdot B_{3b} \cdot B_{2c} - B_{2a} \cdot B_{1b} \cdot B_{3c} + B_{2a} \cdot B_{3b} \cdot B_{1c} + B_{3a} \cdot B_{1b} \cdot B_{2c} - B_{3a} \cdot B_{2b} \cdot B_{1c}}$$

$$A_{B2} = -\frac{B_{1a} \cdot B_{3b} \cdot B_{4c} - B_{1a} \cdot B_{4b} \cdot B_{3c} - B_{3a} \cdot B_{1b} \cdot B_{4c} + B_{3a} \cdot B_{4b} \cdot B_{1c} + B_{4a} \cdot B_{1b} \cdot B_{3c} - B_{4a} \cdot B_{3b} \cdot B_{1c}}{B_{1a} \cdot B_{2b} \cdot B_{3c} - B_{1a} \cdot B_{3b} \cdot B_{2c} - B_{2a} \cdot B_{1b} \cdot B_{3c} + B_{2a} \cdot B_{3b} \cdot B_{1c} + B_{3a} \cdot B_{1b} \cdot B_{2c} - B_{3a} \cdot B_{2b} \cdot B_{1c}} \quad (2.10)$$

$$A_{B3} = \frac{B_{1a} \cdot B_{2b} \cdot B_{4c} - B_{1a} \cdot B_{4b} \cdot B_{2c} - B_{2a} \cdot B_{1b} \cdot B_{4c} + B_{2a} \cdot B_{4b} \cdot B_{1c} + B_{4a} \cdot B_{1b} \cdot B_{2c} - B_{4a} \cdot B_{2b} \cdot B_{1c}}{B_{1a} \cdot B_{2b} \cdot B_{3c} - B_{1a} \cdot B_{3b} \cdot B_{2c} - B_{2a} \cdot B_{1b} \cdot B_{3c} + B_{2a} \cdot B_{3b} \cdot B_{1c} + B_{3a} \cdot B_{1b} \cdot B_{2c} - B_{3a} \cdot B_{2b} \cdot B_{1c}}$$

Šie koeficienti tiek pielāgoti konkrētiem ādas paraugiem.

Aprēķinos izmantotās programmas kodu skatīt 1. pielikumā.

2.3. Hromoforu karšu aprēķināšana

Lai noteiktu melanīna, oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna koncentrāciju ādā, tika izmantots pielāgots Bēra – Lamberta likums:

$$\begin{cases} I_1 = I_{ref1} \cdot \exp[-(\mu_{aOH1} + \mu_{aDOH1} + \mu_{aMEL1}) \cdot l_1] \\ I_2 = I_{ref2} \cdot \exp[-(\mu_{aOH2} + \mu_{aDOH2} + \mu_{aMEL2}) \cdot l_2], \\ I_3 = I_{ref3} \cdot \exp[-(\mu_{aOH3} + \mu_{aDOH3} + \mu_{aMEL3}) \cdot l_3] \end{cases} \quad (2.11.)$$

kur I_1 ir no ādas atstarotā gaismas intensitāte pie λ_1 , I_{ref1} ir no balta papīra vai veselas ādas atstarotās gaismas intensitāte, l_1 ir vidējais gaismas iespiešanās dziļums pie λ_1 , μ_{aOH1} , μ_{aDOH1} un μ_{aMEL1} ir absorbcijas koeficienti pie λ_1 . Līdzīgi ar λ_2 un λ_3 , kur $\lambda_1 = 473nm$, $\lambda_2 = 532nm$ un $\lambda_3 = 659nm$. Indeksi *OH*, *DOH* un *MEL* apzīmē meklētās hromoforas: *OH* – oksihemoglobīns, *DOH* – deoksihemoglobīns un *MEL* – melanīns.

Absorbcijas koeficienti (μ_{aOH1} , μ_{aDOH1} un μ_{aMEL1}) pie λ_1 var tikt izteikti kā:

$$\begin{cases} \mu_{aOH1} = c_{OH} \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_1) \\ \mu_{aDOH1} = c_{DOH} \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_1), \\ \mu_{aMEL1} = c_{MEL} \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_1) \end{cases} \quad (2.12.)$$

kur c_{OH} , c_{DOH} un c_{MEL} ir attiecīgo hromoforu koncentrācijas, ε_{OH} , ε_{DOH} un ε_{MEL} ir ekstinkcijas koeficienti.

Veicam pārveidojumus un iegūstam šādu vienādojumu sistēmu:

$$\begin{cases} c_{OH} \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_1) + c_{DOH} \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_1) + c_{MEL} \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_1) = -\frac{\ln\left(\frac{I_1}{I_{ref1}}\right)}{l_1} \\ c_{OH} \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_2) + c_{DOH} \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) + c_{MEL} \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_2) = -\frac{\ln\left(\frac{I_2}{I_{ref2}}\right)}{l_2} \\ c_{OH} \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_3) + c_{DOH} \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) + c_{MEL} \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_3) = -\frac{\ln\left(\frac{I_3}{I_{ref3}}\right)}{l_3} \end{cases} \quad (2.13.)$$

Tika apskatīti dažādi tuvinājumi optiskā ceļa garumam. Pirmajā tuvinājumā pieņemam, ka optiskā ceļa pilnais garums ir $4l_i$, kur l_i – vidējais iespīšanās dziļums pie i -tā viļņu garuma. Pie 473nm absorbē epidermas melanīns (optiskā ceļa $4 l_{473}$) un dermas hemoglobīns - optiskais ceļš divreiz mazāks – $2l_{473}$. Pie 532nm un 659nm melanīna absorbcijas ceļš epidermā ir $4 l_{473}$, hemoglobīnu absorbcijas ceļi dermā attiecīgi ir $4 (l_{532} - l_{473})$ un $4 (l_{659} - l_{473})$. (Darba turpinājumā tiks apskatīta metode, kā precīzāk noteikt vidējo gaismas optiskā ceļa garumu ādā.) Iegūstam vienādojumu sistēmu:

$$\begin{cases} \ln\left(\frac{I_1}{I_{ref1}}\right) = -2 \cdot l_1 (c_{OH} \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_1) + c_{DOH} \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_1) + 2c_{MEL} \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_1)) \\ \ln\left(\frac{I_2}{I_{ref2}}\right) = -4 \cdot (l_2 - l_1) (c_{OH} \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_2) + c_{DOH} \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_2)) - 4 \cdot l_1 \cdot c_{MEL} \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_2) \\ \ln\left(\frac{I_3}{I_{ref3}}\right) = -4 \cdot (l_3 - l_1) (c_{OH} \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_3) + c_{DOH} \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3)) - 4 \cdot l_1 \cdot c_{MEL} \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_3) \end{cases} \quad (2.14.)$$

Attiecības $\frac{I_1}{I_{ref1}}$, $\frac{I_2}{I_{ref2}}$ un $\frac{I_3}{I_{ref3}}$ apzīmē spektrālās vājināšanas koeficientus – no objekta

virsmas atstarotās intensitātes un no veselas ādas atstarotās intensitātes attiecība:

$$k_1 = \frac{I_1}{I_{ref1}}, k_2 = \frac{I_2}{I_{ref2}}, k_3 = \frac{I_3}{I_{ref3}} \quad (2.15.)$$

Iegūtās hromoforu koncentrāciju aprēķināšanas izteiksmes skatīt 2. pielikumā.

Visas nepieciešamās konstantes katrai hromoforai pie katra izmantotā lāzera un vidējie gaismas iespīšanās dziļumi ir apkopoti 2.1. tabulā.

2.1. tabula

Vidējais iespīšanās dziļums ādā un trīs hromoforu ekstinkcijas koeficienti pie katra izmantotā viļņa garuma

Viļņa garums, nm	Vidējais iespīšanās dziļums ādā, μm	Oksihemoglobīna ekstinkcijas koeficients, cm^{-1}/M	Deoksihemoglobīna ekstinkcijas koeficients, cm^{-1}/M	Melanīna ekstinkcijas koeficients, cm^{-1}/M
473	190	30867	15179	1708
532	328	43876	40584	1124
659	655	323	3273	543

Ievietojam zināmos lielumus vienādojumos un iegūstam izteiksmes, ar kurām var izrēķināt oksihemoglobīna (*OH*), deoksihemoglobīna (*DOH*) un melanīna (*MEL*) ādas kartes – hromoforas relatīvo koncentrāciju katrā attēla pikselī:

$$\begin{aligned}
c_{OH} &= 0,145 \cdot \ln\left(\frac{I_3}{I_{ref3}}\right) - 0,033 \cdot \ln\left(\frac{I_2}{I_{ref2}}\right) - 0,024 \cdot \ln\left(\frac{I_1}{I_{ref1}}\right) \\
c_{DOH} &= -0,128 \cdot \ln\left(\frac{I_3}{I_{ref3}}\right) - 0,024 \cdot \ln\left(\frac{I_2}{I_{ref2}}\right) + 0,057 \cdot \ln\left(\frac{I_1}{I_{ref1}}\right) \\
c_{MEL} &= -0,738 \cdot \ln\left(\frac{I_3}{I_{ref3}}\right) + 0,408 \cdot \ln\left(\frac{I_2}{I_{ref2}}\right) - 0,806 \cdot \ln\left(\frac{I_1}{I_{ref1}}\right)
\end{aligned} \tag{2.16.}$$

Aprēķinos izmantotās programmas kodu skatīt 3. pielikuma.

2.4. Gaismas optiskā ceļa garums ādā

Lai novērtētu optiskā ceļa garumu ādā, tika nedaudz pārveidots Bēra – Lamberta likums:

$$\left\{ \begin{aligned}
\ln\left(\frac{I_1}{I_{ref1}}\right) &= -x \cdot l_1 \left(\frac{1}{2} c_{OH} \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_1) + \frac{1}{2} c_{DOH} \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_1) + c_{MEL} \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_1) \right) \\
\ln\left(\frac{I_2}{I_{ref2}}\right) &= -y \cdot [(l_2 - l_1)(c_{OH} \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_2) + c_{DOH} \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_2)) - l_1 \cdot c_{MEL} \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_2)], \\
\ln\left(\frac{I_3}{I_{ref3}}\right) &= -z \cdot [(l_3 - l_1)(c_{OH} \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_3) + c_{DOH} \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3)) - l_1 \cdot c_{MEL} \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_3)]
\end{aligned} \right. \tag{2.17.}$$

kur x , y un z ir konstantes, ar ko jāpareizina vidējais iespiešanās dziļums ādā, lai koriģētu vidējo gaismas optiskā ceļa garumu pie katra no viļņu garumiem. Iepriekš aprakstītajā algoritmā $x = y = z = 4$.

3. REZULTĀTI UN ANALĪZE

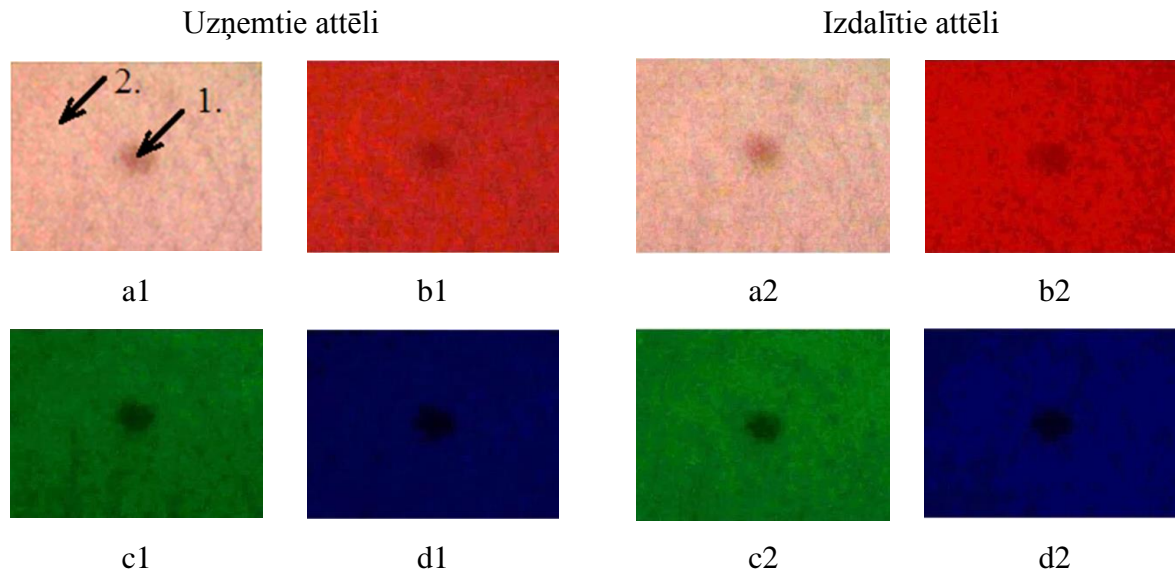
3.1. RGB pārklāšanās (*crosstalk*) korekcija, izmantojot eksperimentāli noteiktus koeficientus

3.1.1. Eksperimenti ar baltu lapu kā referenci

Pārklāšanās (*crosstalk*) korekcijas koeficienti, kas noteikti no izmantotās CMOS kameras relatīvās jūtības līknes:

$$\begin{aligned} S_{R12} &= 0,263, S_{R13} = 0,022, S_{R23} = 0,083, \\ S_{G12} &= 0,195, S_{G13} = 0,988, S_{G23} = 5,056, \\ S_{B12} &= 3,670, S_{B13} = 7,331, S_{B23} = 1,998. \end{aligned} \quad (3.1)$$

Tika uzņemti četri attēli – viens trihromātiskā apgaismojumā un trīs monohromātiskā apgaismojumā. 3.1. attēlā parādīts salīdzinājums tieši uzņemtajiem attēliem un no trihromātiskā apgaismojumā uzņemta attēla izdalītajiem attēliem. Šajā piemērā par referenci tika izmantota balta papīra lapa. Kā redzams, iegūtie un tieši uzņemtie attēli praktiski neatšķiras.



3.1. att. Eksperimentāli uzņemtie attēli un aprēķinos izdalītie attēli – izmantojot 3 lāzerus (a1, a2) un izmantojot katru lāzeri atsevišķi: 659 nm (b1, b2), 532 nm (c1, c2) un 473 nm (d1, d2), ar bultiņām atzīmēti divi apskatāmie apgabali, par referenci ņemta balta papīra lapa

3.1. tabulā ir apkopoti iegūtie rezultāti, ja tiek apskatīta vidējā pikseļu vērtība dzimumzīmē un vidējā vērtība pikseļiem veselā ādā. Aprēķinos izmantota 2.4. formula.

Divu pikseļu vērtību salīdzinājums katrā no attēliem

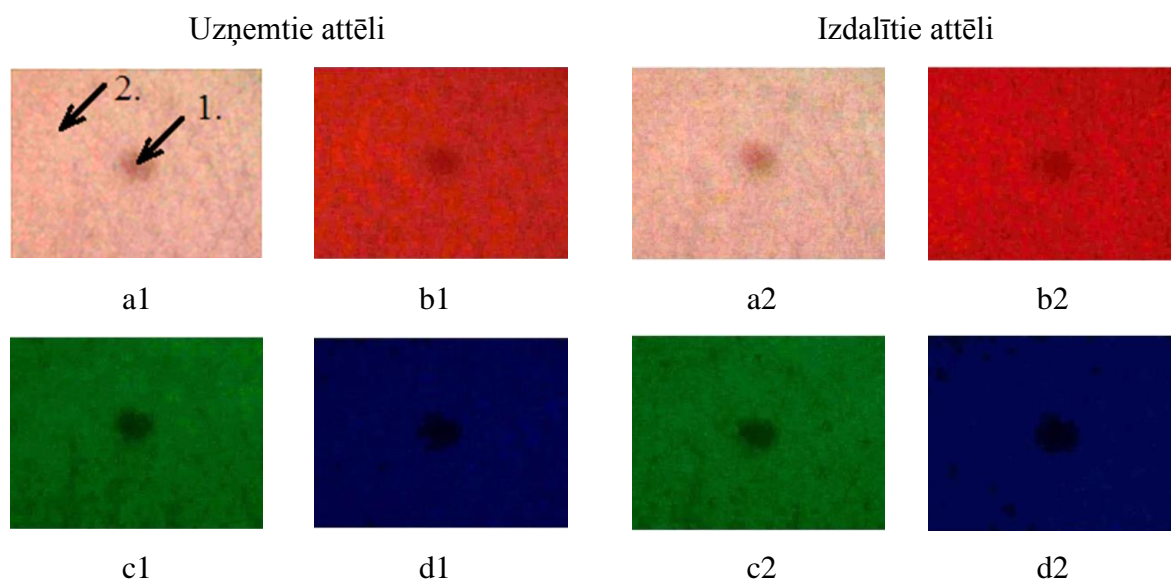
Apgaismojums		Pikselim dzimumzīmē (1.)		Pikselim veselā ādā (2.)		Standartnovirze
		Eksperimentā uzņemtie attēli	No aprēķiniem noteiktās vērtības	Eksperimentā uzņemtie attēli	No aprēķiniem noteiktās vērtības	
3 lāzeri	R	26,0	24,0	33,0	33,0	2,5
	G	16,0	15,0	23,0	23,0	1,8
	B	11,0	11,0	18,0	19,0	1,3
659 nm	R	23,0	23,8	31,0	29,8	2,4
	G	4,0	2,5	6,0	3,2	3,2
	B	3,0	1,4	5,0	1,7	2,9
532 nm	R	1,0	1,8	2,0	2,6	1,4
	G	10,0	11,7	15,0	15,7	2,8
	B	2,0	2,5	3,0	3,6	1,1
473 nm	R	0,0	0,4	0,0	0,6	0,7
	G	1,0	1,7	2,0	3,1	1,2
	B	6,0	7,1	11,0	12,6	2,1

Standartnovirze tika rēķināta visiem attēla pikseļiem, ņemot vērā eksperimentāli uzņemto attēlu pikseļu vērtības un salīdzinot tās ar vērtībām, kas iegūtas, izmantojot iepriekš aprakstītos algoritmus.

3.1.2. Eksperimenti ar veselu ādu kā referenci

3.2. attēlā parādīts viens piemērs gadījumam, ja par referenci tiek izmantota vesela āda. 3.2. tabulā redzamas vidējās pikseļu vērtības dzimumzīmē un blakus esošajā veselajā ādā. Arī šie attēli vizuāli izskatās tādi paši. Šajā eksperimentā izmantotās RGB korekcijas konstantes:

$$\begin{aligned}
 A_{R1} &= -0,706, A_{R2} = 0,385, A_{R3} = 1,063 \\
 A_{G1} &= -0,764, A_{G2} = 0,900, A_{G3} = 2,374 \\
 A_{B1} &= -0,166, A_{B2} = -0,092, A_{B3} = 6,840
 \end{aligned}
 \tag{3.2.}$$



3.2. att. Eksperimentāli uzņemtie attēli un aprēķinos izdalītie attēli – izmantojot 3 lāzerus (a1, a2) un izmantojot katru lāzeri atsevišķi: 659 nm (b1, b2), 532 nm (c1, c2) un 473 nm (d1, d2), ar bultiņām atzīmēti divi apskatāmie apgabali, par referenci ņemta vesela āda

3.2. tabula

Divu pikseļu vērtību salīdzinājums katrā no attēliem

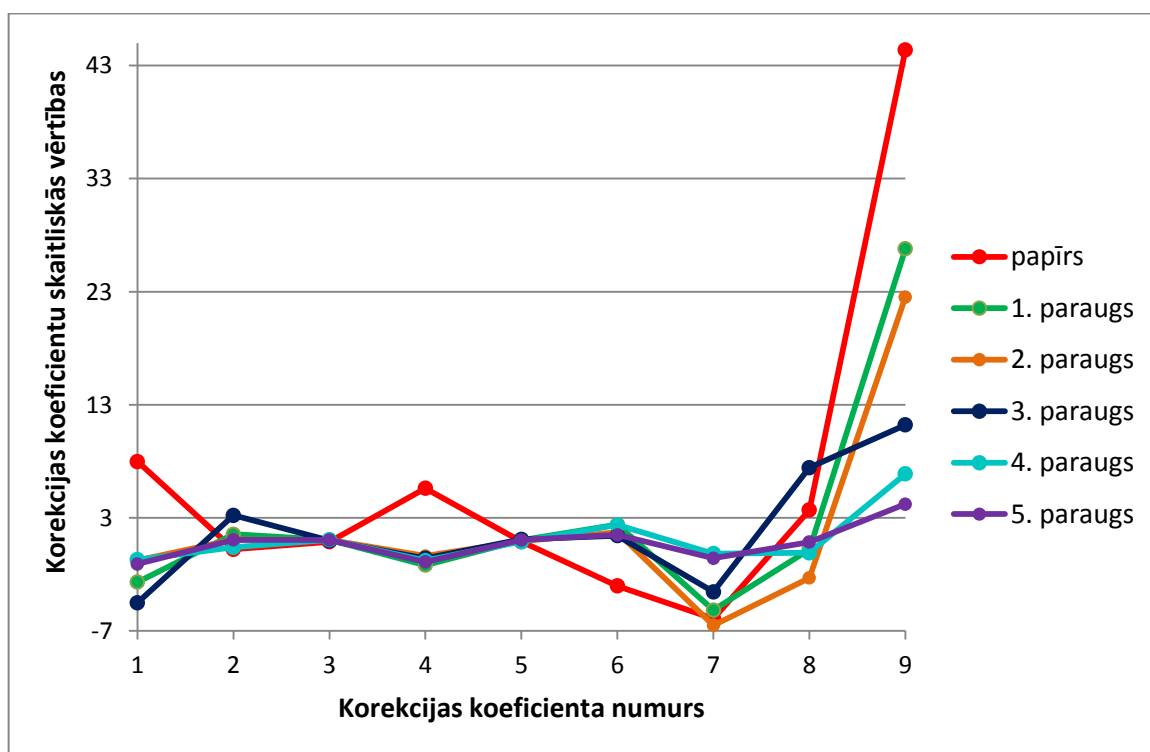
Apgaismojums		Pikselim dzimumzīmē (1.)		Pikselim veselā ādā (2.)		Standartnovirze
		Eksperimentā uzņemtie attēli	No aprēķiniem noteiktās vērtības	Eksperimentā uzņemtie attēli	No aprēķiniem noteiktās vērtības	
3 lāzeri	R	26,0	24,0	33,0	33,0	2,5
	G	16,0	15,0	23,0	23,0	1,8
	B	11,0	11,0	18,0	19,0	1,3
659 nm	R	23,0	24,2	31,0	30,2	2,2
	G	4,0	3,5	6,0	4,4	2,0
	B	3,0	2,6	5,0	3,2	1,5
532 nm	R	1,0	1,4	2,0	2,0	0,9
	G	10,0	10,6	15,0	15,0	1,6
	B	2,0	2,4	3,0	3,4	0,9
473 nm	R	0,0	0,4	0,0	0,7	0,8
	G	1,0	1,9	2,0	3,6	1,6
	B	6,0	6,0	11,0	11,3	1,1

Šajā gadījumā standartnovirzes tika rēķinātas tāpat, kā iepriekšējā gadījumā.

Pēc iegūtajiem rezultātiem redzams, ka gan eksperimentāli iegūtajiem attēliem, gan aprēķinos izdalītajiem attēliem to pikseļu vērtību atšķirība ir neliela. Tātad izmantotais

algoritms RGB pārklāšanās (*crosstalk*) koeficientu aprēķināšanai ir piemērots un izmantojams turpmākajiem pētījumiem.

Tika veikti eksperimenti ar dažādiem ādas paraugiem. 3.3. attēlā ir parādīti daži no iegūtajiem rezultātiem. Uz x ass atzīmētas visas korekcijas konstantes, bet uz y ass to vērtības. Sarkanā krāsā atzīmētas iegūtās vērtības, par referenci izmantojot baltu papīra lapu. Lai gan katram ādas paraugam tika iegūtas atšķirīgas korekcijas vērtības, tām ir novērojamas kopīgas tendences. Piemēram koeficienta A_{R3} vērtība visos eksperimentos ir aptuveni 1. Korekcijas koeficientu vērtību pieaugums zilajā kanālā varētu būt skaidrojams ar to, ka CMOS sensora jutības līkne pie dažādiem viļņa garumiem ir atšķirīga.



3.3. att. Dažu ādas paraugu korekcijas koeficientu vērtības, korekcijas koeficientu numuru atšifrējums: 1= A_{R1} , 2= A_{R2} , 3= A_{R3} , 4= A_{G1} , 5= A_{G2} , 6= A_{G3} , 7= A_{B1} , 8= A_{B2} , 9= A_{B3}

3.2. Optiskā ceļa garumu novērtējumi

Šajos eksperimentos tika izmantota iepriekš aprakstītā pārveidotā Bēra – Lamberta likuma formula (2.17.).

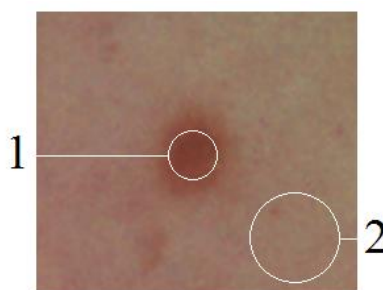
Tika apskatīti 513 varianti x , y un z kombinācijām (4. pielikums): visi iespējamie gadījumi, kad x , y un z vērtības ir no 2 līdz 7, un visi gadījumi, kad tās ir no 5 līdz 15, ja x , y un z lielumu atšķirība nav lielāka par 3.

Rezultāti tika izvērtēti, balstoties uz pieņēmumu, ka pigmentētā patoloģijā ir paaugstināts melanīna daudzums, bet oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna koncentrācija

ir aptuveni tāda pati kā veselā ādā. Tika ņemts vērā arī tas, ka vaskulārā pataloģijā ir paaugstināta hemoglobīna koncentrācija un praktiski nemainīga melanīna koncentrācija, salīdzinot ar veselu ādu. Tika analizētas 39 pigmentētas pataloģijas un 15 vaskulāras pataloģijas.

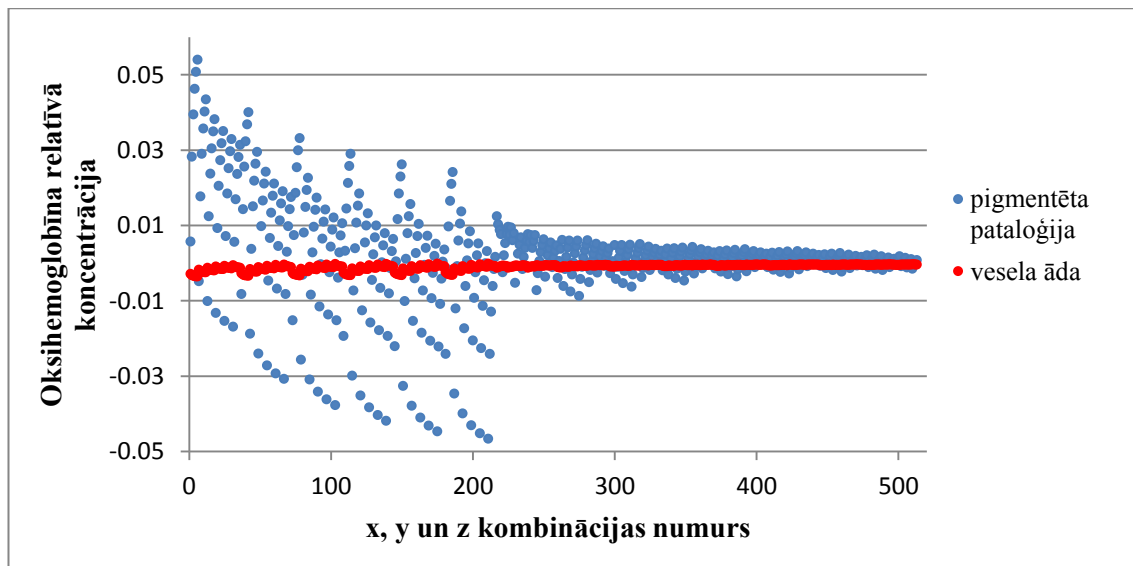
3.2.1. Pigmentēto pataloģiju uzņēmumu analīze

Pigmentētu pataloģiju gadījumā tika izvērtēts hemoglobīna līmenis salīdzinājumā ar blakus esošo veselo ādu. Turpinājumā sniegts vienas pigmentētas pataloģijas (3.4. att.) analizēšanas paraugs.



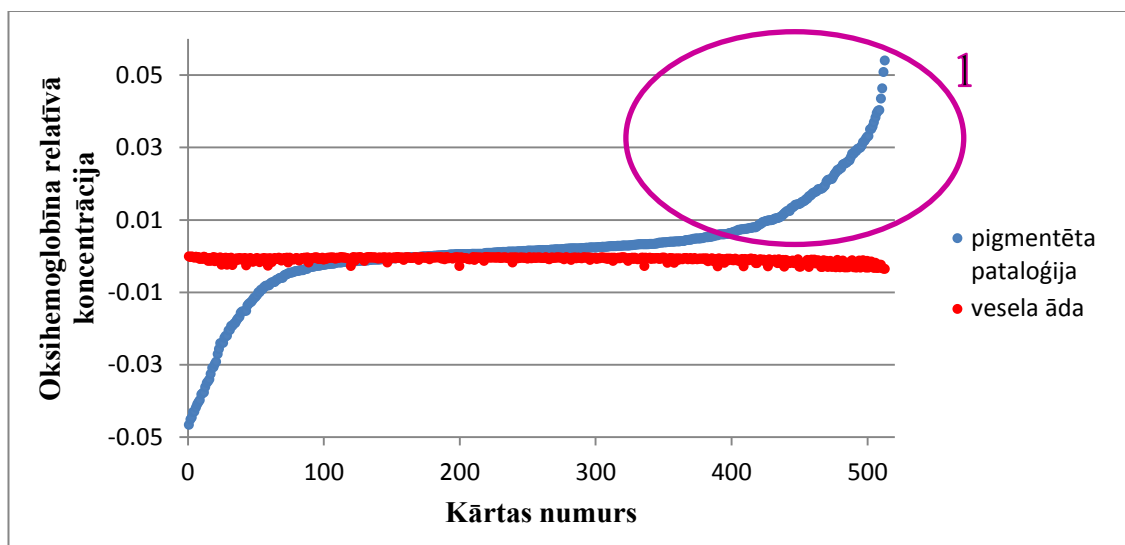
3.4.att. Ādas paraugs ar pigmentētu pataloģiju. 1 – pigmentēta pataloģija, 2 – veselas ādas apgabals

Izmantojot hromoforu koncentrācijas aprēķināšanas vienādojumus, tika atsevišķi novērtētas relatīvās oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna koncentrācijas pigmentētajā pataloģijā un veselā ādā. Ja koncentrācijas pataloģijā bija augstākas nekā veselajā ādā, tad attiecīgās x , y un z kombinācijas netika ņemtas vērā turpmākajā analīzē. 3.5. attēlā parādīta oksihemoglobīna koncentrācija pigmentētajā pataloģijā un veselajā ādā atkarībā no izvēlētās x , y un z kombinācijas.



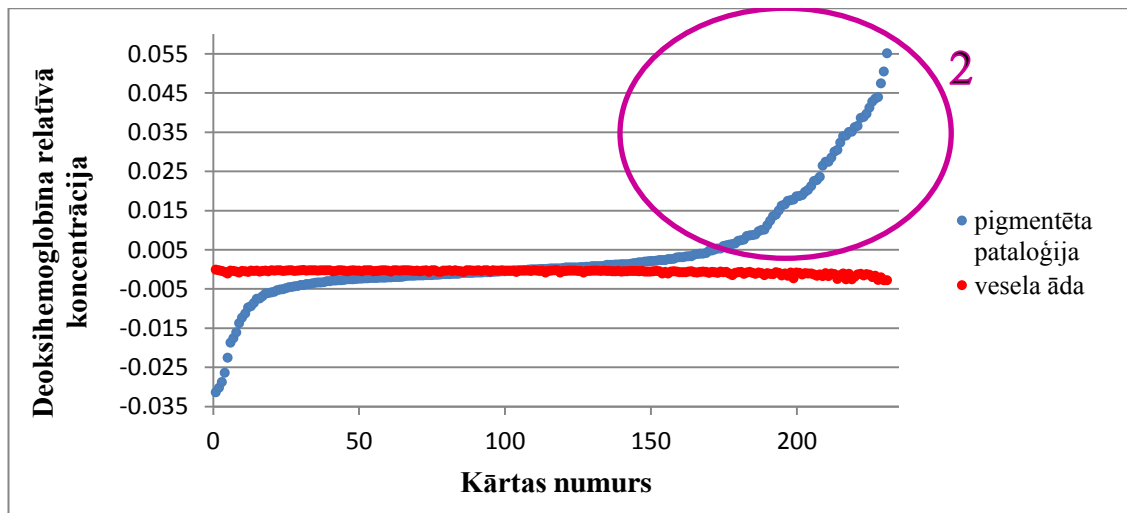
3.5. att. Oksihemoglobīna relatīvā koncentrācija pigmentētā pataloģijā un veselā ādā atkarībā no trīs izvēlēto konstanšu x , y un z kombinācijas, kas nosaka gaismas optiskā ceļa garumu ādā

Lai vieglāk novērtētu x , y un z kombinācijas, tās tika sakārtotas augošā secībā pēc oksihemoglobīna koncentrācijas pigmentētajā pataloģijā (3.6. att.).



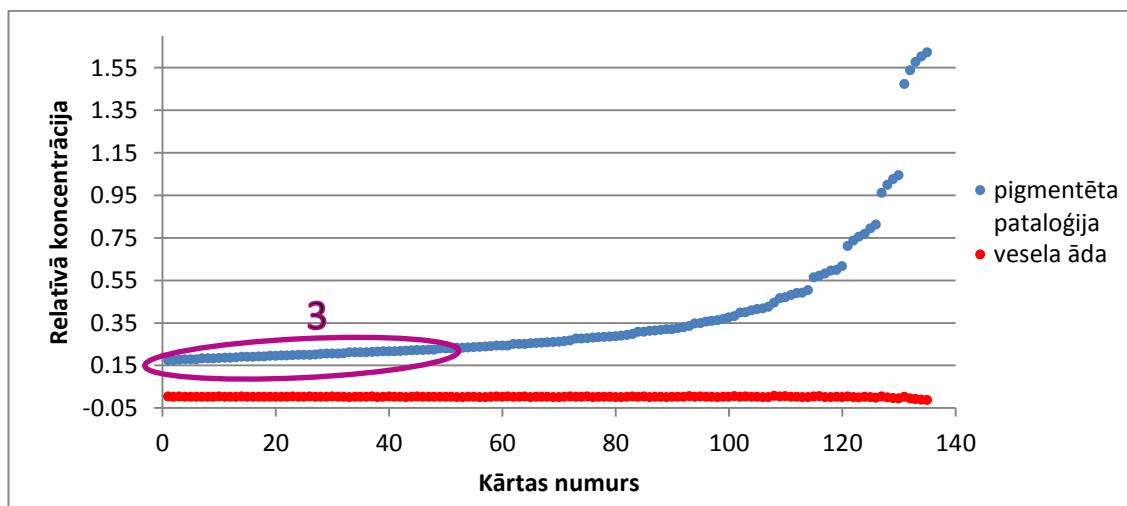
3.6. att. Oksihemoglobīna relatīvā koncentrācija pigmentētā pataloģijā un veselā ādā atkarībā no trīs izvēlēto konstanšu x , y un z kombinācijas, kas sakārtotas pēc pigmentētās pataloģijas oksihemoglobīna koncentrācijas augošā secībā; ar 1 apzīmētas tās vērtības, kas turpmāk netiek ņemtas vērā

Tad tiek aplūkota deoksihemoglobīna koncentrācija veselā ādā un pigmentētajā pataloģijā. Līdzīgi kā iepriekš vērtības tiek sakārtotas augošā secībā atkarībā no deoksihemoglobīna koncentrācijas pataloģijā (3.7. att.).



3.7. att. Deoksihemoglobīna relatīvā koncentrācija pigmentētā pataloģijā un veselā ādā atkarībā no trīs izvēlēto konstanšu x , y un z kombinācijas, kas sakārtotas pēc pigmentētās pataloģijas deoksihemoglobīna koncentrācijas augošā secībā; ar 2 apzīmētas tās vērtības, kas turpmāk netiek ņemtas vērā

Šādā veidā tika izvēlētas 135 x , y un z kombinācijas, kuras visprecīzāk apraksta hemoglobīna koncentrāciju pigmentētā pataloģijā. Tās tika izmantotas, lai attēlotu melanīna relatīvo koncentrāciju paraugā (3.8. att.).



3.8.att. Melanīna relatīvā koncentrācija pigmentētā pataloģijā un veselā ādā atkarībā no trīs izvēlēto konstanšu x , y un z kombinācijas, kas sakārtotas pēc pigmentētās pataloģijas melanīna koncentrācijas augošā secībā; ar 3 apzīmētas tās vērtības, kas turpmāk netiek ņemtas vērā

Pie visām iepriekš atlasītajām x , y un z kombinācijām var novērot, ka relatīvā melanīna koncentrācija pigmentētajā pataloģijā ir augstāka, kā veselā ādā. Tomēr, ņemot vērā faktu, ka

pigmentētā pataloģijā melanīna koncentrācija ir ievērojami augstāka kā veselā ādā, tika atlasītas tās x , y un z kombinācijas, kurās šī atšķirība bija uzskatāmi redzama.

Līdzīgā veidā tika veikti vēl 38 eksperimenti ar pārējām pigmentētajām pataloģijām. Arī šajos gadījumos tika iegūtas x , y un z kombinācijas, kuras varētu izmantot hromoforu karšu aprēķināšanai. Visas iegūtās kombinācijas tika izvērtētas un salīdzinātas, līdz tika atrastas tās kombinācijas, kuras izmantojot, visu 39 pigmentēto pataloģiju gadījumos tika iegūti ticami rezultāti. Šīs vērtības ir apkopotas 5. pielikumā.

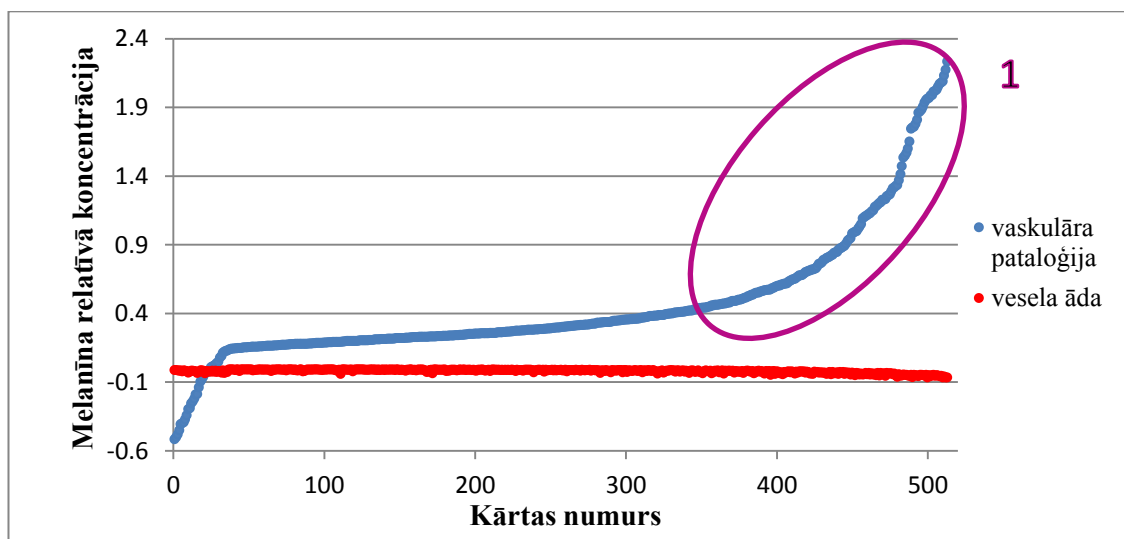
3.2.2. Vaskulāro pataloģiju uzņēmumu analīze

Tika izvērtētas arī 15 vaskulāras pataloģijas. 3.9. attēlā redzama viena no tām.



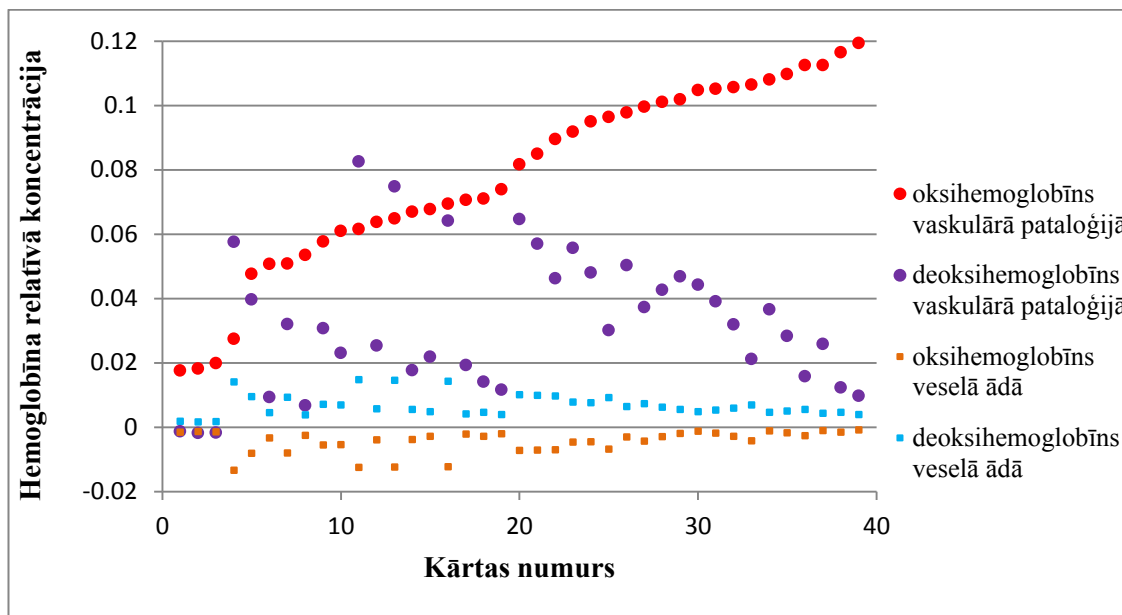
3.9. att. Ādas paraugs ar vaskulāru pataloģiju. 1 – vaskulāra pataloģija, 2 – veselas ādas apgabals

x , y un z kombinācijas tika izvēlētas līdzīgi kā pigmentētu pataloģiju gadījumā, bet kā atlases kritēriju izmantojot melanīna, nevis hemoglobīna relatīvo koncentrāciju (3.10. att.).



3.10. att. Melanīna relatīvā koncentrācija vaskulārā pataloģijā un veselā ādā atkarībā no trīs izvēlēto konstanšu x , y un z kombinācijas, kas sakārtotas pēc vaskulārās pataloģijas melanīna koncentrācijas augošā secībā; ar 1 apzīmētas tās vērtības, kas turpmāk netiek ņemtas

Pārbaudes nolūkos tika apskatīta hemoglobīna koncentrācija vaskulārajā pataloģijā (3.11. att.). Kā redzams, gan oksihemoglobīns, gan deoksihemoglobīns vaskulārajā pataloģijā pārsvarā uzrāda ievērojami lielāku koncentrāciju, nekā veselā ādā.



3.11. att. Oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna relatīvā koncentrācija vaskulārā pataloģijā un veselā ādā atkarībā no trīs izvēlēto konstanšu x , y un z kombinācijas, kas sakārtotas pēc vaskulārās pataloģijas oksihemoglobīna koncentrācijas augošā secībā

Šī eksperimenta rezultātā tika atlasītas 39 x , y un z kombinācijas. Tās ir apkopotas 3.3. tabulā.

3.3. tabula

x , y un z kombinācijas, kas tika atzītas par izmantojamām konkrētās vaskulārās pataloģijas diagnostikā

Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z
1.	4	2	3	11.	5	2	7	21.	6	3	6	31.	7	3	4
2.	4	2	4	12.	6	2	2	22.	6	3	7	32.	7	3	5
3.	4	2	5	13.	6	2	3	23.	7	2	2	33.	7	3	6
4.	4	2	6	14.	6	2	4	24.	7	2	3	34.	7	3	7
5.	4	2	7	15.	6	2	5	25.	7	2	4	35.	7	4	6
6.	5	2	2	16.	6	2	6	26.	7	2	5	36.	7	4	7
7.	5	2	3	17.	6	2	7	27.	7	2	6	37.	14	11	14
8.	5	2	4	18.	6	3	3	28.	7	2	7	38.	15	12	14
9.	5	2	5	19.	6	3	4	29.	7	3	2	39.	15	12	15
10.	5	2	6	20.	6	3	5	30.	7	3	3				

Pēc šādas analīzes principa tika izvērtētas vēl 14 vaskulāras pataloģijas. Analīžu rezultātā tika iegūtas x , y un z kombinācijas, kuras varētu izmantot hromoforu karšu aprēķināšanai vaskulāru pataloģiju gadījumā. Tās visas tika izvērtētas un salīdzinātas, līdz tika atrastas tās kombinācijas, kuras izmantojot, visu 15 vaskulāro pataloģiju gadījumos tika iegūti ticami rezultāti. Šīs vērtības ir apkopotas 6. pielikumā.

3.2.3. Pigmentēto un vaskulāro pataloģiju rezultātu apkopojums

Tika apkopotas iegūtās x , y un z kombinācijas gan pigmentētu, gan vaskulāru pataloģiju gadījumā. Tika atlasītas visas tās kombinācijas, kuras bija atzītas par izmantojamām abu pataloģiju diagnostikā. Iegūtās vērtības redzamas 3.4. tabulā.

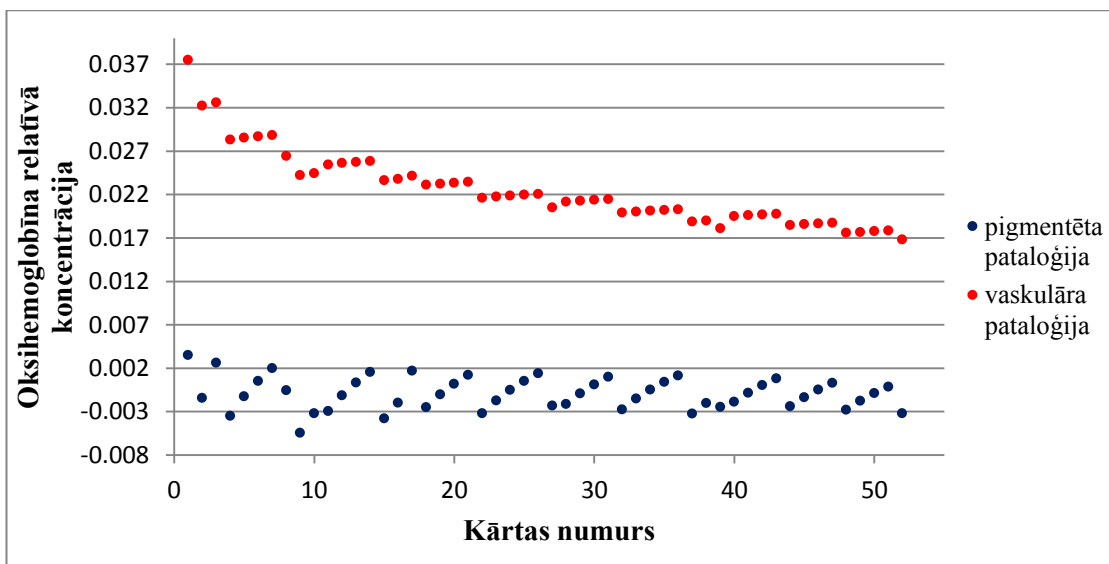
3.4. tabula

x , y un z kombinācijas, kas tika atzītas par izmantojamām pigmentētu un vaskulāru pataloģiju diagnostikā

Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z
1.	9	6	9	14.	12	9	12	27.	13	12	11	40.	15	12	12
2.	10	7	8	15.	12	10	9	28.	14	11	11	41.	15	12	13
3.	10	7	10	16.	12	10	10	29.	14	11	12	42.	15	12	14
4.	11	8	8	17.	12	10	13	30.	14	11	13	43.	15	12	15
5.	11	8	9	18.	13	10	10	31.	14	11	14	44.	15	13	12
6.	11	8	10	19.	13	10	11	32.	14	12	11	45.	15	13	13
7.	11	8	11	20.	13	10	12	33.	14	12	12	46.	15	13	14
8.	11	9	10	21.	13	10	13	34.	14	12	13	47.	15	13	15
9.	11	10	8	22.	13	11	10	35.	14	12	14	48.	15	14	12
10.	11	10	9	23.	13	11	11	36.	14	12	15	49.	15	14	13
11.	12	9	9	24.	13	11	12	37.	14	13	11	50.	15	14	14
12.	12	9	10	25.	13	11	13	38.	14	13	12	51.	15	14	15
13.	12	9	11	26.	13	11	14	39.	14	14	12	52.	15	15	12

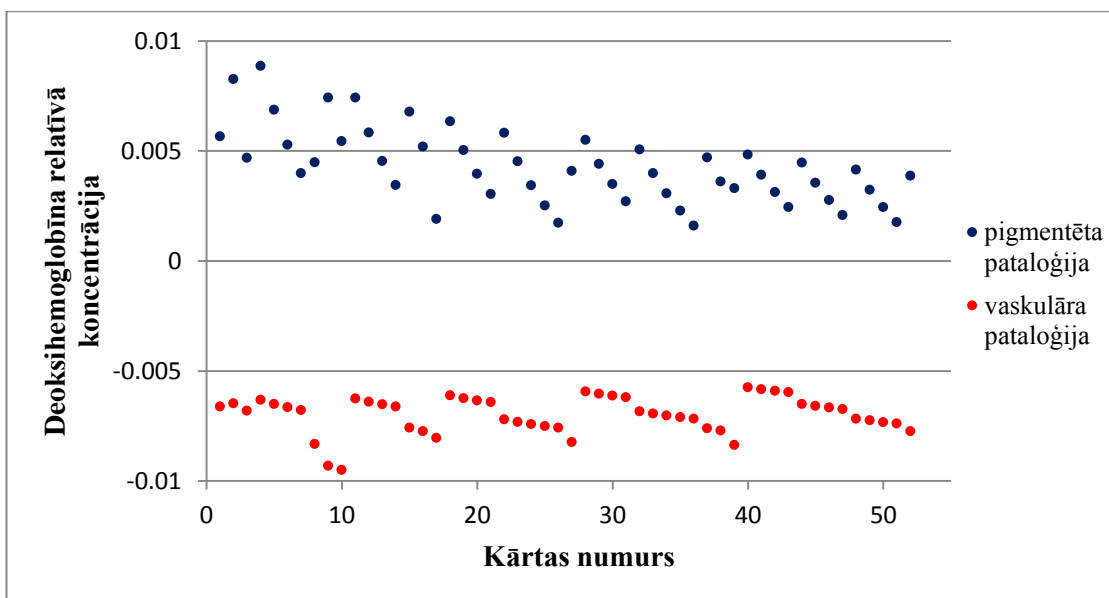
Attēlos no 3.12. līdz 3.14. attēlota vienas tipiskas pigmentētas un vienas vaskulāras pataloģijas hromoforu koncentrācijas atkarībā no izvēlētajās x , y un z kombinācijas.

Kā redzams 3.12. attēlā, oksihemoglobīna koncentrācija ir ievērojami lielāka vaskulārā pataloģijā nekā pigmentētā.



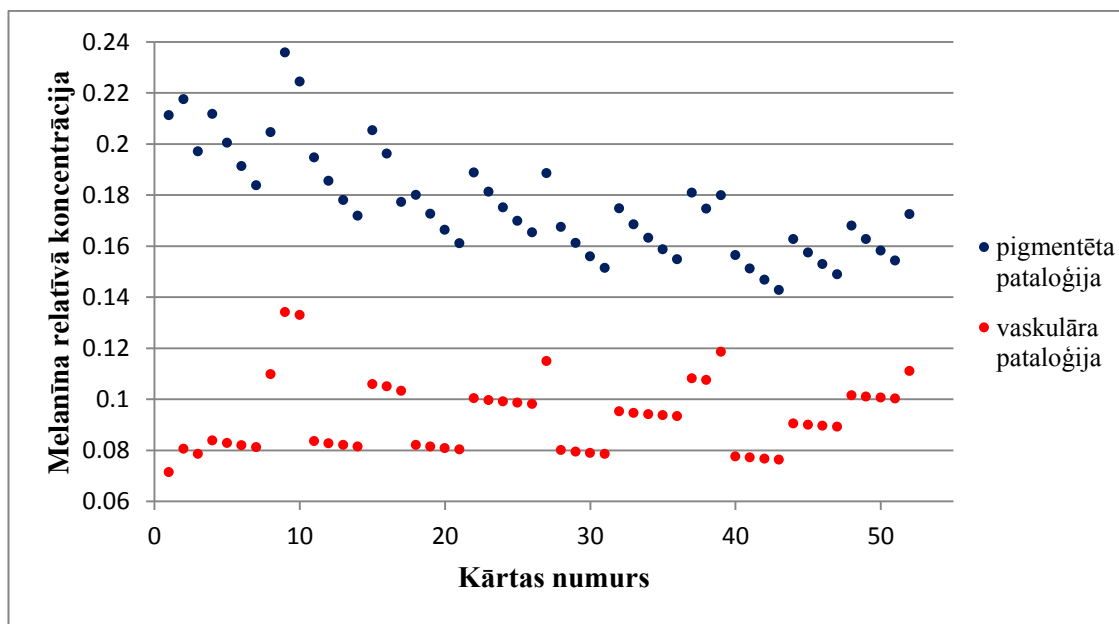
3.12. att. Oksihemoglobīna relatīvā koncentrācija pigmentētā un vaskulārā pataloģijā atkarībā no trīs izvēlēto konstanšu x , y un z kombinācijas numura

Deoksihemoglobīna koncentrācija gan pigmentētas, gan vaskulāras pataloģijas gadījumā ir tuva nullei, salīdzinot ar oksihemoglobīna koncentrāciju. Pigmentētas pataloģijas gadījumā tā ir lielāka (3.13. att.).



3.13. att. Deoksihemoglobīna relatīvā koncentrācija pigmentētā un vaskulārā pataloģijā atkarībā no trīs izvēlēto konstanšu x , y un z kombinācijas numura

Melanīna koncentrācija pigmentētā pataloģijā ir lielāka nekā vaskulārā pataloģijā (3.14. att.).



3.14. att. Melanīna relatīvā koncentrācija pigmentētā un vaskulārā pataloģijā atkarībā no trīs izvēlēto konstanšu x , y un z kombinācijas numura

No visām iegūtajām vērtībām tika izvēlētas 10 x , y un z kombinācijas, kuru sniegtais rezultāts visprecīzāk atbilda izvirzītajiem modeļiem (3.5. tabula).

3.5. tabula

x , y un z kombinācijas, kas visprecīzāk apraksta izvirzītos pigmentētās un vaskulārās pataloģijas modeļus

Nr.p.k.	x	y	z
1.	9	6	9
2.	10	7	8
3.	10	7	10
4.	11	8	8
5.	11	8	9
6.	11	8	10
7.	11	8	11
8.	12	9	9
9.	12	9	10
10.	13	10	10

3.2.4. Hromoforu karšu piemēri dažādu ādas veidojumu gadījumos

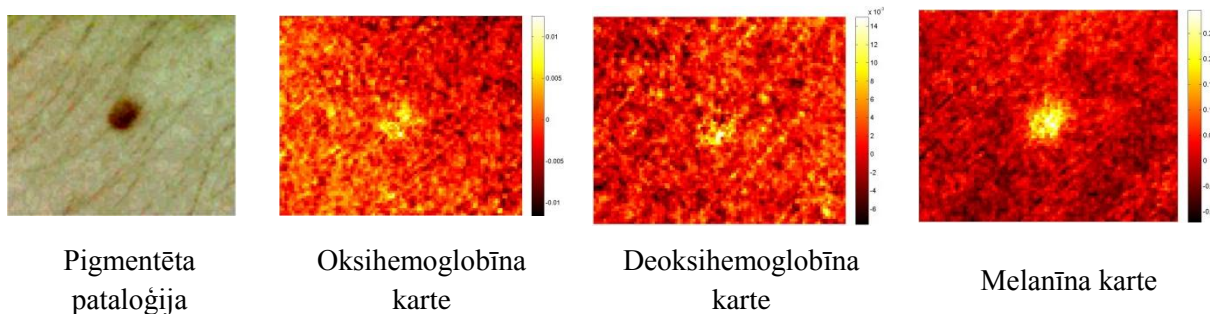
Tālāk parādīti pigmentētas un vaskulāras pataloģijas hromoforu karšu piemēri, izmantojot vienu no atlasīto x , y un z vērtību variantiem: $x = 9$, $y = 6$ un $z = 9$.

Tādā gadījumā izmantojamā vienādojumu sistēma ir:

$$\begin{cases} \ln\left(\frac{I_1}{I_{ref1}}\right) = -9 \cdot l_1 \left(\frac{1}{2} c_{OH} \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_1) + \frac{1}{2} c_{DOH} \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_1) + c_{MEL} \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_1) \right) \\ \ln\left(\frac{I_2}{I_{ref2}}\right) = -6 \cdot l_2 (c_{OH} \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_2) + c_{DOH} \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) + c_{MEL} \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_2)) \\ \ln\left(\frac{I_3}{I_{ref3}}\right) = -9 \cdot l_3 (c_{OH} \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_3) + c_{DOH} \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) + c_{MEL} \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_3)) \end{cases} \quad (3.3)$$

Tika izveidotas hromoforu kartes pigmentētas un vaskulāras pataloģijas gadījumā, izmantojot 3.3 formulu.

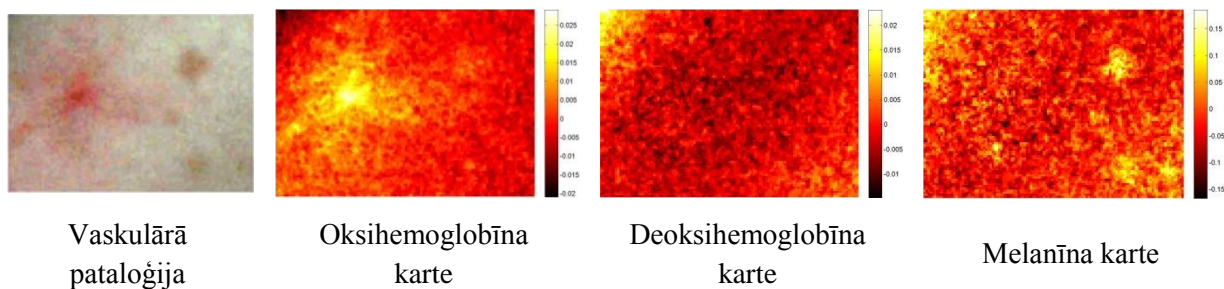
3.15. attēlā redzama pigmentēta pataloģija un trīs tās hromoforu kartes. Oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna koncentrācijas salīdzinoši maz atšķiras no blakus esošās veselās ādas koncentrācijas. Savukārt, melanīna relatīvā koncentrācija ir izteikti paaugstināta pigmentētajā pataloģijā.



3.15. att. Eksperimentāli uzņemtā pigmentētā pataloģija, oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna karte

Melanīna relatīvā koncentrācija tika apskatīta arī citu autoru darbos, piemēram, R. Amelard *et al.* darbā [27]. Melanīna koncentrācija pigmentētajā pataloģijā uzrādīja augstākas vērtības, nekā blakus esošajā veselajā ādā. Arī B. D'Alessandro *et al.* darbā [40] bija novērojama līdzīga tendence. Šajā gadījumā paraugs uzrādīja ne tikai paaugstinātu melanīna koncentrāciju pigmentētajā pataloģijā, bet arī paaugstinātu deoksihemoglobīna koncentrāciju.

3.16. attēlā parādīta vaskulāra pataloģija. Šajā gadījumā pataloģijā ir izteikti lielāka oksihemoglobīna koncentrācija, kā veselā ādā. Bet deoksihemoglobīna un melanīna koncentrācijas ir aptuveni tādas pašas, kā veselā ādā.

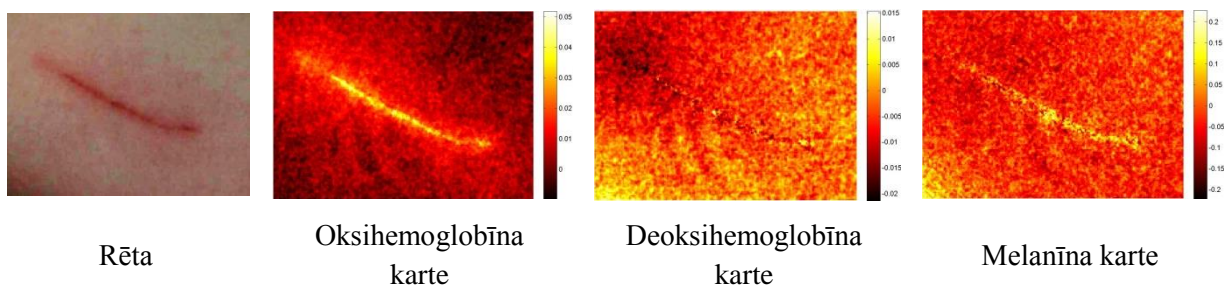


3.16. att. Eksperimentāli uzņemtā vaskulārā pataloģija, oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna karte

Citu autoru veiktos eksperimentos ar vaskulārām pataloģijām atspoguļojas līdzīgas tendences. Piemēram, G.N. Stamatias *et al.* darbā [28] parādīta tūskas analīze. Tūskā salīdzinot ar veselu ādu ir uzskatāmi palielināta oksihemoglobīna koncentrācija, ne tik izteikti arī deoksihemoglobīna koncentrācija. Savukārt melanīna koncentrācija gan tūskā, gan apkārt esošajā veselajā ādā ir tāda pati. Nedaudz atšķirīga situācija ir D. Jakovela *et al.* darbā [3030]. Tajā apskatīti uz vaiga izspiedušies asinsvadi. Oksihemoglobīna koncentrācija tajos ir palielināta, bet deoksihemoglobīna koncentrācija – samazināta.

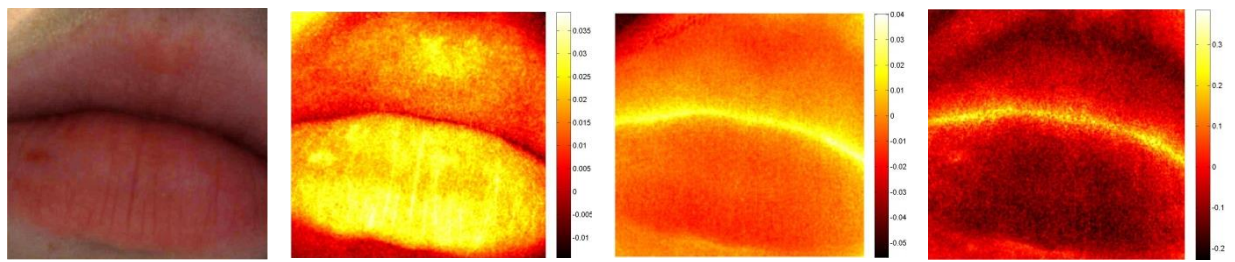
Tālāk ir apskatīti dažādi ādas veidojumi un no tiem izdalītās trīs hromoforu kartes.

3.17. attēlā redzama nesen iegūta rēta. Oksihemoglobīna koncentrācija tajā ir ievērojami lielāka, kā veselā ādā, bet deoksihemoglobīna un melanīna koncentrācijas ir aptuveni tādas pašas.



3.17. att. Eksperimentāli uzņemta nesen iegūta rēta, oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna karte

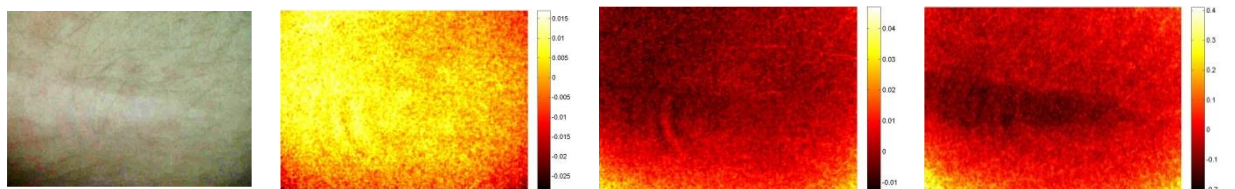
Lūpas satur daudz asinis, tātad arī daudz hemoglobīna. 3.18. attēlā parādīts paraugs ar lūpām un trīs to hromoforu kartes. Kā tika sagaidīts, tajās ir lielāka oksihemoglobīna koncentrācija, kā ādā. Savukārt, deoksihemoglobīna un melanīna koncentrācija ir aptuveni tāda pati kā ādā.



Lūpas Oksihemoglobīna karte Deoksihemoglobīna karte Melanīna karte

3.18. att. Eksperimentāli uzņemts attēls ar lūpām, oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna karte

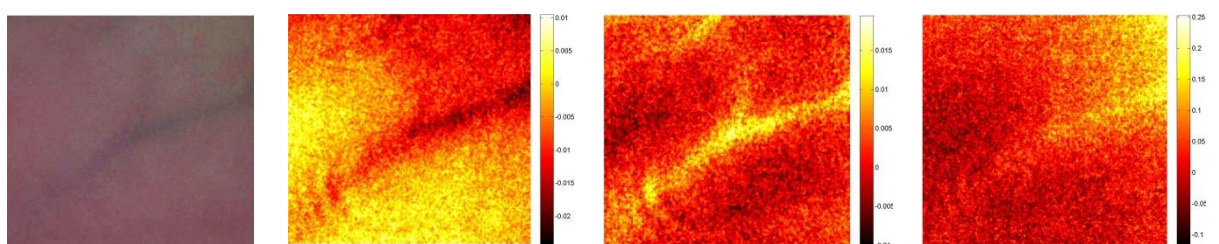
3.19. attēlā redzama sen sadzijusi rēta. Var redzēt, ka melanīna koncentrācija tajā ir ievērojami zemāka, kā veselā ādā, bet hemoglobīna koncentrācija ir aptuveni tāda pati.



Rēta Oksihemoglobīna karte Deoksihemoglobīna karte Melanīna karte

3.19. att. Eksperimentāli uzņemta rēta un tās oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna kartes

3.20. attēlā redzama vēna. Kā tika sagaidīts, vēnās ir lielāka deoksihemoglobīna koncentrācija, nekā apkārtējā ādā. Šajā gadījumā oksihemoglobīna koncentrācija ir mazāka par koncentrāciju veselā ādā, bet melanīna koncentrācija visā paraugā ir aptuveni vienāda.

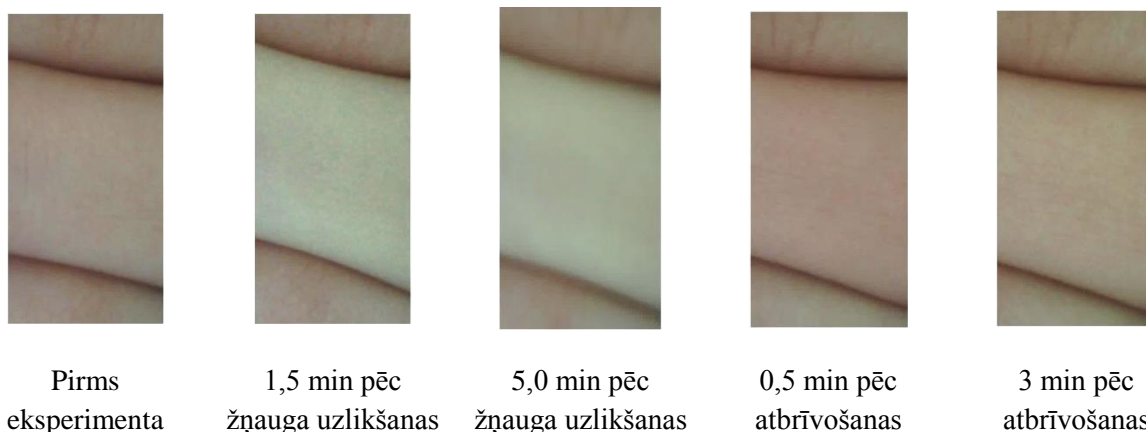


Vēna Oksihemoglobīna karte Deoksihemoglobīna karte Melanīna karte

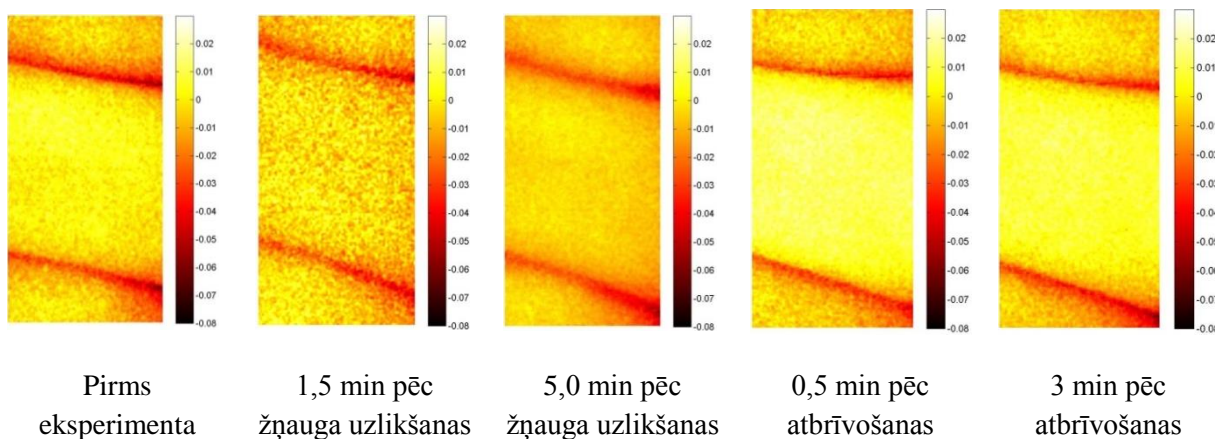
3.20. att. Eksperimentāli uzņemta vēna, oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna karte

3.3. Oklūzijas tests

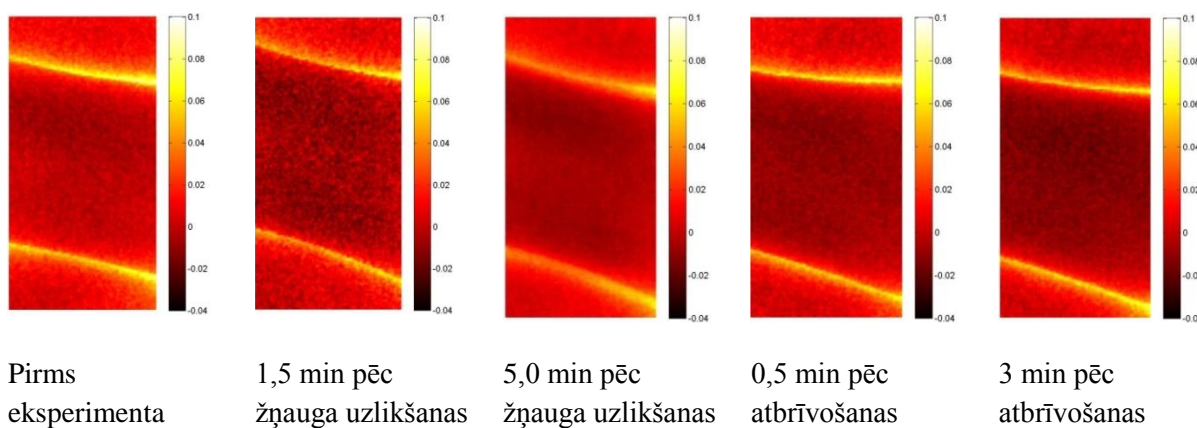
Tika veikts oklūzijas eksperiments vidējam rokas pirkstam. Žņaugis uz pirksta tika turēts 6 min. Par referenci tika izmantots pirms eksperimenta uzņemtā attēla vidējā pirksta vidējās vērtības. Attēlos 3.21. līdz 3.24. redzami 3 pirksti horizontālā virzienā. Vidējam pirkstam ir uzlikts žņaugis.



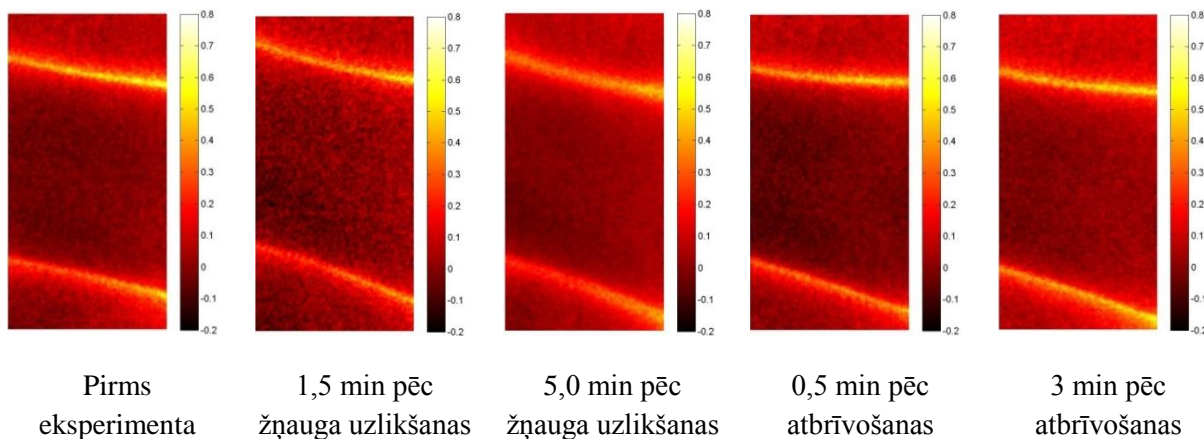
3.21. att. Oklūzijas eksperimenta laikā uzņemtie attēli dažādos laika brīžos



3.22. att. Oksihemoglobīna kartes oklūzijas eksperimenta laikā

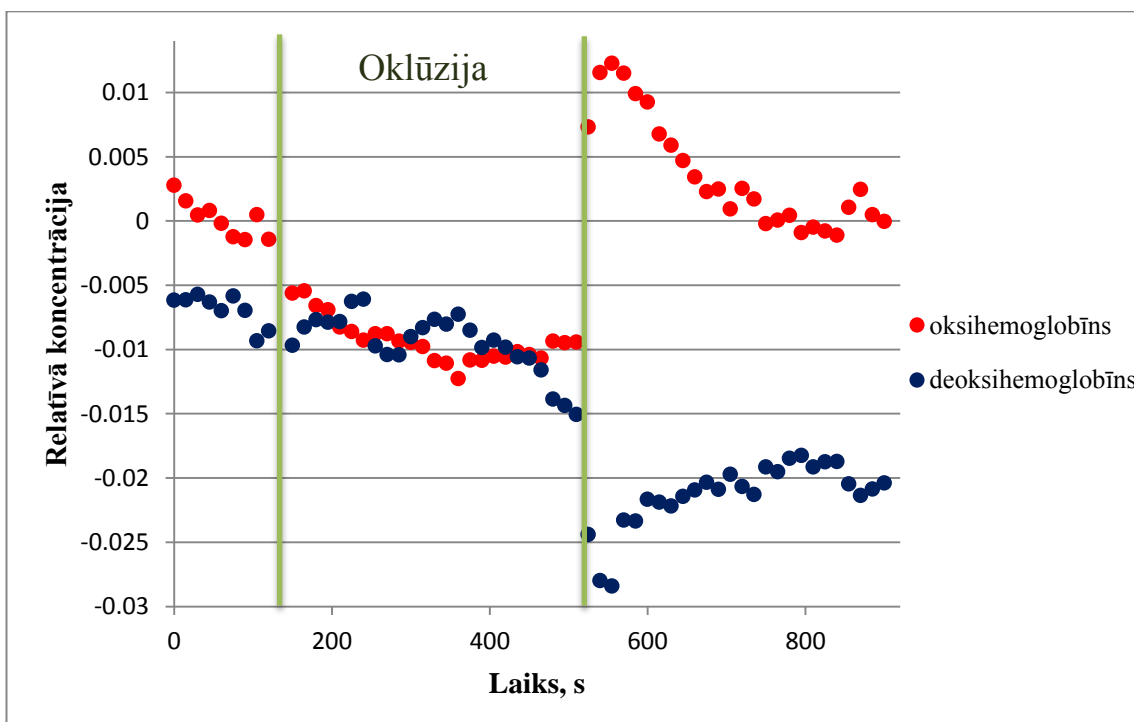


3.23. att. Deoksihemoglobīna kartes oklūzijas eksperimenta laikā



3.24. att. Melanīna kartes oklūzijas eksperimenta laikā

Lai pārlicinātos par oklūzijas ietekmi uz hemoglobīnu ādā, tika izveidots grafiks, kurā attēlota oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna relatīvā koncentrācija atkarībā no laika (3.25. att.).



3.25. att. Oksihemoglobīna un deoksihemoglobīna relatīvās koncentrācijas izmaiņas oklūzijas eksperimenta laikā

Kā redzams, pēc žņauga uzlikšanas ievērojami samazinās oksihemoglobīna koncentrācija, jo pirkstā nepieklūst jaunas asinis ar skābekli. Oklūzijas laikā deoksihemoglobīna koncentrācija paliek aptuveni nemainīga. Pēc žņauga noņemšanas, strauji palielinās oksihemoglobīna koncentrācija, bet deoksihemoglobīna koncentrācija ātri krīt.

Laika gaitā gan oksihemoglobīna, gan deoksihemoglobīna koncentrācija kļūst tāda pati kā eksperimenta sākumā.

Līdzīgi eksperimenta rezultāti ir aprakstīti D. Jakovela *et al.* darbā [41]. Tajā tika veikta arteriālā un venozā oklūzija. Arteriālās oklūzijas laikā ievērojami samazinājās oksihemoglobīna līmenis, savukārt deoksihemoglobīna līmenis palielinās. Uzreiz pēc žņauga noņemšanas bija novērojams straujšs oksihemoglobīna koncentrācijas pieaugums un deoksihemoglobīna samazinājums. Laika gaitā hemoglobīna koncentrācija izlīdzinājās. Savukārt venozās oklūzijas laikā oksihemoglobīna koncentrācija saglabājās aptuveni nemainīga, bet deoksihemoglobīna koncentrācija strauji palielinājās. Pēc žņauga noņemšanas, deoksihemoglobīna koncentrācija samazinās līdz sasniedz aptuveni tādu pašu koncentrāciju, kā veselā ādā.

KOPSAVILKUMS

Darba gaitā tika veikta padziļinat literatūras izpēte gan par dažādām ādas hromoforām, gan par gaismas optisko ceļu ādā.

Tika uzņemti 39 pigmentēto un 15 vaskulāro pataloģiju, kā arī vairāki citu ādas veidojumu attēli – rētas, lūpas un vēnas. Eksperimentāli noteikti RGB pārklāšanās korekcijas koeficienti 8 dažādiem ādas paraugiem.

No katra iegūtā ādas pataloģijas momentuzņēmuma tika izdalītas trīs hromoforu kartes – oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna. Eksperimentos iegūtie rezultāti bija līdzīgi dažādās publikācijās aprakstītajiem rezultātiem.

Tika veikts oklūzijas tests rokas vidējam pirkstam. Šis eksperiments atspoguļoja sagaidāmos rezultātus – oklūzijas laikā pirkstā samazinās oksihemoglobīna koncentrācija, bet pēc žņauga noņemšanas tā strauji palielinās. Pretējs efekts notiek deoksihemoglobīna gadījumā.

Galvenie secinājumi pēc darba izstrādes:

- izmantojot trīs lāzeru apgaismojumā iegūto ādas momentuzņēmumu, ir iespējams noteikt relatīvo ādas melanīna, oksi- un deoksi-hemoglobīna koncentrāciju sadalījumu ādā;
- ir iespējams katram ādas paraugam noteikt piemērotas RGB šķērsrunas (*crosstalk*) korekcijas konstantes;
- RGB attēlu mērījumi un algoritma parametru variācijas ļauj novērtēt iespējamo optiskā ceļa garumu ādā pie katra viļņa garuma.

Lai uzlabotu pētījumu un tā rezultātus, tiek sniegtas ieteicamās rekomendācijas turpmākajiem pētījumiem:

- Veikt salīdzināšanu ar citām metodēm, lai noteiktu iespējamo gaismas ceļa garumu ādā.
- Jāpilnveido šī brīža algoritms, lai to varētu pielietot arī citās fotokamerās.

PUBLICITĀTE

Iegūtie rezultāti tika prezentēti šādās konferencēs:

- „OSA Optics in Life Sciences”, Vankūvera (CA), 12.-15.04.2015. (7. pielikums)
- „Developments in Optics and Communications 2015”, Rīga, 8.10.04.2015. (8. pielikums)

Tie tiks prezentēti:

- „IONS Karlsruhe 2015”, Karlsruhe (DE), 26.–29. 06.2015.

Iegūtie rezultāti ir apkopoti publikācijā:

- J. Spigulis, I. Oshina. **Snapshot RGB mapping of skin melanin and hemoglobin**, J,Biomed.Opt., 2015. (9. pielikums)

PATEICĪBAS

Izsaku pateicību savam darba vadītājam profesoram Jānim Spīgulim par iesaistīšanu biofotonikas nozarē, kā arī par palīdzību darba tapšanas gaitā.

Vēlos pateikties arī savai māšai Kristīnei Ošiņai par noderīgajiem padomiem un morālo atbalstu.

Paldies visiem brīvprātīgajiem par sniegto palīdzību mērījumu datu iegūšanā.

Bakalaura darbs tika izstrādāts ar ERAF projekta „Inovātīvās ādas diagnostiskās attēlošanas tehnoloģijas” (#2014/0041/2DP/2.1.1.1.0/14/APIA/VIAA/015) atbalstu.



IZMANTOTĀ LITERATŪRA UN AVOTI

1. E. Häggblad. *In Vivo Diffuse Reflectance Spectroscopy of Human Tissue*, Doctoral thesis. Linköping : Linköping University, 2008. 151 p.
2. P. Vasariņš, A. Miltiņš. *Klīniskā dermatoveneroloģija*. Rīga: izdevniecība „Zvaigzne”, 1993. 476 lpp.
3. Blausen.com staff, *Blausen gallery 2014*. Wikiversity Journal of Medicine. DOI:10.15347/wjm/2014.010. ISSN 20018762
4. K. Robertson, J.L. Rees. *Variation in Epidermal Morphology in Human Skin at Different Body Sites as Measured by Reflectance Confocal Microscopy*. *Acta Derm Venereol* 2010; 90: 368–373
5. J. Riesz. *The spectroscopic properties of melanin*, A thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy to the University of Queensland November 2007
6. A.N. Schechter. *Hemoglobin research and the origins of molecular medicine*, *Blood*. 2008 Nov 15; 112(10): 3927–3938
7. Oregon Medical Laser Center – *Tabulated Molar Extinction Coefficient for Hemoglobin in Water* [tiešsaiste] – [atsauce 19.04.2015.]. Pieejams: <http://omlc.org/spectra/hemoglobin/summary.html>
8. Oregon Medical Laser Center – S.L. Jacques, *Extinction coefficient of melanin* [tiešsaiste] – [atsauce 19.04.2015.]. Pieejams: <http://omlc.org/spectra/melanin/eumelanin.html>, <http://omlc.org/spectra/melanin/pheomelanin.html>
9. K.A. Schenkman, D.R. Marble, D.H. Burns and E.O. Feigl. *Myoglobin oxygen dissociation by multiwavelength spectroscopy*, *Journal of applied physiology*, 82(1), 86-92, 1997. Copyright (1997) The American Physiological Society
10. Biomedical optics research laboratory, UCL department of medical physics and biomedical engineering – *Tissue spectra* [tiešsaiste] – [atsauce 19.04.2015.]. Pieejams: <http://www.ucl.ac.uk/medphys/research/borl/intro/spectra>
11. Oregon Medical Laser Center – *Optical absorption spectrum of Bilirubin in chloroform* [tiešsaiste] – [atsauce 19.04.2015.]. Pieejams: <http://omlc.org/spectra/PhotochemCAD/data/119-abs.txt>
12. A. Krishnaswamy, G.V.G. Baranoski. *A biophysically- based spectral model of light interaction with human skin*, *Computer Graphics Forum* Volume 23, Issue 3, pages 331–340, September 2004

-
13. Ch. Bayerl. *Beta-carotene in dermatology: does it help?*, Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat. 2008 Dec;17(4):160-2, 164-6.
 14. Oregon Medical Laser Center – *Optical absorption spectrum of Beta-carotene in hexane* [tiešsaiste] – [atsauce 19.04.2015.]. Pieejams: <http://omlc.org/spectra/PhotochemCAD/data/041-abs.txt>
 15. R.L. van Veen, H.J. Sterenborg, A. Pifferi, A. Torricelli, E. Chikoidze, R. Cubeddu. *Determination of Visible near-IR absorption coefficients of mammalian fat using time- and spatially resolved diffuse reflectance and transmission spectroscopy*, J Biomed Opt. 2005 Sep-Oct;10(5):054004.
 16. Wikipedia – *Electromagnetic absorption by water* [tiešsaiste] – [atsauce 19.04.2015.]. Pieejams: http://en.wikipedia.org/wiki/Electromagnetic_absorption_by_water.
 17. K.P. Nielsen, L. Zhao, J.J. Stamnes, K. Stamnes, J. Moan. *The optics of human skin: Aspects important for human health*, Oslo: The Norwegian Academy of Science and Letters, 2008.
 18. R.R. Anderson, J.A. Parrish. *The optics of human skin*, J Invest Dermatol. 1981 Jul;77(1):13-9.
 19. T. Lister, A.P. Wright, P.H. Chappell, *Optical properties of human skin*, Journal of Biomedical Optics 17(9), 090901 (September 2012)
 20. A.N. Bashkatov, E.A. Genina, V.I. Kochubey and V.V. Tuchin. *Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm*, A N Bashkatov et al 2005 J. Phys. D: Appl. Phys. 38 2543
 21. Oregon Medical Laser Center – *Optical absorption spectrum of Beta-carotene in hexane* [tiešsaiste] – [atsauce 22.04.2015.]. Pieejams: <http://omlc.org/classroom/ece532/class3/musp.html>
 22. A. Vogel, V. Venugopalan. *Mechanisms of pulsed laser ablation of biological tissues*, Chemical Reviews, 2003 Feb;103(2):577-644.
 23. V.V. Tuchin. *Handbook of optical biomedical diagnostics*, Bellingham: SPIE Press; (2002)
 24. *Analytics for Chemistry, Biology and Production*, [atsauce 1.05.2015.]. Pieejams: http://www.p-forster.com/IINDEX.htm?/english/themes/Spectroscopy/Spectroscopy_Quiz.htm
 25. C.W. Barrett. *Skin penetration*, J. Soc. Cosmetic Chemists 20 487-499 (1969)

-
26. G. Zonios, A. Dimou. *Modeling diffuse reflectance from semi-infinite turbid media: application to the study of skin optical properties*, Optics Express, Vol. 14, Issue 19, pp. 8661-8674 (2006)
 27. R. Amelard, C. Scharfenberger, A. Wong, D.A. Clausi. *Non-contact assessment of melanin distribution via multispectral temporal illumination coding*, Proc. SPIE 9316, Multimodal Biomedical Imaging X, 93160N (March 5, 2015)
 28. G.N. Stamatias, N. Kollias. *In vivo documentation of cutaneous inflammation using spectral imaging*, J. Biomed. Opt. 12, 051603 (2007).
 29. I. Kuzmina, I. Diebele, D. Jakovels, J. Spigulis, L. Valeine, J. Kapostinsh, A. Berzina. *Towards noncontact skin melanoma selection by multispectral imaging analysis*, J Biomed Opt. 2011 Jun;16(6):060502. doi: 10.1117/1.3584846.
 30. D. Jakovels and J. Spigulis. *RGB imaging device for mapping and monitoring of hemoglobindistribution in skin*, Lithuanian Journal of Physics, Vol. 52, No. 1, pp. 50–54 (2012)
 31. J.Spigulis, U.Rubins, E.Kviesis-Kipge, O.Rubenis. *SkImager: a concept device for in-vivo skin assessment by multimodal imaging*, Proc.Est.Acad.Sci., 63(3), 213-220 (2014)
 32. Edmund optics - *Laser Diode Modules*, [atsauce 21.05.2015.]. Pieejams: <http://www.edmundoptics.com/lasers/laser-diode-modules/>
 33. W.T. Silfvast. *Laser fundamentals*, Cambridge University press, 2004, 642.lpp.
 34. R.Willingale. University of Leicester Department of Physics and Astronomy lecture notes *Lasers and quantum optics*, 2007, [tiešsaiste] – [atsauce 03.06.2015.]. Pieejams: <http://www.star.le.ac.uk/~zrw/courses/lect4313.html>
 35. Explain that stuff!, *Semiconductor diode lasers*, [tiešsaiste] – [atsauce 03.06.2015.]. Pieejams: <http://www.explainthatstuff.com/semiconductorlaserdiodes.html>
 36. Axis communication – *CCD and CMOS sensor technology*, [atsauce 21.05.2015.]. Pieejams: http://www.axis.com/files/whitepaper/wp_ccd_cmos_40722_en_1010_lo.pdf
 37. Cambridge in colour – *Digital camera sensors* [tiešsaiste] – [atsauce 21.05.2015.]. Pieejams: <http://www.cambridgeincolour.com/tutorials/camera-sensors.htm>.
 38. *IDS, UI-1221LE* [tiešsaiste] – [atsauce 22.05.2015.]. Pieejams: <https://en.ids-imaging.com/store/ui-1221le.html>
 39. J.Spigulis, L.Elste. *Single-snapshot RGB multispectral imaging at fixed wavelengths: proof of concept*, Proc.SPIE, 8937, 89370L (2014).

-
40. B. D'Alessandro, A.P. Dhawan. *Depth-Dependent Hemoglobin Analysis From Multispectral Transillumination Images*, IEEE Trans Biomed Eng. 2010 Oct; 57(10):2568-71. doi: 10.1109/TBME.2010.2059025
 41. D. Jakovels, U. Rubins, J. Spigulis. *RGB Imaging System for Mapping and Monitoring of Hemoglobin Distribution in Skin*, Proc. of SPIE Vol. 8158 81580R-1 (2011).

PIELIKUMI

1. pielikums. RGB pārklāšanās (*crosstalk*) korekcijas koeficeintu iegūšanas programmas kods

```
% Ar sarkano lāzeri uzņemto attēlu sadala 3 kanālos - R, G un B
rr=im2double(r(:,:,1));
rg=im2double(r(:,:,2));
rb=im2double(r(:,:,3));

% Ar zaļo lāzeri uzņemto attēlu sadala 3 kanālos - R, G un B
gr=im2double(g(:,:,1));
gg=im2double(g(:,:,2));
gb=im2double(g(:,:,3));

% Ar zilo lāzeri uzņemto attēlu sadala 3 kanālos - R, G un B
br=im2double(b(:,:,1));
bg=im2double(b(:,:,2));
bb=im2double(b(:,:,3));

% Ar visiem trīs lāzeriem kopā uzņemto attēlu sadala 3
kanālos - R, G un B
rgbr=im2double(rgb(:,:,1));
rgbg=im2double(rgb(:,:,2));
rgbb=im2double(rgb(:,:,3));

% Fona attēlu sadala 3 kanālos - R, G un B
rfons=im2double(fons(:,:,1));
gfons=im2double(fons(:,:,2));
bfons=im2double(fons(:,:,3));
```

```
% Ar katru no lāzeriem uzņemto attēlu un ar viesiem trīs  
lāzeriem kopā uzņemto attēlu attīra no fona trokšņa katrā no  
kanāliem
```

```
r3=rr-rfons;  
g3=rg-gfons;  
b3=rb-bfons;  
r2=gr-rfons;  
g2=gg-gfons;  
b2=gb-bfons;  
r1=br-rfons;  
g1=bg-gfons;  
b1=bb-bfons;  
r4=rgbr-rfons;  
g4=rgbg-gfons;  
b4=rgbb-bfons;
```

```
% Ar sarkano lāzeri uzņemtajam attēlam izrēķina vidējo katra  
kanāla vērtību trīs dažādos izdalītos apgabalos - a, b un c
```

```
R2a=mean2(r2(115:275,302:489));  
G2a=mean2(g2(115:275,302:489));  
B2a=mean2(b2(115:275,302:489));  
R2b=mean2(r2(49:173,266:412));  
G2b=mean2(g2(49:173,266:412));  
B2b=mean2(b2(49:173,266:412));  
R2c=mean2(r2(65:183,392:536));  
G2c=mean2(g2(65:183,392:536));  
B2c=mean2(b2(65:183,392:536));  
R2d=mean2(r2(189:307,240:381));  
G2d=mean2(g2(189:307,240:381));  
B2d=mean2(b2(189:307,240:381));  
R2e=mean2(r2(217:338,367:511));  
G2e=mean2(g2(217:338,367:511));  
B2e=mean2(b2(217:338,367:511));
```

```
% Ar zaļo lāzeri uzņemtajam attēlam izrēķina vidējo katra  
kanāla vērtību trīs dažādos izdalītos apgabalos - a, b un c
```

```
R3a=mean2(r3(115:275,302:489));  
G3a=mean2(g3(115:275,302:489));  
B3a=mean2(b3(115:275,302:489));  
R3b=mean2(r3(49:173,266:412));  
G3b=mean2(g3(49:173,266:412));  
B3b=mean2(b3(49:173,266:412));  
R3c=mean2(r3(65:183,392:536));  
G3c=mean2(g3(65:183,392:536));  
B3c=mean2(b3(65:183,392:536));  
R3d=mean2(r3(189:307,240:381));  
G3d=mean2(g3(189:307,240:381));  
B3d=mean2(b3(189:307,240:381));  
R3e=mean2(r3(217:338,367:511));  
G3e=mean2(g3(217:338,367:511));  
B3e=mean2(b3(217:338,367:511));
```

```
% Ar zilo lāzeri uzņemtajam attēlam izrēķina vidējo katra  
kanāla vērtību trīs dažādos izdalītos apgabalos - a, b un c
```

```
R1a=mean2(r1(115:275,302:489));  
G1a=mean2(g1(115:275,302:489));  
B1a=mean2(b1(115:275,302:489));  
R1b=mean2(r1(49:173,266:412));  
G1b=mean2(g1(49:173,266:412));  
B1b=mean2(b1(49:173,266:412));  
R1c=mean2(r1(65:183,392:536));  
G1c=mean2(g1(65:183,392:536));  
B1c=mean2(b1(65:183,392:536));  
R1d=mean2(r1(189:307,240:381));  
G1d=mean2(g1(189:307,240:381));  
B1d=mean2(b1(189:307,240:381));  
R1e=mean2(r1(217:338,367:511));  
G1e=mean2(g1(217:338,367:511));  
B1e=mean2(b1(217:338,367:511));
```

```
% Ar visiem trīs lāzeriem kopā uzņemtajam attēlam izrēķina
vidējo katra kanāla vērtību trīs dažādos izdalītos apgabalos
- a, b un c
```

```
R4a=mean2 (r4 (115:275, 302:489) );
G4a=mean2 (g4 (115:275, 302:489) );
B4a=mean2 (b4 (115:275, 302:489) );
R4b=mean2 (r4 (49:173, 266:412) );
G4b=mean2 (g4 (49:173, 266:412) );
B4b=mean2 (b4 (49:173, 266:412) );
R4c=mean2 (r4 (65:183, 392:536) );
G4c=mean2 (g4 (65:183, 392:536) );
B4c=mean2 (b4 (65:183, 392:536) );
R4d=mean2 (r4 (189:307, 240:381) );
G4d=mean2 (g4 (189:307, 240:381) );
B4d=mean2 (b4 (189:307, 240:381) );
R4e=mean2 (r4 (217:338, 367:511) );
G4e=mean2 (g4 (217:338, 367:511) );
B4e=mean2 (b4 (217:338, 367:511) );
```

```
% Aprēķina korekcijas koeficientus katram kanālam
```

```
AR1=(R2a*R3b*R4c-R2a*R4b*R3c-
R3a*R2b*R4c+R3a*R4b*R2c+R4a*R2b*R3c-
R4a*R3b*R2c) / (R1a*R2b*R3c-R1a*R3b*R2c-
R2a*R1b*R3c+R2a*R3b*R1c+R3a*R1b*R2c-R3a*R2b*R1c)
AR2=- (R1a*R3b*R4c-R1a*R4b*R3c-
R3a*R1b*R4c+R3a*R4b*R1c+R4a*R1b*R3c-
R4a*R3b*R1c) / (R1a*R2b*R3c-R1a*R3b*R2c-
R2a*R1b*R3c+R2a*R3b*R1c+R3a*R1b*R2c-R3a*R2b*R1c)
AR3=(R1a*R2b*R4c-R1a*R4b*R2c-
R2a*R1b*R4c+R2a*R4b*R1c+R4a*R1b*R2c-
R4a*R2b*R1c) / (R1a*R2b*R3c-R1a*R3b*R2c-
R2a*R1b*R3c+R2a*R3b*R1c+R3a*R1b*R2c-R3a*R2b*R1c)

AG1=(G2a*G3b*G4c-G2a*G4b*G3c-
G3a*G2b*G4c+G3a*G4b*G2c+G4a*G2b*G3c-
```

$$\begin{aligned}
& G4a * G3b * G2c) / (G1a * G2b * G3c - G1a * G3b * G2c - \\
& G2a * G1b * G3c + G2a * G3b * G1c + G3a * G1b * G2c - G3a * G2b * G1c) \\
AG2 = & - (G1a * G3b * G4c - G1a * G4b * G3c - \\
& G3a * G1b * G4c + G3a * G4b * G1c + G4a * G1b * G3c - \\
& G4a * G3b * G1c) / (G1a * G2b * G3c - G1a * G3b * G2c - \\
& G2a * G1b * G3c + G2a * G3b * G1c + G3a * G1b * G2c - G3a * G2b * G1c) \\
AG3 = & (G1a * G2b * G4c - G1a * G4b * G2c - \\
& G2a * G1b * G4c + G2a * G4b * G1c + G4a * G1b * G2c - \\
& G4a * G2b * G1c) / (G1a * G2b * G3c - G1a * G3b * G2c - \\
& G2a * G1b * G3c + G2a * G3b * G1c + G3a * G1b * G2c - G3a * G2b * G1c)
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
AB1 = & (B2a * B3b * B4c - B2a * B4b * B3c - \\
& B3a * B2b * B4c + B3a * B4b * B2c + B4a * B2b * B3c - \\
& B4a * B3b * B2c) / (B1a * B2b * B3c - B1a * B3b * B2c - \\
& B2a * B1b * B3c + B2a * B3b * B1c + B3a * B1b * B2c - B3a * B2b * B1c) \\
AB2 = & - (B1a * B3b * B4c - B1a * B4b * B3c - \\
& B3a * B1b * B4c + B3a * B4b * B1c + B4a * B1b * B3c - \\
& B4a * B3b * B1c) / (B1a * B2b * B3c - B1a * B3b * B2c - \\
& B2a * B1b * B3c + B2a * B3b * B1c + B3a * B1b * B2c - B3a * B2b * B1c) \\
AB3 = & (B1a * B2b * B4c - B1a * B4b * B2c - \\
& B2a * B1b * B4c + B2a * B4b * B1c + B4a * B1b * B2c - \\
& B4a * B2b * B1c) / (B1a * B2b * B3c - B1a * B3b * B2c - \\
& B2a * B1b * B3c + B2a * B3b * B1c + B3a * B1b * B2c - B3a * B2b * B1c)
\end{aligned}$$

Melanīna koncentrācijas aprēķināšana:

$$\begin{aligned}
c_{MEL} = & -(\varepsilon_{OH}(\lambda_1) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) \cdot l_1^2 \cdot \ln(k_3) - \varepsilon_{OH}(\lambda_1) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) \cdot l_1^2 \cdot \ln(k_2) - \varepsilon_{OH}(\lambda_2) \cdot \\
& \varepsilon_{DOH}(\lambda_1) \cdot l_1^2 \cdot \ln(k_3) - 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) \cdot l_1^2 \cdot \ln(k_1) + \varepsilon_{OH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_1) \cdot \\
& l_1^2 \ln(k_2) + 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) \cdot l_1^2 \cdot \ln(k_1) - \varepsilon_{OH}(\lambda_1) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) \cdot l_1 \cdot l_2 \cdot \ln(k_3) + \\
& \varepsilon_{OH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_1) \cdot l_1 \cdot l_2 \cdot \ln(k_3) + 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) \cdot l_1 \cdot l_2 \cdot \ln(k_1) - 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_3) \cdot \\
& \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) \cdot l_1 \cdot l_2 \cdot \ln(k_1) + \varepsilon_{OH}(\lambda_1) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) \cdot l_1 \cdot l_3 \cdot \ln(k_2) + 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) \cdot l_1 \cdot \\
& l_3 \cdot \ln(k_1) - \varepsilon_{OH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_1) \cdot l_1 \cdot l_3 \cdot \ln(k_2) - 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) \cdot l_1 \cdot l_3 \cdot \ln(k_1) - \\
& 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) \cdot l_2 \cdot l_3 \cdot \ln(k_1) + 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) \cdot l_2 \cdot l_3 \cdot \ln(k_1)) / (4 \cdot \\
& (\varepsilon_{OH}(\lambda_1) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_3) \cdot l_1^2 - \varepsilon_{OH}(\lambda_1) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_2) \cdot l_1^2 - \varepsilon_{OH}(\lambda_2) \cdot \\
& \varepsilon_{DOH}(\lambda_1) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_3) \cdot l_1^2 - 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_1) \cdot l_1^2 + \varepsilon_{OH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_1) \cdot \\
& \varepsilon_{MEL}(\lambda_2) \cdot l_1^2 + 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_1) \cdot l_1^2 - \varepsilon_{OH}(\lambda_1) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_3) \cdot l_1 \cdot \\
& l_2 + \varepsilon_{OH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_1) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_3) \cdot l_1 \cdot l_2 + 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_1) \cdot l_1 \cdot l_2 - 2 \cdot \\
& \varepsilon_{OH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_1) \cdot l_1 \cdot l_2 + \varepsilon_{OH}(\lambda_1) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_2) \cdot l_1 \cdot l_3 + 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_2) \cdot \\
& \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_1) \cdot l_1 \cdot l_3 - \varepsilon_{OH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_1) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_2) \cdot l_1 \cdot l_3 - 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_3) \cdot \\
& \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_1) \cdot l_1 \cdot l_3 - 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{DOH}(\lambda_3) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_1) \cdot l_2 \cdot l_3 + 2 \cdot \varepsilon_{OH}(\lambda_3) \cdot \\
& \varepsilon_{DOH}(\lambda_2) \cdot \varepsilon_{MEL}(\lambda_1) \cdot l_2 \cdot l_3))
\end{aligned}$$

3. pielikums. Trīs hromoforu – oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna- karšu iegūšanas programmas kods

```
% Sadala uzņemto attēlu 3 kanālos - R, G un B
r=im2double(attels(:,:,1));
g=im2double(attels(:,:,2));
b=im2double(attels(:,:,3));

% Sadala fona attēlu 3 kanālos - R,G un B
rfons=im2double(fons(:,:,1));
gfons=im2double(fons(:,:,2));
bfons=im2double(fons(:,:,3));

% Uzņemto attēlu attīra no fona trokšņa
rbez=r-rfons;
gbez=g-gfons;
bbez=b-bfons;

% Izdala veselās ādas apgabalu un aprēķina tās vidējo vērtību
katrā no kanāliem
Rw=mean2(rbez(239:261,366:426));
Gw=mean2(gbez(239:261,366:426));
Bw=mean2(bbez(239:261,366:426));

% Izdala interesējošo ādas apgabalu
Ra=rbez(89:404,283:506);
Ga=gbez(89:404,283:506);
Ba=bbez(89:404,283:506);
Att(:,:,1)=Ra;
Att(:,:,2)=Ga;
Att(:,:,3)=Ba;

% Definē RGB korekcijas konstantes
AR1=-0,706;
AR2=0,385;
```

```

AR3=1.063;
AG1=-0,764;
AG2=0,900;
AG3=2,374;
AB1=-0,166;
AB2=-0,092;
AB3=6,840;

```

```

% Pie katra lāzera izdalītais kanāls

```

```

R1=Rw/AR1;
R2=Rw/AR2;
R3=Rw/AR3;
G1=Gw/AG1;
G2=Gw/AG2;
G3=Gw/AG3;
B1=Bw/AB1;
B2=Bw/AB2;
B3=Bw/AB3;

```

```

% Spektrālo vājinājumu vērtības

```

```

k1=(Ba.*G3.*R2-B3.*Ga.*R2-Ba.*G2.*R3+B2.*Ga.*R3+B3.*G2.*Ra-
B2.*G3.*Ra) ./ (B3.*G2.*R1-B2.*G3.*R1-
B3.*G1.*R2+B1.*G3.*R2+B2.*G1.*R3-B1.*G2.*R3);
k2=(-Ba.*G3.*R1+B3.*Ga.*R1+Ba.*G1.*R3-B1.*Ga.*R3-
B3.*G1.*Ra+B1.*G3.*Ra) ./ (B3.*G2.*R1-B2.*G3.*R1-
B3.*G1.*R2+B1.*G3.*R2+B2.*G1.*R3-B1.*G2.*R3);
k3=(Ba.*G2.*R1-B2.*Ga.*R1-Ba.*G1.*R2+B1.*Ga.*R2+B2.*G1.*Ra-
B1.*G2.*Ra) ./ (B3.*G2.*R1-B2.*G3.*R1-
B3.*G1.*R2+B1.*G3.*R2+B2.*G1.*R3-B1.*G2.*R3);

```

```

% Izdalītās hromoforu kartes

```

```

OH=0.14485421164287130557282264281962*log(k3)-
0.033209653027317694637634810221767*log(k2)-
0.02419780292858629744617860076247*log(k1);

```

```
DOH=0.056849896354290599276315538416342*log(k1) -  
0.024315698398547932827630156015363*log(k2) -  
0.12848985959130827709453411742476*log(k3);  
MEL=0.40812949238459436556512641255049*log(k2) -  
0.80554790306961963834863217883171*log(k1) -  
0.7379588325655855360022925864252*log(k3);
```

```
% Hromoforu karšu un izdalītā ādas parauga attēlošana
```

```
imshow(OH, [min(min(OH)), max(max(OH))]);  
imshow(DOH, [min(min(DOH)), max(max(DOH))]);  
imshow(MEL, [min(min(MEL)), max(max(MEL))]);  
imshow(Att);
```

4. pielikums. Apskatītie 513 varianti x, y un z kombinācijām, ar kurām tika noteikts iespējamais gaismas optiskā ceļa garums ādā

Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z
1.	2	2	2	130.	5	5	5	259.	7	10	10	388.	11	11	10
2.	2	2	3	131.	5	5	6	260.	8	5	5	389.	11	11	11
3.	2	2	4	132.	5	5	7	261.	8	5	6	390.	11	11	12
4.	2	2	5	133.	5	6	2	262.	8	5	7	391.	11	11	13
5.	2	2	6	134.	5	6	3	263.	8	5	8	392.	11	11	14
6.	2	2	7	135.	5	6	4	264.	8	6	5	393.	11	12	9
7.	2	3	2	136.	5	6	5	265.	8	6	6	394.	11	12	10
8.	2	3	3	137.	5	6	6	266.	8	6	7	395.	11	12	11
9.	2	3	4	138.	5	6	7	267.	8	6	8	396.	11	12	12
10.	2	3	5	139.	5	7	2	268.	8	6	9	397.	11	12	13
11.	2	3	6	140.	5	7	3	269.	8	7	5	398.	11	12	14
12.	2	3	7	141.	5	7	4	270.	8	7	6	399.	11	13	10
13.	2	4	2	142.	5	7	5	271.	8	7	7	400.	11	13	11
14.	2	4	3	143.	5	7	6	272.	8	7	8	401.	11	13	12
15.	2	4	4	144.	5	7	7	273.	8	7	9	402.	11	13	13
16.	2	4	5	145.	6	2	2	274.	8	7	10	403.	11	13	14
17.	2	4	6	146.	6	2	3	275.	8	8	5	404.	11	14	11
18.	2	4	7	147.	6	2	4	276.	8	8	6	405.	11	14	12
19.	2	5	2	148.	6	2	5	277.	8	8	7	406.	11	14	13
20.	2	5	3	149.	6	2	6	278.	8	8	8	407.	11	14	14
21.	2	5	4	150.	6	2	7	279.	8	8	9	408.	12	9	9
22.	2	5	5	151.	6	3	2	280.	8	8	10	409.	12	9	10
23.	2	5	6	152.	6	3	3	281.	8	8	11	410.	12	9	11
24.	2	5	7	153.	6	3	4	282.	8	9	6	411.	12	9	12
25.	2	6	2	154.	6	3	5	283.	8	9	7	412.	12	10	9
26.	2	6	3	155.	6	3	6	284.	8	9	8	413.	12	10	10
27.	2	6	4	156.	6	3	7	285.	8	9	9	414.	12	10	11
28.	2	6	5	157.	6	4	2	286.	8	9	10	415.	12	10	12
29.	2	6	6	158.	6	4	3	287.	8	9	11	416.	12	10	13
30.	2	6	7	159.	6	4	4	288.	8	10	7	417.	12	11	9
31.	2	7	2	160.	6	4	5	289.	8	10	8	418.	12	11	10
32.	2	7	3	161.	6	4	6	290.	8	10	9	419.	12	11	11
33.	2	7	4	162.	6	4	7	291.	8	10	10	420.	12	11	12
34.	2	7	5	163.	6	5	2	292.	8	10	11	421.	12	11	13
35.	2	7	6	164.	6	5	3	293.	8	11	8	422.	12	11	14
36.	2	7	7	165.	6	5	4	294.	8	11	9	423.	12	12	9
37.	3	2	2	166.	6	5	5	295.	8	11	10	424.	12	12	10
38.	3	2	3	167.	6	5	6	296.	8	11	11	425.	12	12	11
39.	3	2	4	168.	6	5	7	297.	9	6	6	426.	12	12	12
40.	3	2	5	169.	6	6	2	298.	9	6	7	427.	12	12	13
41.	3	2	6	170.	6	6	3	299.	9	6	8	428.	12	12	14

42.	3	2	7	171.	6	6	4	300.	9	6	9	429.	12	12	15
43.	3	3	2	172.	6	6	5	301.	9	7	6	430.	12	13	10
44.	3	3	3	173.	6	6	6	302.	9	7	7	431.	12	13	11
45.	3	3	4	174.	6	6	7	303.	9	7	8	432.	12	13	12
46.	3	3	5	175.	6	7	2	304.	9	7	9	433.	12	13	13
47.	3	3	6	176.	6	7	3	305.	9	7	10	434.	12	13	14
48.	3	3	7	177.	6	7	4	306.	9	8	6	435.	12	13	15
49.	3	4	2	178.	6	7	5	307.	9	8	7	436.	12	14	11
50.	3	4	3	179.	6	7	6	308.	9	8	8	437.	12	14	12
51.	3	4	4	180.	6	7	7	309.	9	8	9	438.	12	14	13
52.	3	4	5	181.	7	2	2	310.	9	8	10	439.	12	14	14
53.	3	4	6	182.	7	2	3	311.	9	8	11	440.	12	14	15
54.	3	4	7	183.	7	2	4	312.	9	9	6	441.	12	15	12
55.	3	5	2	184.	7	2	5	313.	9	9	7	442.	12	15	13
56.	3	5	3	185.	7	2	6	314.	9	9	8	443..	12	15	14
57.	3	5	4	186.	7	2	7	315.	9	9	9	444.	12	15	15
58.	3	5	5	187.	7	3	2	316.	9	9	10	445.	13	10	10
59.	3	5	6	188.	7	3	3	317.	9	9	11	446.	13	10	11
60.	3	5	7	189.	7	3	4	318.	9	9	12	447.	13	10	12
61.	3	6	2	190.	7	3	5	319.	9	10	7	448.	13	10	13
62.	3	6	3	191.	7	3	6	320.	9	10	8	449.	13	11	10
63.	3	6	4	192.	7	3	7	321.	9	10	9	450.	13	11	11
64.	3	6	5	193.	7	4	2	322.	9	10	10	451.	13	11	12
65.	3	6	6	194.	7	4	3	323.	9	10	11	452.	13	11	13
66.	3	6	7	195.	7	4	4	324.	9	10	12	453.	13	11	14
67.	3	7	2	196.	7	4	5	325.	9	11	8	454.	13	12	10
68.	3	7	3	197.	7	4	6	326.	9	11	9	455.	13	12	11
69.	3	7	4	198.	7	4	7	327.	9	11	10	456.	13	12	12
70.	3	7	5	199.	7	5	2	328.	9	11	11	457.	13	12	13
71.	3	7	6	200.	7	5	3	329.	9	11	12	458.	13	12	14
72.	3	7	7	201.	7	5	4	330.	9	12	9	459.	13	12	15
73.	4	2	2	202.	7	5	5	331.	9	12	10	460.	13	13	10
74.	4	2	3	203.	7	5	6	332.	9	12	11	461.	13	13	11
75.	4	2	4	204.	7	5	7	333.	9	12	12	462.	13	13	12
76.	4	2	5	205.	7	6	2	334.	10	7	7	463.	13	13	13
77.	4	2	6	206.	7	6	3	335.	10	7	8	464.	13	13	14
78.	4	2	7	207.	7	6	4	336.	10	7	9	465.	13	13	15
79.	4	3	2	208.	7	6	5	337.	10	7	10	466.	13	14	11
80.	4	3	3	209.	7	6	6	338.	10	8	7	467.	13	14	12
81.	4	3	4	210.	7	6	7	339.	10	8	8	468.	13	14	13
82.	4	3	5	211.	7	7	2	340.	10	8	9	469.	13	14	14
83.	4	3	6	212.	7	7	3	341.	10	8	10	470.	13	14	15
84.	4	3	7	213.	7	7	4	342.	10	8	11	471.	13	15	12
85.	4	4	2	214.	7	7	5	343.	10	9	7	472.	13	15	13
86.	4	4	3	215.	7	7	6	344.	10	9	8	473.	13	15	14
87.	4	4	4	216.	7	7	7	345.	10	9	9	474.	13	15	15

88.	4	4	5	217.	5	5	8	346.	10	9	10	475.	14	11	11
89.	4	4	6	218.	5	6	8	347.	10	9	11	476.	14	11	12
90.	4	4	7	219.	5	7	8	348.	10	9	12	477.	14	11	13
91.	4	5	2	220.	5	8	8	349.	10	10	7	478.	14	11	14
92.	4	5	3	221.	5	8	5	350.	10	10	8	479.	14	12	11
93.	4	5	4	222.	5	8	6	351.	10	10	9	480.	14	12	12
94.	4	5	5	223.	5	8	7	352.	10	10	10	481.	14	12	13
95.	4	5	6	224.	5	8	8	353.	10	10	11	482.	14	12	14
96.	4	5	7	225.	6	5	8	354.	10	10	12	483.	14	12	15
97.	4	6	2	226.	6	6	8	355.	10	10	13	484.	14	13	11
98.	4	6	3	227.	6	6	9	356.	10	11	8	485.	14	13	12
99.	4	6	4	228.	6	7	8	357.	10	11	9	486.	14	13	13
100.	4	6	5	229.	6	7	9	358.	10	11	10	487.	14	13	14
101.	4	6	6	230.	6	8	5	359.	10	11	11	488.	14	13	15
102.	4	6	7	231.	6	8	6	360.	10	11	12	489.	14	14	11
103.	4	7	2	232.	6	8	7	361.	10	11	13	490.	14	14	12
104.	4	7	3	233.	6	8	8	362.	10	12	9	491.	14	14	13
105.	4	7	4	234.	6	8	9	363.	10	12	10	492.	14	14	14
106.	4	7	5	235.	6	9	6	364.	10	12	11	493.	14	14	15
107.	4	7	6	236.	6	9	7	365.	10	12	12	494.	14	15	12
108.	4	7	7	237.	6	9	8	366.	10	12	13	495.	14	15	13
109.	5	2	2	238.	6	9	9	367.	10	13	10	496.	14	15	14
110.	5	2	3	239.	7	5	8	368.	10	13	11	497.	14	15	15
111.	5	2	4	240.	7	6	8	369.	10	13	12	498.	15	12	12
112.	5	2	5	241.	7	6	9	370.	10	13	13	499.	15	12	13
113.	5	2	6	242.	7	7	8	371.	11	8	8	500.	15	12	14
114.	5	2	7	243.	7	7	9	372.	11	8	9	501.	15	12	15
115.	5	3	2	244.	7	7	10	373.	11	8	10	502.	15	13	12
116..	5	3	3	245.	7	8	5	374.	11	8	11	503.	15	13	13
117.	5	3	4	246.	7	8	6	375.	11	9	8	504.	15	13	14
118.	5	3	5	247.	7	8	7	376.	11	9	9	505.	15	13	15
119.	5	3	6	248.	7	8	8	377.	11	9	10	506.	15	14	12
120.	5	3	7	249.	7	8	9	378.	11	9	11	507.	15	14	13
121.	5	4	2	250.	7	8	10	379.	11	9	12	508.	15	14	14
122.	5	4	3	251.	7	9	6	380.	11	10	8	509.	15	14	15
123.	5	4	4	252.	7	9	7	381.	11	10	9	510.	15	15	12
124.	5	4	5	253.	7	9	8	382.	11	10	10	511.	15	15	13
125.	5	4	6	254.	7	9	9	383.	11	10	11	512.	15	15	14
126.	5	4	7	255.	7	9	10	384.	11	10	12	513.	15	15	15
127.	5	5	2	256.	7	10	7	385.	11	10	13				
128.	5	5	3	257.	7	10	8	386.	11	11	8				
129.	5	5	4	258.	7	10	9	387.	11	11	9				

5. pielikums. Pigmentētu pataloģiju diagnostikai derīgās x, y un z vērtību kombinācijas

Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z
1.	2	3	2	84.	7	8	6	167.	10	10	8	250.	12	13	13
2.	2	4	2	85.	7	8	7	168.	10	10	9	251.	12	13	14
3.	2	5	2	86.	7	8	8	169.	10	10	10	252.	12	13	15
4.	2	5	3	87.	7	8	9	170.	10	10	11	253.	12	14	11
5.	2	6	2	88.	7	8	10	171.	10	10	12	254.	12	14	12
6.	2	6	3	89.	7	9	6	172.	10	10	13	255.	12	14	13
7.	2	7	2	90.	7	9	7	173.	10	11	8	256.	12	14	14
8.	2	7	3	91.	7	9	8	174.	10	11	9	257.	12	14	15
9.	3	4	3	92.	7	9	9	175.	10	11	10	258.	12	15	12
10.	3	4	4	93.	7	9	10	176.	10	11	11	259.	12	15	13
11.	3	5	3	94.	7	10	7	177.	10	11	12	260.	12	15	14
12.	3	5	4	95.	7	10	8	178.	10	11	13	261.	12	15	15
13.	3	6	3	96.	7	10	9	179.	10	12	9	262.	13	10	10
14.	3	6	4	97.	7	10	10	180.	10	12	10	263.	13	10	11
15.	3	6	5	98.	8	6	8	181.	10	12	11	264.	13	10	12
16.	3	7	3	99.	8	6	9	182.	10	12	12	265.	13	10	13
17.	3	7	4	100.	8	7	7	183.	10	12	13	266.	13	11	10
18.	3	7	5	101.	8	7	8	184.	10	13	10	267.	13	11	11
19.	4	4	4	102.	8	7	9	185.	10	13	11	268.	13	11	12
20.	4	4	5	103.	8	7	10	186.	10	13	12	269.	13	11	13
21.	4	5	4	104.	8	8	6	187.	10	13	13	270.	13	11	14
22.	4	5	5	105.	8	8	7	188.	11	8	8	271.	13	12	10
23.	4	5	6	106.	8	8	8	189.	11	8	9	272.	13	12	11
24.	4	6	4	107.	8	8	9	190.	11	8	10	273.	13	12	12
25.	4	6	5	108.	8	8	10	191.	11	8	11	274.	13	12	13
26.	4	6	6	109.	8	8	11	192.	11	9	8	275.	13	12	14
27.	4	6	7	110.	8	9	6	193.	11	9	9	276.	13	12	15
28.	4	7	4	111.	8	9	7	194.	11	9	10	277.	13	13	10
29.	4	7	5	112.	8	9	8	195.	11	9	11	278.	13	13	11
30.	4	7	6	113.	8	9	9	196.	11	9	12	279.	13	13	12
31.	4	7	7	114.	8	9	10	197.	11	10	8	280.	13	13	13
32.	5	4	5	115.	8	9	11	198.	11	10	9	281.	13	13	14
33.	5	5	5	116.	8	10	7	199.	11	10	10	282.	13	13	15
34.	5	5	6	117.	8	10	8	200.	11	10	11	283.	13	14	11
35.	5	5	7	118.	8	10	9	201.	11	10	12	284.	13	14	12
36.	5	6	5	119.	8	10	10	202.	11	10	13	285.	13	14	13
37.	5	6	6	120.	8	10	11	203.	11	11	8	286.	13	14	14
38.	5	6	7	121.	8	11	8	204.	11	11	9	287.	13	14	15
39.	5	7	4	122.	8	11	9	205.	11	11	10	288.	13	15	12
40.	5	7	5	123.	8	11	10	206.	11	11	11	289.	13	15	13
41.	5	7	6	124.	8	11	11	207.	11	11	12	290.	13	15	14

42.	5	7	7	125.	9	6	9	208.	11	11	13	291.	13	15	15
43.	6	5	6	126.	9	7	7	209.	11	11	14	292.	14	11	11
44.	6	5	7	127.	9	7	10	210.	11	12	9	293.	14	11	12
45.	6	6	6	128.	9	8	7	211.	11	12	10	294.	14	11	13
46.	6	6	7	129.	9	8	8	212.	11	12	11	295.	14	11	14
47.	6	7	5	130.	9	8	9	213.	11	12	12	296.	14	12	11
48.	6	7	6	131.	9	8	10	214.	11	12	13	297.	14	12	12
49.	6	7	7	132.	9	8	11	215.	11	12	14	298.	14	12	13
50.	7	5	7	133.	9	9	7	216.	11	13	10	299.	14	12	14
51.	7	6	6	134.	9	9	8	217.	11	13	11	300.	14	12	15
52.	7	6	7	135.	9	9	9	218.	11	13	12	301.	14	13	11
53.	7	7	6	136.	9	9	10	219.	11	13	13	302.	14	13	12
54.	7	7	7	137.	9	9	11	220.	11	13	14	303.	14	13	13
55.	5	5	8	138.	9	9	12	221.	11	14	11	304.	14	13	14
56.	5	6	8	139.	9	10	7	222.	11	14	12	305.	14	13	15
57.	5	7	8	140.	9	10	8	223.	11	14	13	306.	14	14	11
58.	5	8	8	141.	9	10	9	224.	11	14	14	307.	14	14	12
59.	5	8	5	142.	9	10	10	225.	12	9	9	308.	14	14	13
60.	5	8	6	143.	9	10	11	226.	12	9	10	309.	14	14	14
61.	5	8	7	144.	9	10	12	227.	12	9	11	310.	14	14	15
62.	5	8	8	145.	9	11	8	228.	12	9	12	311.	14	15	12
63.	6	5	8	146.	9	11	9	229.	12	10	9	312.	14	15	13
64.	6	6	8	147.	9	11	10	230.	12	10	10	313.	14	15	14
65.	6	6	9	148.	9	11	11	231.	12	10	11	314.	14	15	15
66.	6	7	8	149.	9	11	12	232.	12	10	12	315.	15	12	12
67.	6	7	9	150.	9	12	9	233.	12	10	13	316.	15	12	13
68.	6	8	5	151.	9	12	10	234.	12	11	9	317.	15	12	14
69.	6	8	6	152.	9	12	11	235.	12	11	10	318.	15	12	15
70.	6	8	7	153.	9	12	12	236.	12	11	11	319.	15	13	12
71.	6	8	8	154.	10	7	8	237.	12	11	12	320.	15	13	13
72.	6	8	9	155.	10	7	10	238.	12	11	13	321.	15	13	14
73.	6	9	6	156.	10	8	8	239.	12	11	14	322.	15	13	15
74.	6	9	7	157.	10	8	9	240.	12	12	9	323.	15	14	12
75.	6	9	8	158.	10	8	10	241.	12	12	10	324.	15	14	13
76.	6	9	9	159.	10	8	11	242.	12	12	11	325.	15	14	14
77.	7	5	8	160.	10	9	7	243.	12	12	12	326.	15	14	15
78.	7	6	8	161.	10	9	8	244.	12	12	13	327.	15	15	12
79.	7	6	9	162.	10	9	9	245.	12	12	14	328.	15	15	13
80.	7	7	8	163.	10	9	10	246.	12	12	15	329.	15	15	14
81.	7	7	9	164.	10	9	11	247.	12	13	10	330.	15	15	15
82.	7	7	10	165.	10	9	12	248.	12	13	11				
83.	7	8	5	166.	10	10	7	249.	12	13	12				

6. pielikums. Vaskulāru pataloģiju diagnostikai derīgās x, y un z vērtību kombinācijas

Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z	Nr.p.k.	x	y	z
1.	4	2	2	29.	6	3	6	57.	10	7	7	86.	14	11	11
2.	4	2	3	30.	6	3	7	58.	10	7	8	87.	14	11	12
3.	4	2	4	31.	7	2	2	59.	10	7	9	88.	14	11	13
4.	4	2	5	32.	7	2	3	60.	10	7	10	89.	14	11	14
5.	4	2	6	33.	7	2	4	61.	11	8	8	90.	14	12	11
6.	4	2	7	34.	7	2	5	62.	11	8	9	91.	14	12	12
7.	5	2	2	35.	7	2	6	63.	11	8	10	92.	14	12	13
8.	5	2	3	36.	7	2	7	64.	11	8	11	93.	14	12	14
9.	5	2	4	37.	7	3	2	65.	11	9	10	94.	14	12	15
10.	5	2	5	38.	7	3	3	66.	11	10	8	95.	14	13	11
11.	5	2	6	39.	7	3	4	67.	11	10	9	96.	14	13	12
12.	5	2	7	40.	7	3	5	68.	12	9	9	97.	14	14	12
13.	5	3	2	41.	7	3	6	69.	12	9	10	98.	15	12	12
14.	5	3	3	42.	7	3	7	70.	12	9	11	99.	15	12	13
15.	5	3	4	43.	7	4	2	71.	12	9	12	100.	15	12	14
16.	5	3	5	44.	7	4	3	72.	12	10	9	101.	15	12	15
17.	5	3	6	45.	7	4	4	73.	12	10	10	102.	15	13	12
18.	5	3	7	46.	7	4	5	74.	12	10	13	103.	15	13	13
19.	6	2	2	47.	7	4	6	75.	13	10	10	104.	15	13	14
20.	6	2	3	48.	7	4	7	76.	13	10	11	105.	15	13	15
21.	6	2	4	49.	8	5	5	77.	13	10	12	106.	15	14	12
22.	6	2	5	50.	8	5	6	78.	13	10	13	107.	15	14	13
23.	6	2	6	51.	8	5	7	79.	13	11	10	108.	15	14	14
24.	6	2	7	52.	8	5	8	80.	13	11	11	109.	15	14	15
25.	6	3	2	53.	9	6	6	81.	13	11	12	110.	15	15	12
26.	6	3	3	54.	9	6	7	82.	13	11	13				
27.	6	3	4	55.	9	6	8	83.	13	11	14				
28.	6	3	5	56.	9	6	9	84.	13	12	11				

3x3 Technique for RGB Snapshot Mapping of Skin Chromophores

Janis Spigulis and Ilze Oshina

*Biophotonics Laboratory, Institute of Atomic Physics and Spectroscopy
University of Latvia, Raina Blvd. 19, Riga, LV-1586, Latvia
Author e-mail address: janispi@latnet.lv*

Abstract: Three monochromatic spectral images have been extracted from a single RGB image data set at simultaneous illumination of skin by 473nm, 532nm and 609nm spectral lines. They were further transformed into distribution maps of three skin chromophores - melanin, oxy-hemoglobin and deoxy-hemoglobin, related to pigmented and vascular skin malformations. Performance and clinical potential of the proposed 3x3 technique is discussed.

OCIS codes: (170.3880) Medical and biological imaging; (170.1870) Dermatology; (170.6935) Tissue characterization; (110.4234) Multispectral and hyperspectral imaging; (100.2000) Digital image processing; (170.0110) Imaging systems; (170.2945) Illumination design.

1. Introduction

Fast and reliable imaging of spectral reflectance is an important issue at a range of application areas including skin chromophore mapping for express-diagnostics, recovery monitoring, forensic evaluation, etc. [1-6]. The shorter is acquisition time of the spectral image data set, the lower is probability of image motion artefacts to be corrected afterwards. From the other hand, the narrower are the selected spectral bands, the higher is performance and reliability of spectral imaging and the subsequent parametric mapping. Therefore single snapshot monochromatic spectral imaging at several fixed wavelengths seems to be a promising technology for fast and reliable parametric imaging of skin with potentially wide clinical applications.

Snapshot narrowband spectral imaging by means of additional dispersive elements in front of the image sensors have been reported previously [7,8]. This approach, however, excludes direct use of conventional RGB image sensors that are widely available in consumer cameras, mobile phones, computers, web cameras, etc. RGB snapshot chromophore mapping based on skin color analysis without any additional elements was demonstrated in [9]. Drawback of this approach is complicated processing procedure that involves conversion of the tri-stimulus values of the CIE *XYZ* color system into the corresponding RGB values and solution of complicated integral equations comprising skin chromophore absorption bands. Such processing is time/resource-consuming and very sensitive to the measurement and calculation errors.

Alternatively, extraction of several spectral images from a single RGB image data set by exploiting the spectral features of the image sensor and/or spectrally specific illumination of the target have been proposed and discussed recently [10-14]. Snapshot RGB mapping of skin hemoglobin at dual-wavelength laser illumination was first demonstrated in [10]; performance of this technique can be further improved by the corresponding RGB crosstalk corrections [12]. As concluded in [14], uniform illumination simultaneously at three fixed wavelengths theoretically allows mapping the spectral reflectance of the target (e.g. skin) at each of these wavelengths by processing of a single RGB image data set. Solutions of relatively simple linear equations are suitable for image processing in this case, which is advantageous compared to [9] from the point of accuracy and rational use of time and computing resources.

This concept (provisionally called “3x3 technique”) was experimentally validated in the presented study for snapshot mapping of three main skin chromophores - melanin, oxy-hemoglobin and deoxy-hemoglobin. Monochromatic images at the illumination wavelengths 473nm, 532nm and 609nm were successfully extracted from single RGB image cubes of color targets and in-vivo skin with pigmented and vascular lesions. The obtained set of spectral images was further converted into the distribution maps of three above-mentioned skin chromophores.

2. The concept

Basic concept of the proposed technique was described in details earlier [14]. Generally, if the target illumination spectrum comprises only a limited number of narrow spectral lines with fixed wavelengths, monochromatic spectral images at these wavelengths can be extracted from a single snapshot RGB image data set by separate registration of the R, G and B output values from each image pixel. Subsequent mapping of the spectral reflectance at each of the illumination wavelengths is possible this way, if the following pre-conditions are met:

- (i) the RGB spectral sensitivity curves of the image sensor are known - given by the manufacturer or directly measured,
- (ii) they are uniform - the same for all pixels over the whole area of the RGB image sensor,
- (iii) linear photovoltaic responses at all three detection channels (R, G and B) are ensured,
- (iv) the image field comprises a white reference reflector, related to a particular pixel group of the image.

Mapping of spectral reflectance at three chosen wavelengths (473nm, 532nm, 659nm) was the first goal of this study. Spectral reflectance k_i is defined as the ratio $I(\lambda)/I_0(\lambda)$, where $I(\lambda)$ is the intensity of radiation reflected from the target at the specified wavelength λ , and $I_0(\lambda)$ - the intensity of radiation, reflected at this wavelength from a non-absorbing white reference, located at same distance from the photo-detector. If the pre-conditions (i)-(iv) are met, relatively simple linear equations describe RGB digital output signals of the image sensor [14]. The main variables influencing the results are ratios of the spectral sensitivities of each detection band (R, G and B) at the three defined wavelengths and the measured output signals of the R-, G- and B-channel from the pixels located in the target zone and in the white reference zone. In result, crosstalk-corrected spectral reflectance images at the three specified wavelengths were constructed.

The second goal was to convert the obtained set of three monochromatic images into distribution maps of skin melanin, oxy-hemoglobin and deoxy-hemoglobin. Three-chromophore skin model [4,5] based on the Beer-Lambert law leads to the following system of 3 equations to be applied for each x-y pixel of the three spectral images:

$$\begin{cases} c_a \cdot \varepsilon_a(\lambda_1) + c_b \cdot \varepsilon_b(\lambda_1) + c_c \cdot \varepsilon_c(\lambda_1) = -\frac{\ln k_1}{l_1} \\ c_a \cdot \varepsilon_a(\lambda_2) + c_b \cdot \varepsilon_b(\lambda_2) + c_c \cdot \varepsilon_c(\lambda_2) = -\frac{\ln k_2}{l_2} \\ c_a \cdot \varepsilon_a(\lambda_3) + c_b \cdot \varepsilon_b(\lambda_3) + c_c \cdot \varepsilon_c(\lambda_3) = -\frac{\ln k_3}{l_3} \end{cases} \quad (1),$$

where k_i - spectral reflectance at the wavelength λ_i ($\lambda_1 = 473\text{nm}$, $\lambda_2 = 532\text{nm}$, $\lambda_3 = 659\text{nm}$), l_i - wavelength-dependent mean optical path length, $\varepsilon(\lambda_i)$ - extinction coefficient of the specified chromophore (a - oxy-hemoglobin, b - deoxy-hemoglobin, c - melanin) at the i -wavelength, c_j - relative concentration of the chromophore to be mapped ($j = a, b$ or c).

Tabulated values of spectrally-dependent extinction coefficients of melanin and hemoglobin [15,16] at the three specified wavelengths were used in calculations. As for the absorption path lengths, several options have been tested with respect to the skin anatomy and different mean light penetration depths δ in the skin [17]. The 473nm radiation ($\delta \sim 190\mu$) can be absorbed mainly by skin melanin within the epidermal layer of thickness 150-200 μ [18], but also some absorption by the hemoglobin of upper dermal blood vessels has to be taken into account. The two other exploited wavelengths (532nm, $\delta \sim 328\mu$ and 609nm, $\delta \sim 655\mu$) are both notably absorbed by epidermal melanin and dermal hemoglobin. Our analysis showed that reasonable results can be obtained with estimated path length 4 δ in all cases but for 473nm absorption by hemoglobin, where $l = 2\delta$ appeared to be good approximation.

Solution of the system (1) for each image pixel at the above-mentioned conditions and embedded numerical data concerning the nine extinction coefficients [15,16] is:

$$c_a = 0.145 \cdot \ln k_3 - 0.033 \cdot \ln k_2 - 0.024 \cdot \ln k_1 \quad (2),$$

$$c_b = -0.128 \cdot \ln k_3 - 0.024 \cdot \ln k_2 + 0.057 \cdot \ln k_1 \quad (3),$$

$$c_c = -0.738 \cdot \ln k_3 + 0.408 \cdot \ln k_2 - 0.806 \cdot \ln k_1 \quad (4).$$

Expressions (2-4) were further used for mapping skin oxy-hemoglobin, deoxy-hemoglobin and melanin, respectively.

3. Measurement setup

To validate the above-proposed model, series of RGB image measurements from a color target and human skin were taken. The imaging setup comprised an objective-supplied CMOS camera (*USB 2 UI-1226LE-C*, IDS with known RGB sensitivity curves [19]) and three stabilized cw laser modules (473 nm, MBL-III-473; 532 nm, DD532-10- 5; 659 nm, DB650-12-3(5)) with comparable output powers in the range 10...15 mW. Each laser output beam was launched in a SMA-terminated bundle of 7 fibers with silica core diameter 400 microns; their outputs formed an illumination ring (composed of 21 randomly distributed emitting fiber ends) around the camera objective. Every laser module could be independently switched on and off. The target plane was located 50mm from the CMOS objective lens. Uniformity of target illumination was ensured by a toroidal lens in front of the emitter ring. Polarizing film was placed behind the lens, and a film with orthogonal polarization direction - in front of the camera objective. Laser output powers and the exposition time of CMOS sensor were carefully adjusted to provide linearity of photovoltaic response at all spectral combinations used in the experiments. All automatic features of the CMOS

image sensor were switched off. Flat paper target composed of four color segments (red, green, blue and white) was used for primary calibration of the system, like in the previous study [14]. The colors were selected to assure a unique spectral image pattern at each illumination wavelength that allowed comparing the “true” spectral images (under illumination of a single laser line) with those extracted from the RGB image data set under simultaneous illumination by three different laser lines. The illumination and recording conditions were optimized with respect to such comparison. After that, the color target was replaced by healthy or pathological in-vivo skin areas in order to map the distributions of three skin chromophores.

4. Results

Fig.1 illustrates the obtained chromophore distribution maps for a pigmented skin nevus. One can see increased melanin content in the malformation area and practically unchanged oxy- and deoxy-hemoglobin content. In the cases of vascular pathologies notable changes in oxy- and deoxy-hemoglobin content were recorded instead.

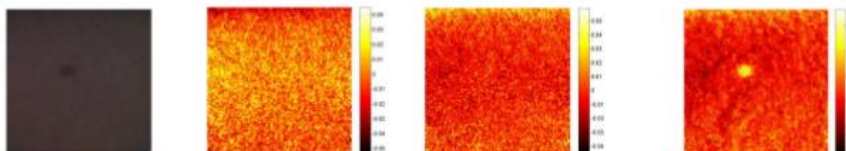


Fig.1. Left to right: skin nevus image, oxy-hemoglobin map, deoxy-hemoglobin map and melanin map.

The obtained results demonstrate snapshot mapping of three major skin chromophores by conventional RGB image sensors using the proposed 3x3 technique. They confirm the technical challenge to apply consumer digital RGB cameras for fast and reliable express-diagnostics of skin by adding an adjusted poly-chromatic illumination source and appropriate software. Direct use of all registered R, G and/or B pixel output signal values with subsequent corrections of the spectral RGB inter-channel crosstalk is a fast, cost-efficient and robust way to compose spectral images in situations when spectrally specific target illumination is available. The proposed approach may be further extended for parametric mapping of other diagnostic criteria of skin and other bio-tissues.

This work was supported by the European Regional Development Fund project “Innovative technologies for optical skin diagnostics” (#2014/0041/2DP/2.1.1.0/14/APIA/VIAA/015) and by the Latvian National research program SOPHIS under the grant agreement # 10-4/VPP-4/11.

5. References

- [1] L. Randeberg, E. Larsen, L. Svaasand, “Characterization of vascular structures and skin bruises using hyperspectral imaging, image analysis and diffusion theory”, *J. Biophoton.* **3**, 53–65 (2010).
- [2] D. Yudovsky, A. Nuvong, K. Schomacker, L. Pilon, “Assessing diabetic foot ulcer development risk with hyperspectral tissue oximetry”, *J. Biomed. Opt.* **16**, 026009 (2011).
- [3] G.N. Stamatias, N. Kollias, “In vivo documentation of cutaneous inflammation using spectral imaging”, *J. Biomed. Opt.* **12**, 051603 (2007).
- [4] D. Jakovels, J. Spigulis, “2-D mapping of skin chromophores in the spectral range 500-700 nm”, *J. Biophoton.* **3**, 125-129 (2010).
- [5] I. Kuzmina, I. Diebele, D. Jakovels, J. Spigulis, L. Valaine, J. Kaposinsh, A. Berzina, “Towards noncontact skin melanoma selection by multispectral imaging analysis”, *J. Biomed. Opt.* **16**, 060502 (2011).
- [6] D. Jakovels, U. Rubins, J. Spigulis, “RGB imaging system for mapping and monitoring of hemoglobin distribution in skin”, *Proc. SPIE* **8158**, 81580R (2011).
- [7] L. Kong, D. Yi, S. Sprigle, F. Wang, C. Wang, F. Liu, A. Adibi, R. Tummala, “Single sensor that outputs narrowband multispectral images”, *J. Biomed. Opt.* **15**, 010502 (2010).
- [8] W.R. Johnson, D.W. Wilson, W. Fink, M. Humayun, G. Bearman, “Snapshot hyperspectral imaging in ophthalmology”, *J. Biomed. Opt.* **12**, 014036 (2007).
- [9] I.Nishidate, K.Sasaoka, T.Yuasa, K.Niizeki, T.Maeda, Y.Aizu. Visualizing of skin chromophore concentrations by use of RGB images. *Opt.Lett.*, **33**(19), 2263-2271 (2008).
- [10] J. Spigulis, D. Jakovels, U. Rubins, “Multi-spectral skin imaging by a consumer photo-camera”, *Proc. SPIE* **7557**, 75570M (2010).
- [11] J. Spigulis, D. Jakovels, U. Rubins, “Method and device for multi-spectral imaging by means of a digital RGB sensor”, WO 2012/002787 A1 (2012).
- [12] J.Spigulis, D.Jakovels, L.Elste, “Towards single snapshot multispectral skin assessment.” *Proc. SPIE* **8216**, 82160L (2012).
- [13] J.Spigulis, L.Elste, “Method and device for imaging of spectral reflectance at several wavelength bands”, PCT/EP2012/063889 (2012).
- [14] J.Spigulis, L.Elste, “Single snapshot RGB multispectral imaging at fixed wavelengths: proof of concept”, *Proc. SPIE*, **8937**, 89370L (2014).
- [15] S. Prah, Tabulated Molar Extinction Coefficient for Hemoglobin in Water, <http://omlc.ogi.edu/spectra/hemoglobin/summary.html>.
- [16] T. Sarna and H. M. Swartz, “The physical properties of melanin,” <http://omlc.ogi.edu/spectra/melanin/eumelanin.html>.
- [17] R. R. Anderson, J. A. Parrish. The Optics of Human Skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 1981, pp. 13–18.
- [18] Stenn K S The skin *Cell and Tissue Biology* ed L Weiss (Baltimore: Urban & Shwarzenberg) pp 541–72 (1988).
- [19] IDS Imaging Development Systems GmbH, Technical data of CMOS camera model USB 2 UI-1226LE-C, http://www.ids-imaging.de/frontend/products.php?cam_id=12.

8. pielikums. Stenda referāts konferencē „Developments in Optics and Communications 2015”

Snapshot mapping of skin chromophores at triple-wavelength illumination

Ilze Oshina, Janis Spigulis

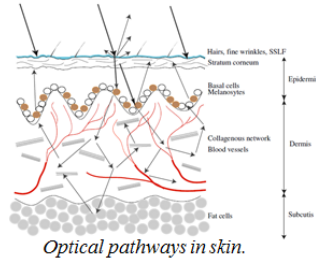
Biophotonics Laboratory, Institute of Atomic Physics and Spectroscopy,
University of Latvia, Rainis blvd. 19, Riga, LV-1586, Latvia
E-mail: osina.ilze@gmail.com



Introduction

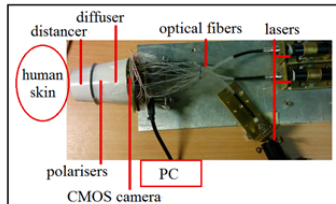
Skin chromophore distribution provides diagnostic information in cases of pigmented and vascular malformations, burns, bruises and other malformations. We propose a technique for immediate snapshot mapping of skin melanin, oxy-hemoglobin and deoxy-hemoglobin by means of RGB camera and illumination by three discrete spectral lines.

Methods



Optical pathways in skin.

When the light reaches skin, part of it is reflected at the surface. Another part of the light is absorbed by melanin in the epidermis or scattered by collagen fibers and absorbed by hemoglobin in the dermis.



The experimental setup

Monochromatic spectral images at the illumination wavelengths 473nm, 532nm and 659nm were extracted from single RGB image data set by separate registration of the R, G and B output values from each image pixel.

First we map spectral reflectance k_λ at three chosen wavelengths. Spectral reflectance is the ratio between the intensity of radiation reflected from the target at the specified wavelength $I(\lambda)$ and the intensity of radiation, reflected at this wavelength from a non-absorbing white reference $I_0(\lambda)$.

Second we convert these three monochromatic images into distribution maps of skin oxy-hemoglobin, deoxy-hemoglobin and melanin. To do that we use system of 3 equations based on the Beer-Lambert law:

$$\begin{cases} c_a \cdot \varepsilon_a(\lambda_1) + c_b \cdot \varepsilon_b(\lambda_1) + c_c \cdot \varepsilon_c(\lambda_1) = -\frac{\ln k_1}{l_1} \\ c_a \cdot \varepsilon_a(\lambda_2) + c_b \cdot \varepsilon_b(\lambda_2) + c_c \cdot \varepsilon_c(\lambda_2) = -\frac{\ln k_2}{l_2} \\ c_a \cdot \varepsilon_a(\lambda_3) + c_b \cdot \varepsilon_b(\lambda_3) + c_c \cdot \varepsilon_c(\lambda_3) = -\frac{\ln k_3}{l_3} \end{cases}$$

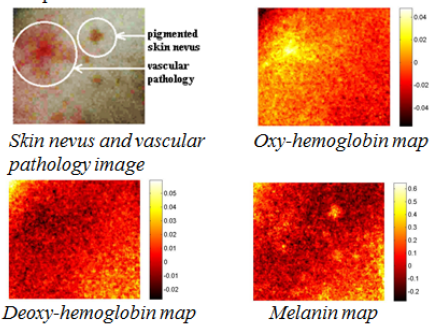
c_i - relative concentration of the chromophore
(a - oxy-hemoglobin, b - deoxy-hemoglobin, c - melanin),
 $\varepsilon_i(\lambda_j)$ - extinction coefficient of the specified chromophore
($i = a, b, c$) at j -wavelength ($1 = 473 \text{ nm}, 2 = 532 \text{ nm}, 3 = 659 \text{ nm}$),
 k_j - spectral reflectance,
 l_j - wavelength-dependent mean optical path length ($j = 1, 2, 3$).

Results

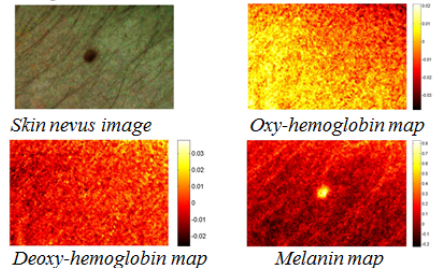
As a result, vascular pathologies showed notable changes in oxy- and deoxy-hemoglobin content, but practically unchanged melanin content. On the other hand, pigmented malformation area showed increased melanin content and unchanged oxy- and deoxy-hemoglobin content.

The color scales in images below represent chromophores concentrations measured $10^{-2} \cdot \text{mol/L}$.

Example 1.



Example 2.



Discussions

This method can be used in digital RGB cameras for fast and reliable express-diagnostics of skin by adding an adjusted poly-chromatic illumination source and appropriate software.

Acknowledgments

This work was supported by the European Regional Development Fund project "Innovative technologies for optical skin diagnostics" (#2014/0041/2DP/2.1.1.1.0/14/APIA/VIAA/015) and by the Latvian National research program SOPHIS under the grant agreement # 10-4/VPP-4/11.

9. pielikums. Publikācija: J. Spigulis, I. Oshina, *Snapshot RGB mapping of skin melanin and hemoglobin*, J Biomed Opt. 2015 May 1;20(5):50503. doi: 10.1117/1.JBO.20.5.050503.

Journal of Biomedical Optics

BiomedicalOptics.SPIEDigitalLibrary.org

Snapshot RGB mapping of skin melanin and hemoglobin

Janis Spigulis
Ilze Oshina

SPIE.

Downloaded From: <http://biomedicaloptics.spiedigitallibrary.org/> on 05/22/2015 Terms of Use: <http://spiedigitallibrary.org/terms>

Snapshot RGB mapping of skin melanin and hemoglobin

Janis Spigulis* and Ilze Oshina

University of Latvia, Institute of Atomic Physics and Spectroscopy, Biophotonics Laboratory, Raina Boulevard 19, Riga, LV-1586, Latvia

Abstract. The concept of snapshot red-green-blue (RGB) multispectral imaging was applied for skin chromophore mapping. Three monochromatic spectral images have been extracted from a single RGB image dataset at simultaneous illumination of skin by 473-, 532-, and 659-nm laser lines. The spectral images were further transformed into distribution maps of skin melanin, oxyhemoglobin, and deoxyhemoglobin, related to pigmented and vascular skin malformations. The performance and clinical potential of the proposed technique are discussed. © 2015 Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers (SPIE) [DOI: 10.1117/1.JBO.20.5.050503]

Keywords: skin chromophore mapping; multispectral imaging; multi-laser illumination.

Paper 150123LR received Mar. 2, 2015; accepted for publication Apr. 22, 2015; published online May 20, 2015.

1 Introduction

Fast imaging of spectral reflectance is an important issue for a range of application areas including skin chromophore mapping for express diagnostics, recovery monitoring, forensic evaluation, and so on.¹⁻⁶ The shorter the image acquisition time, the lower is the probability of motion artifacts to be corrected afterward. The narrower are the selected spectral bands, the higher is the performance and reliability of spectral imaging and the subsequent parametric mapping. Consequently, single snapshot monochromatic spectral imaging at several fixed wavelengths represents a promising technique for fast and reliable parametric imaging of skin.

Snapshot narrowband spectral imaging by means of additional dispersive elements in front of the image sensors has been reported previously.^{7,8} This approach, however, is costly and excludes direct use of conventional red-green-blue (RGB) cameras, e.g., those embedded in PCs and smartphones. Recently, colorimetric analysis of human tissues showed promising results.⁹ RGB snapshot chromophore mapping based on skin color analysis without any additional hardware was also demonstrated.¹⁰ The complicated processing procedure (conversion of color coordinates, solution of integral equations comprising skin chromophore absorption spectra), being time/resource consuming and very sensitive to the measurement and calculation errors, is the main drawback of this approach. Therefore, alternative solutions excluding the need for colorimetric conversions are of interest for technicians and clinicians.

Extraction of several spectral images from a single RGB image dataset by exploiting the spectral features of the image sensor and/or spectrally specific illumination of the target was proposed and discussed recently.¹¹⁻¹⁵ Snapshot RGB mapping of skin hemoglobin at dual-wavelength laser illumination has been demonstrated;¹¹ performance of this technique can be further improved by the corresponding RGB band crosstalk corrections.¹³ Uniform illumination simultaneously at three fixed wavelengths allows extracting three monochromatic spectral images from a single RGB image dataset.¹⁵ In this case, solutions of relatively simple linear equations may ensure fast image processing and mapping of three main skin chromophores. An experimental study aiming to check the viability of this concept is described below.

2 Methods

2.1 Concept

The presented approach exploits only the spectral features of the image sensor R, G, and B detection bands, avoiding any transformations to the color systems like $L^*a^*b^*$ or RGB gamut. Basic principles of the proposed technique were described in detail earlier.¹⁵ Generally, if the target illumination spectrum comprises only a limited number of narrow spectral lines with fixed wavelengths, monochromatic spectral images at these wavelengths can be extracted from a single snapshot RGB image dataset by separate registration of the R, G, and B output values from each image pixel or specified pixel group. Subsequent mapping of the spectral reflectance at each of the illumination wavelengths is possible this way if the following preconditions are met: (1) the RGB spectral sensitivity curves of the image sensor are known—given by the manufacturer or directly measured, (2) they are uniform—the same for all pixels over the whole area of the RGB image sensor, (3) linear photovoltaic responses at all three detection channels (R, G, and B) are ensured, (4) the image field comprises a reference reflector, related to a particular pixel group of the image.

2.2 Measurement Setup

The measurement setup comprised an objective-supplied CMOS camera (*USB 2 UI-1226LE-C*, IDS with known RGB sensitivity curves^{13,16}) and three stabilized continuous wave laser modules [473 nm, MBL-III-473; 532 nm, DD532-10-5; and 659 nm, DB650-12-3(5)] with comparable output powers in the range 10 to 15 mW. Each laser output beam was launched into a bundle of seven optical fibers with silica core diameter of 400 μm , mounted within the SMA-standard connector; their outputs formed an illumination ring, composed of 21 randomly distributed emitting fiber ends around the camera objective. Each laser module could be independently switched on and off. The target plane was located 50 mm from the CMOS objective lens. Uniformity of target illumination was enhanced by a toroidal lens in front of the emitter ring. Polarizing film was placed behind this lens, a film with orthogonal polarization direction—in front of the camera objective, in order to minimize the specular reflection from the target. Laser output powers and the exposition time of the CMOS sensor were carefully adjusted to provide linearity of the photoresponse at all spectral combinations used in the experiments. All automatic features of the

*Address all correspondence to: Janis Spigulis, E-mail: janis.spigulis@lu.lv

1083-3668/2015/\$25.00 © 2015 SPIE

CMOS image sensor were switched off. A flat paper target composed of four color segments (red, green, blue, and white) was used for primary calibration of the system as in the previous study.¹⁵ The colors were selected to ensure a unique spectral image pattern at each illumination wavelength; that allowed comparing the “true” spectral images (under illumination of a single laser line) with those extracted from the RGB image dataset under simultaneous illumination by three different laser lines. The illumination and recording conditions were optimized with respect to such comparisons. After that, the color target was replaced by healthy or pathological *in vivo* skin areas in order to map the distributions of three skin chromophores. Altogether 10 skin malformations (5 pigmented and 5 vascular, all confirmed by dermatologist) were examined under approval of the local ethics committee.

2.3 Image Processing

Mapping of skin spectral reflectance at the three chosen wavelengths was the first goal of this study. If preconditions (1)–(4) are met, relatively simple linear equations describe the RGB digital output signals of the image sensor.¹⁵ The main variables influencing the results are ratios of the spectral sensitivities of each detection band (R, G, and B) at the three defined wavelengths and the measured output signals of the R-, G-, and B-channel from the pixels located in the target zone and in the reference zone. Areas of pigmented and vascular skin malformations were chosen to be the target zones in this study, while the adjacent skin areas served as reference zones. As a result, RGB cross-talk-corrected images of relative spectral reflectance at the three specified wavelengths were constructed.

The second goal was to convert the obtained set of three monochromatic images into distribution maps of skin melanin, oxyhemoglobin, and deoxyhemoglobin. The three-chromophore skin model^{4,5} based on the Beer–Lambert law leads to the following system of three equations to be applied for each $x - y$ pixel of the three spectral images:

$$\begin{cases} c_a \cdot \epsilon_a(\lambda_1) + c_b \cdot \epsilon_b(\lambda_1) + c_c \cdot \epsilon_c(\lambda_1) = -\frac{\ln k_1}{l_1} \\ c_a \cdot \epsilon_a(\lambda_2) + c_b \cdot \epsilon_b(\lambda_2) + c_c \cdot \epsilon_c(\lambda_2) = -\frac{\ln k_2}{l_2} \\ c_a \cdot \epsilon_a(\lambda_3) + c_b \cdot \epsilon_b(\lambda_3) + c_c \cdot \epsilon_c(\lambda_3) = -\frac{\ln k_3}{l_3} \end{cases}, \quad (1)$$

where k_i is the relative spectral reflectance at the wavelength λ_i ($\lambda_1 = 473$ nm, $\lambda_2 = 532$ nm, $\lambda_3 = 659$ nm), l_i is the mean optical path length at the particular wavelength, $\epsilon(\lambda_i)$ is the extinction coefficient of the specified chromophore (a —oxyhemoglobin, b —deoxyhemoglobin, and c —melanin) at the i wavelength, and c_j is the relative concentration of the chromophore to be mapped ($j = a, b, \text{ or } c$).

Tabulated values of the extinction coefficients of hemoglobin¹⁷ and melanin¹⁸ at the three specified wavelengths were used in calculations. As for the absorption path lengths, several options have been considered with respect to skin anatomy and different mean light penetration depths δ in the skin.¹⁹ The 473-nm radiation ($\delta = 190 \mu\text{m}$) can be absorbed mainly by skin melanin within the epidermal layer of thickness ~ 150 to $200 \mu\text{m}$,²⁰ but also some absorption by the hemoglobin of upper dermal blood vessels has to be taken into account at this wavelength. The two other exploited wavelengths penetrated deeper (532 nm, $\delta = 330 \mu\text{m}$ and 659 nm, $\delta = 660 \mu\text{m}$) and could be more notably absorbed by dermal hemoglobin. Our analysis showed that reasonable results can be obtained with an

estimated path length 4δ in all cases except for the 473-nm absorption by hemoglobin, where $l = 2\delta$ appeared to be a good approximation.

The solution of Eq. (1) for each image pixel at the above-mentioned conditions and embedded numerical data comprising the nine extinction coefficients^{17,18} is the following:

$$c_a = 0.145 \cdot \ln k_3 - 0.033 \cdot \ln k_2 - 0.024 \cdot \ln k_1, \quad (2)$$

$$c_b = -0.128 \cdot \ln k_3 - 0.024 \cdot \ln k_2 + 0.057 \cdot \ln k_1, \quad (3)$$

$$c_c = -0.738 \cdot \ln k_3 + 0.408 \cdot \ln k_2 - 0.806 \cdot \ln k_1. \quad (4)$$

Equations (2) to (4) were further used for mapping skin oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, and melanin, respectively.

To summarize, the image processing comprised the following steps:

1. Splitting the original color image into its three RGB channels.
2. Extracting the background normal skin area and calculating the mean value for each RGB channel.
3. Extracting the region of interest.
4. Calculating the mean values of the normal skin at the three specified wavelengths by using the RGB cross-talk correction algorithm.¹⁵
5. Calculating the values of relative spectral reflectances.
6. Calculating the chromophore concentrations in every pixel of the image using Eqs. (2) to (4) to compose the chromophore maps.

3 Results and Discussion

The obtained chromophore maps for the same malformation type (pigmented or vascular) showed similar features, therefore, only one typical set of chromophore maps for each malformation type is illustrated in Fig. 1. Units of the color bars are $10^{-2} \bullet \text{mol/L}$.

The obtained chromophore maps are in qualitative agreement with the physiologically expected distributions of chromophores in the regarded skin malformations. In the case of vascular pathology (upper row), blood oxyhemoglobin content in the malformation region has increased (lighter spot) due to additional supply of arterial blood in the damaged dermal zone, deoxyhemoglobin content correspondingly decreased compared with the adjacent skin (darker spot), and melanin content in the epidermal layer remained practically unchanged. In the case of pigmented pathology (lower row), a pronounced increase of epidermal melanin content (lighter spot) is observed without significant changes in the oxy- and deoxyhemoglobin contents in the dermal blood vessels, as one could expect.

The color scales represent the relative increase or decrease of the chromophore concentrations with respect to their mean values in the surrounding healthy skin. Eventually, quantitative estimation of chromophore concentrations may also become possible after cross-validation with calibrated skin phantoms. Meanwhile, presentation of chromophore maps in relative units with respect to healthy skin of the same body region seems to be better adapted for clinical use (especially for early-stage

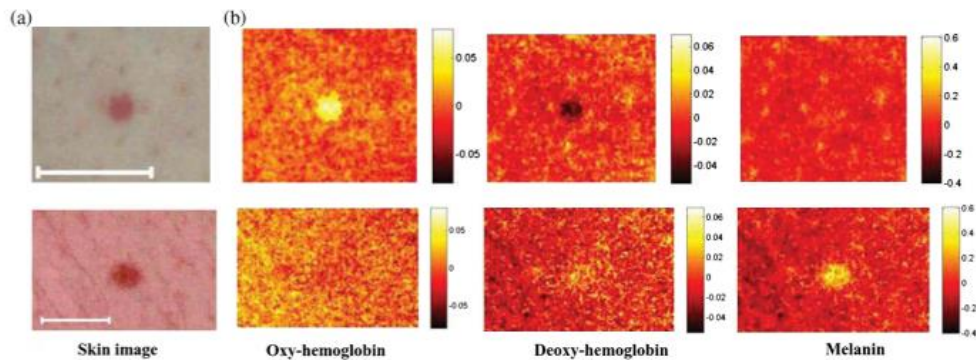


Fig. 1 (a) Skin image at trichromatic laser illumination and (b) distribution maps of three skin chromophores for vascular (upper row) and pigmented (lower row) skin malformations. Scale bar on (a) 1 cm.

assessment and recovery monitoring), if compared with approximate estimation of absolute concentrations of chromophores. Even if reliable reference phantoms become available, in reality, the reflectance calibration results may appear mistaken due to the large variety of skin colors and anatomic features, e.g., different thicknesses of the melanin-containing epidermis at different sites of the body.

The character of chromophore distribution at the surrounding skin tissue in both cases is rather uneven or grainy. At the current stage, it is not clear how far it reflects the real distribution of the particular chromophores and how far it is influenced by the laser illumination speckles. Nevertheless, the obtained contrast at the malformation regions was high enough to reliably separate healthy and pathologic skin areas in the chromophore maps. To summarize, the proposed noncontact express-technique adequately reflected skin chromophore distributions and may find clinical applications for primary diagnostics of skin lesions, as well as for monitoring of skin recovery processes after surgeries, burns, bruises, and other interventions.

4 Conclusions

The obtained results demonstrated adequate mapping of skin melanin and hemoglobin by the single-shot RGB technique, thus confirming viability of the previously proposed concept.¹⁵ To the author's knowledge, this was the first experimental validation of skin chromophore snapshot RGB mapping under triple wavelength illumination. Clear advantages of this approach are the simplicity of the procedure (single snapshot), wide access of suitable consumer RGB cameras (e.g., smartphone cameras) and fast image processing by means of linear polynomials [Eqs. (2)–(4)] comprising three measurable parameters per pixel. The results also highlighted the ways for further improvements. Main items to be solved in future are calibration of the chromophore content in distribution maps and development of handy triple-wavelength light sources ensuring uniform skin illumination. A more sophisticated three laser illumination system design is in progress, as well as an alternative speckle-free illumination system.

Acknowledgments

This work was supported by the European Regional Development Fund project "Innovative technologies for optical skin diagnostics" (#2014/0041/2DP/2.1.1.1.0/14/APIA/VIAA/015).

References

1. L. Randeberg, E. Larsen, and L. Svaasand, "Characterization of vascular structures and skin bruises using hyperspectral imaging, image analysis and diffusion theory," *J. Biophotonics* **3**, 53–65 (2010).
2. D. Yudovsky et al., "Assessing diabetic foot ulcer development risk with hyperspectral tissue oximetry," *J. Biomed. Opt.* **16**, 026009 (2011).
3. G. N. Stamatias and N. Kollias, "In vivo documentation of cutaneous inflammation using spectral imaging," *J. Biomed. Opt.* **12**, 051603 (2007).
4. D. Jakovels and J. Spigulis, "2-D mapping of skin chromophores in the spectral range 500–700 nm," *J. Biophotonics* **3**, 125–129 (2010).
5. I. Kuzmina et al., "Towards noncontact skin melanoma selection by multispectral imaging analysis," *J. Biomed. Opt.* **16**, 060502 (2011).
6. D. Jakovels, U. Rubins, and J. Spigulis, "RGB imaging system for mapping and monitoring of hemoglobin distribution in skin," *Proc. SPIE* **8158**, 81580R (2011).
7. L. Kong et al., "Single sensor that outputs narrowband multispectral images," *J. Biomed. Opt.* **15**, 010502 (2010).
8. W. R. Johnson et al., "Snapshot hyperspectral imaging in ophthalmology," *J. Biomed. Opt.* **12**, 014036 (2007).
9. G. I. Petrov et al., "Human tissue color as viewed in high dynamic range optical transmission measurements," *Biomed. Opt. Express* **3**(9), 2154–2161 (2012).
10. I. Nishidate et al., "Visualizing of skin chromophore concentrations by use of RGB images," *Opt. Lett.* **33**(19), 2263–2271 (2008).
11. J. Spigulis, D. Jakovels, and U. Rubins, "Multi-spectral skin imaging by a consumer photo-camera," *Proc. SPIE* **7557**, 75570M (2010).
12. J. Spigulis, D. Jakovels, and U. Rubins, "Method and device for multi-spectral imaging by means of a digital RGB sensor," WO 2012/002787 A1 (2012).
13. J. Spigulis, D. Jakovels, and L. Elste, "Towards single snapshot multi-spectral skin assessment," *Proc. SPIE* **8216**, 82160L (2012).
14. J. Spigulis and L. Elste, "Method and device for imaging of spectral reflectance at several wavelength bands," WO 2013135311 A1 (2012).
15. J. Spigulis and L. Elste, "Single snapshot RGB multispectral imaging at fixed wavelengths: proof of concept," *Proc. SPIE* **8937**, 89370L (2014).
16. IDS Imaging Development Systems GmbH, "Technical data of CMOS camera model USB 2 UI-122 6LE-C," http://www.ids-imaging.de/frontend/products.php?cam_id=12 (8 May 2015).
17. S. Prahl, "Tabulated molar extinction coefficient for hemoglobin in water," <http://omlc.org.edu/spectra/hemoglobin/summary.html> (8 May 2015).
18. T. Sarna and H. M. Swartz, "The physical properties of melanin," <http://omlc.org.edu/spectra/melanin/eumelanin.html> (8 May 2015).
19. R. R. Anderson and J. A. Parrish, "The optics of human skin," *J. Invest. Dermatol.* **77**(1), 13–19 (1981).
20. K. S. Stenn, "The skin," in *Cell and Tissue Biology*, L. Weiss, Ed., pp. 541–572, Urban & Schwarzenberg, Baltimore (1988).

Bakalaura darbs „Ādas hromoforu kartēšana trihromātiskā lāzeru apgaismojumā”
izstrādāts Latvijas Universitātes Atomfizikas un spektroskopijas institūtā.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie
informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autore: Ilze Ošiņa _____
/paraksts/

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Darba vadītājs: Dr. habil. phys., prof. Jānis Spīgulis _____
/paraksts/

Recenzents: LU FMF vad. pētnieks, Dr. Phys. Māris Tamanis _____
/paraksts/

Darbs iesniegts Fizikas nodaļā _____. _____. 2015.

Dekāna pilnvarotā persona: vecākā metodiķe Dzintra Holsta _____
/ paraksts/

Darbs aizstāvēts bakalaura gala pārbaudījumu komisijas sēdē
_____. _____. 2015. protokols Nr. _____

Komisijas sekretārs: _____
/paraksts/