



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



ESF projekts Nr. 2013/0009/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/014

Inovatīvas biomedicīnisko attēlu iegūšanas un apstrādes tehnoloģijas InBiT

Projekta zinātniskie vadītāji atsevišķos posmos:

*Dr.hab.math. Aivars Lorencs
Dr.sc.comp. Ints Mednieks*

Finansējuma saņēmējs: Elektronikas un datorzinātņu institūts (EDI)

Sadarbības partneris: LU Atomfizikas un spektroskopijas institūts (ASI)

Projekta izpildes laiks no 1.09.2013 līdz 31.08.2015

Kontakti: EDI - Ints Mednieks (mednieks@edi.lv)

ASI - Dainis Jakovels (dainis.jakovels@lu.lv)

WWW: <http://www.edi.lv/lv/projekti/es-projekti/11120-inbit/>



Elektronikas un datorzinātņu institūts
LU Atomfizikas un spektroskopijas institūts



Par InBiT projektu

Projekta vispārīgais mērķis:

Veicināt papildu cilvēkresursu piesaisti zinātnei, veidojot jaunu starpdisciplināru zinātnisko grupu, kuras zinātniskajam un pētnieciskajam darbam piesaista jaunos zinātniekus un ārvalstu zinātniekus. Izveidota grupa izstrādās un aprobēs jaunas tehnoloģijas un ierīces biomedicīnisko attēlu iegūšanai un apstrādei.

Projekta specifiskais (zinātniskais) mērķis:

Izstrādāt un klīniski aprobēt inovatīvas metodes un ierīces neinvazīvai multimodālu ādas attēlu veidošanai un apstrādei, lai identificētu un klasificētu specifiskus ādas bojājumus, kā arī lai nodrošinātu bezkontakta sirdsdarbības un asinsrites monitoringu.

Projekta izpildes termiņš: 2013.gada 1.septembris – 2015.gada 31.augusts.

Projekta kopējais finansējums: 349396 LVL, no tā ESF finansējums 323086 LVL.

Projekta mājas lapa: <http://www.edi.lv/lv/projekti/es-projekti/11120-inbit/>



InBiT dalībnieki

starpdisciplināra zinātniskā grupa

Projekta zinātniskais vadītāji

Ints Mednieks	EDI	datorzinātņu doktors
Aivars Lorencs	EDI	matemātikas habilitētais doktors

Jaunie zinātnieki

Jekaterina Bula	EDI	inženierzinātņu doktors
Kristīne Azarjana	EDI	medicīnas doktors
Mindaugas Tamošiūnas	ASI	fizikas doktors, ārvalstu zinātnieks
Dainis Jakovels	ASI	fizikas doktors, proj. zin. vad. no LU

Doktoranti

Inga Saknīte	ASI	fizikas doktorants
Gita Krieviņa	EDI	bioloģijas doktorants
Dmitrijs Blīzņuks	ASI	inženierzinātņu doktorants
Roberts Kadiks	EDI	inženierzinātņu doktorants
Juris Siņica-Siņavskis	EDI	datorzinātņu doktorants



InBiT projekta galvenie rezultāti

- Izstrādāta jauna multimedīala biomedicīnas datu attēlošanas tehnoloģija, kas apvieno:
 - remisijas spektrālo attēlošanu
 - fluorescences spektrālo attēlošanu
 - lāzerspeku attēlošanu
- Izstrādāta, patentēta un izgatavota ierīce, kas realizē šo tehnoloģiju
- Izstrādāta jaunu melanomas atšķiršanas metode no dzimumzīmes, ko var realizēt ar jaunās ierīces palīdzību
- Izstrādātas jaunas attēlu apstrādes metodes:
 - attēlu reģistrācijai
 - ādas veidojumu segmentācijai attēlos
 - hromoforu kartēšanai
- Izstrādātas metodes un veikti eksperimenti
 - lāzerspeku analīzē – izveidota LASCI ierīce uz mobilā tālruņa bāzes
 - ādas mitruma noteikšanai – izveidoti eksperimentāli stendi, veikti mērījumi
 - taukaudu segmentēšana – izveidota metode DT attēlu apstrādei
 - elektro- un sonoforēzes efektivitātes pētījumi, izmantojot fluorescences attēlus



InBiT publikācijas

Žurnālu raksti

1. A. Lorencs, I. Mednieks, J. Sinica-Sinavskis, "Simplified Classification of Multispectral Image Fragments" Elektronika Ir Elektrotehnika, Vol. 20, No.6, 2014, pp. 136-139.
2. I. Saknīte, D. Jakovels, J. Spigulis, "Diffuse reflectance and fluorescence multispectral imaging system for assessment of skin," Proc. of SPIE Vol.9129 lpp. 91293H-1 - 91293H-6.
3. D. Jakovels, I. Saknīte, J. Spigulis, "Implementation of laser speckle contrast analysis as connection kit for mobile phone for assessment of skin blood flow," Proc. of SPIE Vol.9129 pp. 91293I-1 - 91293I-8.
4. M. Tamošiūnas, D.Jakovels, A.Łihačovs, A.Kilikevičius, J.Baltušnikas, R.Kadikis, S.Šatkauskas, "Application of fluorescence spectroscopy and multispectral imaging for non-invasive estimation of GFP transfection efficiency," Proc. of SPIE Vol.9421, 94210M, 2014.
5. D. Jakovels, I. Saknīte, G. Krieviņa, J. Zaharans, J. Spigulis, "Mobile phone based laser speckle contrast imager for assessment of skin blood flow," Proc. of SPIE Vol.9421, 94210J, 2014.
6. I. Saknīte, J. Spigulis, "Determination of in vivo skin moisture level by near-infrared reflectance spectroscopy," Proc. SPIE, 9332, 93320Y, 2015.
7. R. Kadikis, "Registration Method for Multispectral Skin Images," In *Radioelektronika*, Proc.25th International Conference, IEEE, 2015, pp.232-235.
8. A. Lorencs, J. Sinica-Sinavskis, D. Jakovels, I. Mednieks, "Melanoma-Nevus Discrimination Based on Image Statistics in Few Spectral Channels," Elektronika Ir Elektrotehnika, iesniegts publicēšanai.

Patents

9. A. Lorencs, I. Mednieks, J. Siņica-Siņavskis, D. Jakovels, D. Blīznuks, "Ierīce ādas melanomas atšķiršanai no labdabīgas dzimumzīmes," LR patents Nr.14998, publicēts 20.08.2015.



InBiT rezultātu prezentācijas konferencēs

1. A. Lorencs, I. Mednieks, J. Sinica-Sinavskis, "Simplified Classification of Multispectral Image Fragments". Konference "Electronics 2014", 16.-18.06.2014., Palanga, Lietuva.
2. I. Saknīte, A. Silapetere, J. Spigulis, "Phantoms used for mapping of skin chromophores by multi-spectral imaging," Konference "Biomedical Optics 2014", 2014., Maiami, ASV.
3. I. Saknīte, D. Jakovels, G. Krievina, J. Spigulis, "Diffuse reflectance and fluorescence measurements of skin by multispectral imaging system," 10th international Young Scientist conference "DOC 2014", 9.-12.04.2014., Rīga, Latvija.
4. D. Jakovels, I. Saknīte, J. Spigulis, "Assessment of changes in skin blood flow by mobile phone and laser illumination," 10th international Young Scientist conference "DOC 2014", 9.-12.04.2014., Rīga, Latvija.
5. I. Saknīte, D. Jakovels, J. Spigulis, "Diffuse reflectance and fluorescence multispectral imaging system for assessment of skin". Konference "SPIE Photonics Europe 2014", 14.-17.04.2014., Brisele, Beļģija..
6. D. Jakovels, I. Saknīte, J. Spigulis, "Implementation of laser speckle contrast analysis as connection kit for mobile phone for assessment of skin blood flow". Konference "SPIE Photonics Europe 2014", 14.- 17.04.2014, Brisele, Beļģija.
7. D. Jakovels, I. Saknīte, G. Krieviņa, J. Zaharans, J. Spigulis, "Mobile phone based laser speckle contrast imager for assessment of skin blood flow". Eighth International Conference on Advanced Optical Materials and Devices "AOMD-8", 25.-27.08.2014, Rīga, Latvija.
8. M. Tamošūnas, D.Jakovels, A.Łihačovs, A.Kilikevičius, J.Baltušnikas, R.Kadikis, S.Šatkauskas, "Application of fluorescence spectroscopy and multispectral imaging for non-invasive estimation of GFP transfection efficiency". Eighth International Conference on Advanced Optical Materials and Devices "AOMD-8", 25.-27.08.2014, Rīga, Latvija.
9. I. Saknīte, J. Spigulis, "Determination of in vivo skin moisture level by near-infrared reflectance spectroscopy". Konference "SPIE Photonics West 2015", 7.-12.02.2015., Sanfrancisko, ASV.
10. I. Saknīte, A. Zavorins, D. Jakovels, J. Spigulis, J. Kisis, "Estimation of rosacea treatment effectiveness by RGB imaging", 11th International Young Scientist Conference "DOC 2015", 8.-10.04.2015., Rīga, Latvija.
11. R. Kadikis, "Method for registration of multispectral images". 11th International Young Scientist Conference "DOC 2015", 8.-10.04.2015., Rīga, Latvija.
12. R. Kadikis, "Registration Method for Multispectral Skin Images". MAREW2015, 25th International Conference "Radioelektronika 2015", 21.-22.4.2015., Pardubice, Čehija.
13. D.Jakovels, "Benign – atypical nevi discrimination using diffuse reflectance and fluorescence multispectral imaging system". 3rd International Conference on Biophotonics 20.-22.05.2015., Florence, Itālija.
14. D.Bīžuks, "Mobile platform for online processing of multimodal skin optical images". 3rd International Conference on Biophotonics 20.-22.05.2015., Florence, Itālija.
15. K. Azarjana, A. Ozola, D. Ruklisa, I. Cema, D.Pjanova, "Melanoma Prognostic Factors Associated with Metastases". Poster, 23rd World Congress of Dermatology, 8.-13.06. 2015., Vankūvera, Kanāda.
16. G.Krievina, I. Skuja, V. Silina, P. Tretjakovs, "Blood Pressure Association with Segmented Abdominal Fat", Konference "Physiology 2015", 6.-8.06.2015., Kardifa, Lielbritānija.



InBiT seminārs 05.12.2014

Kristīne Azarjana

Ādas veidojumu diagnostika klīniskajā praksē

Inga Saknīte

LU ASI izstrādātā aparatūra ādas veidojumu remisijas un fluorescences attēlu iegūšanai, laboratorijas izpētes rezultāti

Roberts Kadiķis

Algoritmi multispektrālo attēlu reģistrācijai un veidojumu segmentācijai

Juris Siņica-Siņavskis

Ādas hromoforu kartēšanas problēmu risinājumi un iegūtie rezultāti

Dainis Jakovels

Lāzerspeklu izmantošana asins plūsmas novērtēšanai ādā

Mindaugas Tamošiunas

Fluorescences spektroskopijas izmantošana in vivo elektroforēzes un sonoforēzes efektivitātes novērtēšanai zāļu ievadīšanai šūnās

Aivars Lorencs

Melanomas / dzimumzīmes klasifikācijas metode, izmantojot neliela skaita spektrālo joslu informāciju

<http://www.edi.lv/lv/projekti/es-projekti/11120-inbit/>



InBiT semināra 27.08.2015 dienas kārtība

9:30–9:40 Ievads. InBiT projekta izpilde un secinājumi (*Ints Mednieks*)

9:40–10:00 Ādas veidojumu diagnostika. Jaunākās tendences (*Kristīne Azarjana*)

10:00–10:20 Nēvusu – melanomas atšķiršana, izmantojot multispektrālus attēlus: jaunākie rezultāti (*Dainis Jakovels*)

10:20–10:40 Mākslīgo neironu tīklu izmantošana veidojumu segmentācijai ādas attēlos (*Roberts Kadikis*)

10:40–11:00 Ādas mitruma līmeņa noteikšana ar tuvā infrasarkanā diapazona spektroskopijas palīdzību (*Inga Saknīte*)

11:00–11:30 Kafijas pauze

11:30–11:50 Fluorescences spektroskopijas un multispektrālo attēlu izmantošana neinvazīvai GFP transfekcijas efektivitātes novērtēšanai: jaunākie rezultāti (*Mindaugas Tamošiunas*)

11:50–12:10 Abdominālo un nieru sīnusu taukaudu segmentēšana datortomogrāfijas attēlos (*Gita Krieviņa*)

12:10–12:30 Projektā izstrādātā iekārta multimodālu ādas attēlu iegūšanai (*Dmitrijs Blīzniuks*)

12:30–12:50 Ar projektā izstrādātās iekārtas palīdzību iegūto attēlu apstrādes programmatūra (*Roberts Kadikis*)
Iekārtas demonstrācija, diskusijas





IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



Ādas veidojumu diagnostika. Jaunākās tendences.

Dr. med. Kristīne Azarjana
dermatologs

EDI
RSU
Lāzerplasikas klinika

Rīga, 27.08.2015.

ESF projekts Nr. 2013/0009/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/014
“Inovatīvas biomedicīnisko attēlu iegūšanas un apstrādes tehnoloģijas (InBiT)”

Pigmentveidojumi

- *Nevus* ir labdabīgs audzējs no pigmentveidojošām un *nevus* šūnām. Tie var būt virspusēji izvietoti – makulozi, jaukti un intradermāli – papulozi (atbilstoši pigments ir epidermā un dermā vai tikai dermā).
 - *Spitz nevus* – veidots no vārpstveida un epiteloīdām šūnām, klīniski tas ir gluds, sārts, apaļīgām robežām,
 - *Zilais nevus* ir tēraudpelēks neliels mezgliņs, kas līdzīgs nodulārai melanomai,
 - *Displastiskais nevus* ir asimetrisks vairākās asīs, ar neregulāru robežu, neviensmērīgu pigmentāciju un dažādām krāsām, diametrā – lielāks par 5 mm.
- *Melanoma* ir ļaundabīgs ādas audzējs no pigmentveidojošām šūnām – *nevus* un melanocītiem. Izšķir četras audzēja formas: lentigo maligna, virspusējā, nodulārā un akrālā lentiginozā melanoma.

Riska grupas veidojumi

- legūtās melanocītu nevocelulārās dzimumzīmes
 - Dispalstiskie jeb atipiskie nevusi
 - *Lentigo maligna*
 - Gigantiskie iedzimtie nevusi
-
- 50-80% gadījumu melanoma attīstās “*de novo*”¹

Ādas vēža diagnostika

- Ģimenes ārsts
- Visas ādas apskate
- Dermatologs:
 - klīniskā apskate
 - dermatoskopija
 - biopsija

Melanoma



© 2000 Galderma SA

046288V



© 2000 Galderma SA

006045V

Melanoma





42 g.v. sieviete
Pigmentēta makula uz vaiga



Dermatoskopija: viegli izteikts anulāri-granulārs zīmējums, zili-pelēkas lodītes, iezīmējas romboīdas struktūras.

Lentigo maligna

Dermatoskopija

- Dermatoskopija (dermoskopija, epiluminiscentā mikroskopija) – *in vivo* diagnostiska metode melanomas agrīnai diagnostikai un pigmentveidojumu diferenciāldiagnostikai.
- Dermoskopija ļauj identificēt daudzas struktūras, krāsas un asinsvadus, kas nav izvērtējami ar neapbruņotu aci.
- Dermatoskopijas pielietošana palielina diagnostikas precizitāti par 5-30% atkarībā no ādas veidojuma veida un ārsta pieredzes.



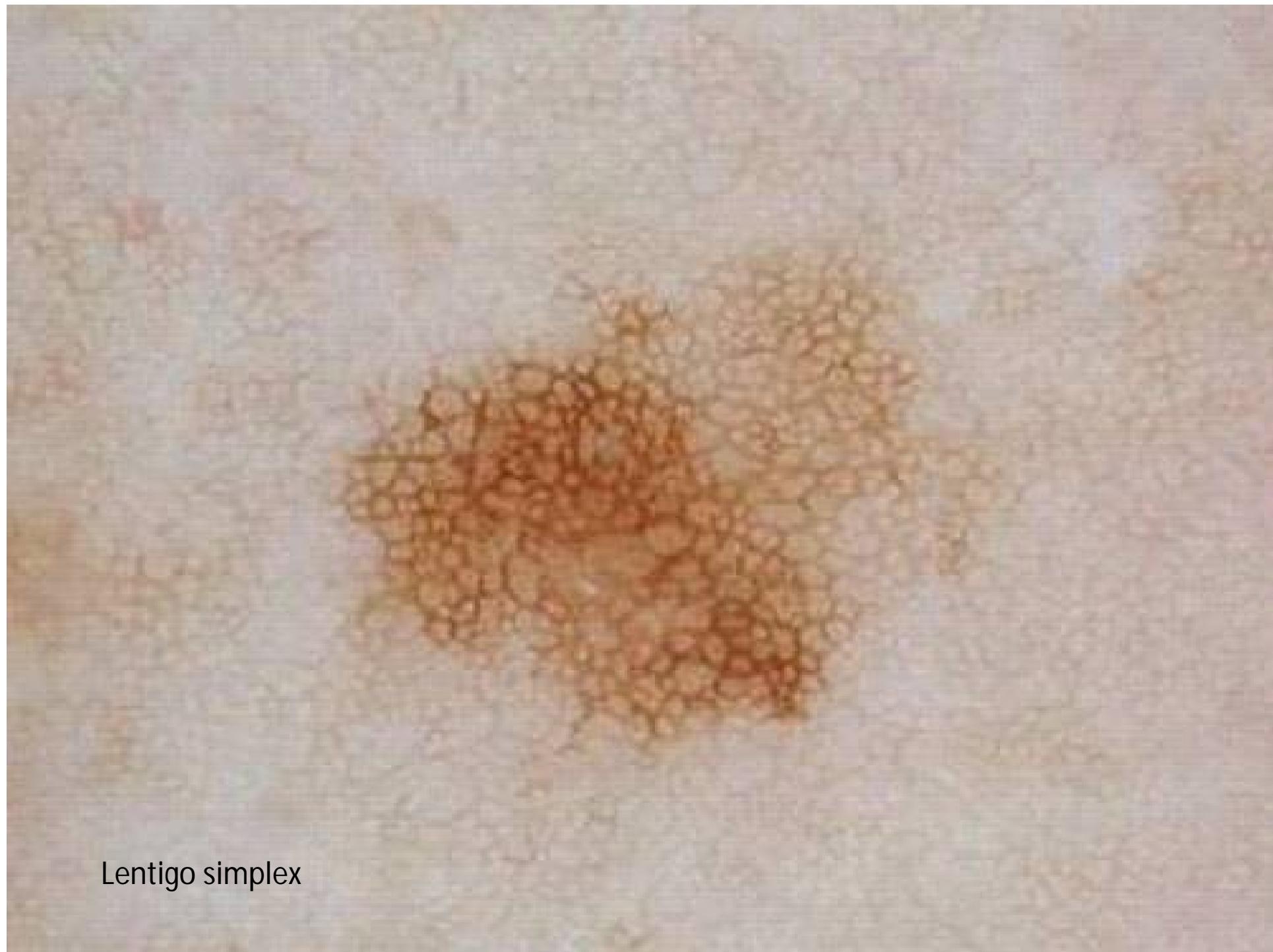


INTUĪCIJA + PIEREDZE

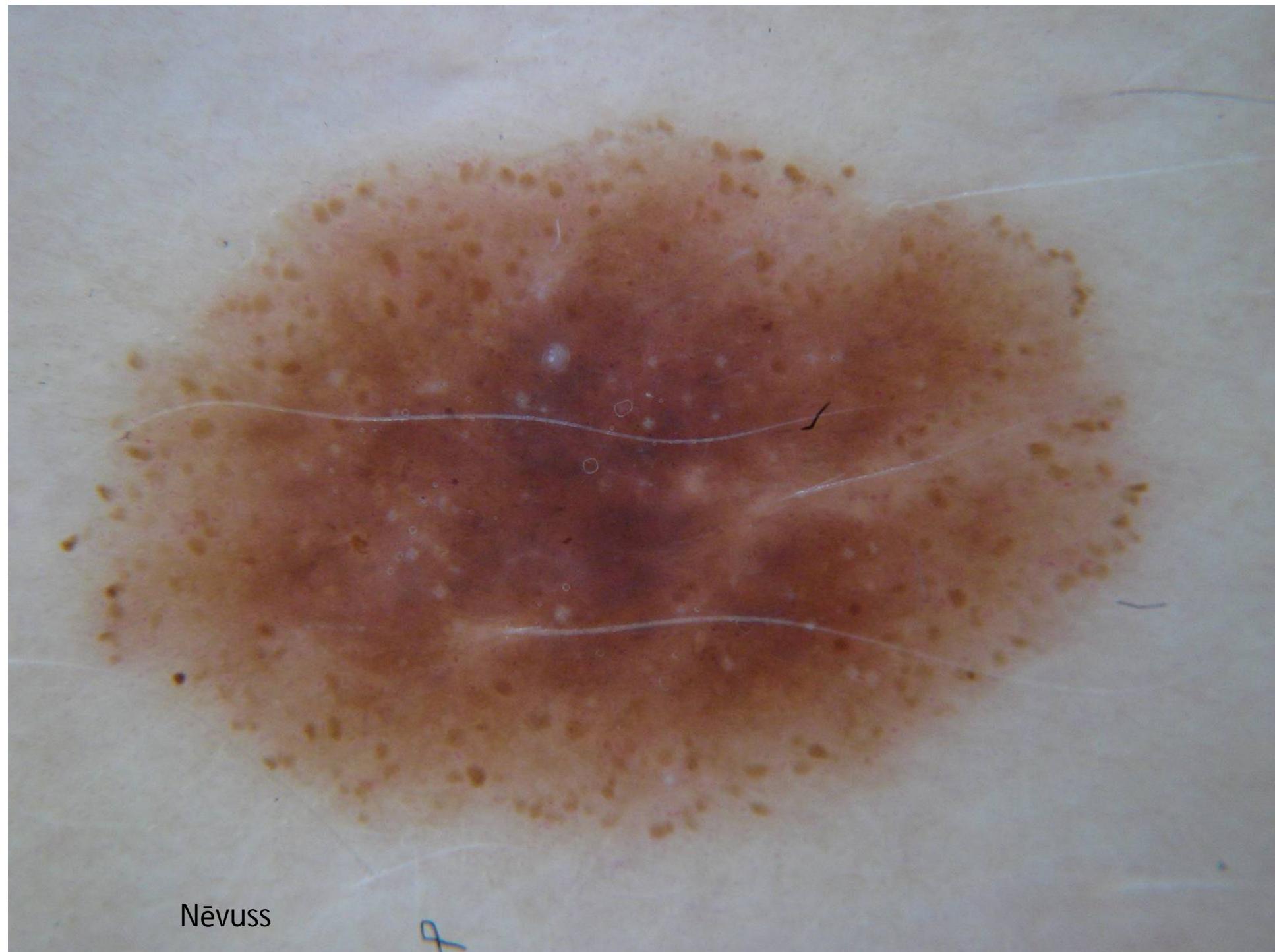
- Vispārējo veidojuma pazīmju analīze
- Neglītā pīlēna pazīme
- Veidojuma izmaiņas īsā laika posmā



Melanoma

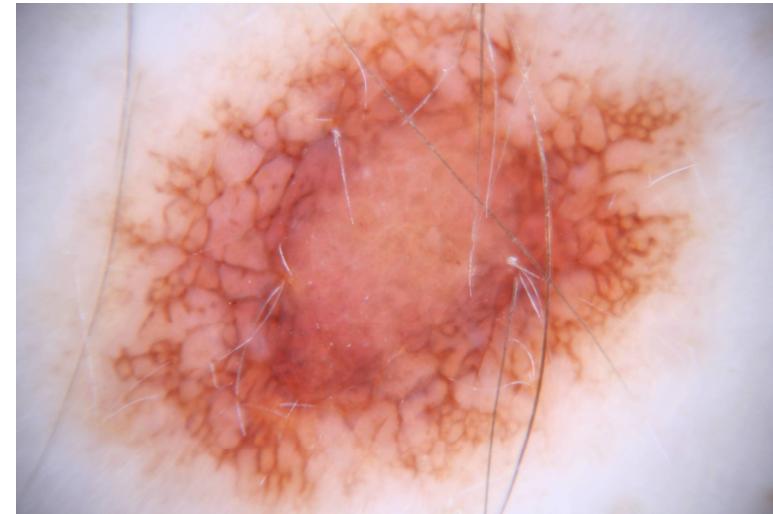


Lentigo simplex

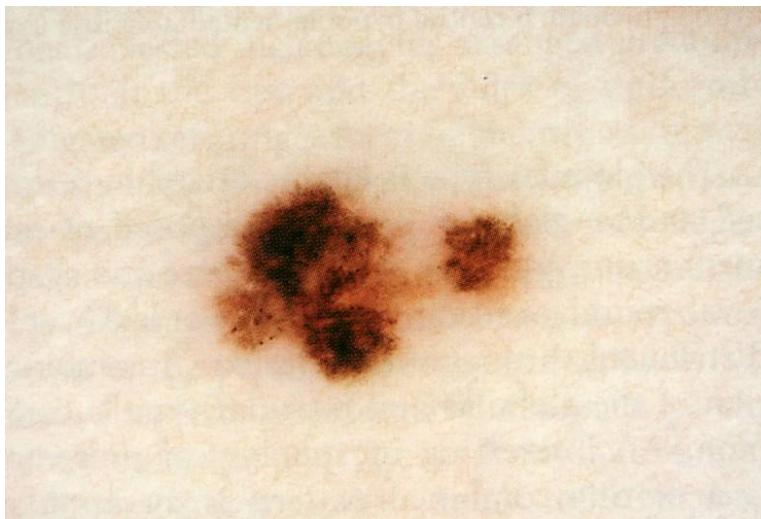


Nēvuss

Atipisko (displastisko) molu sindroms



Dispalstisks nevus



Dispalstisks nevus



Melanocītu veidojumi

**“Neglītā pīlēna” pazīme
(*Ugly duckling*)**



MoleExpert macro

File Options Lessons Help

Image 1 | Image 2

Zoom Image 1 | Zoom Image 2 | Nevus Image 1 | Nevus Image 2 | Results

Area (px)	1	1
Diff. Brightness	1	1
Form	+	+
Inconspicuous Nev.	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
New Nev.	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>
Conspicuous Nev.	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

Classification based on statistics. Diagnosis is physician's responsibility.

Dermatoskopija

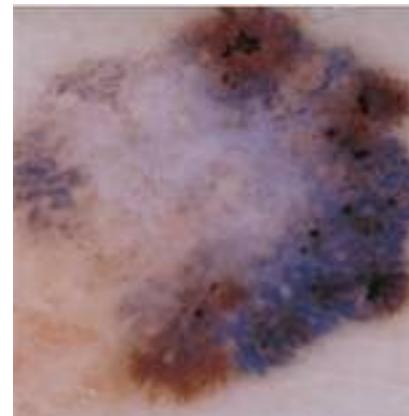
- Visu ādas veidojumu izmeklēšana
- Aizdomīgu veidojumu izdalīšana
- Papildus nepieciešamības gadījumā tiek veikta:
 - videodermoskopija
 - ultrasonogrāfija
 - konfokālā mikroskopija
 - optiskā koherences tomogrāfija

Konfokālā mikroskopija

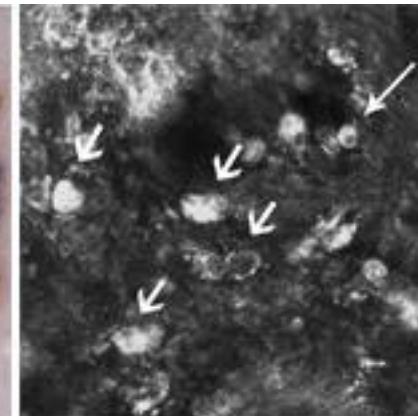
- *In vivo* neinvazīva metode, kas ļauj apskatīt epidermu un papilāro dermu histoloģiskajā līmenī ar labu kontrastu
- Fokusēts lāzera stars skanē ādas virsmu un penetrē audos. Attēls balstās uz atsevišķu ādas šūnu un anatomisko struktūru dažādajiem refleksijas indeksiem.
- Attēli ir horizontāli un paralēli ādai
- Vairāk piemērota amelanotisku melanomu un “collision” veidojumu diagnostikai

Melanoma

Dermatoskopiskais
attēls

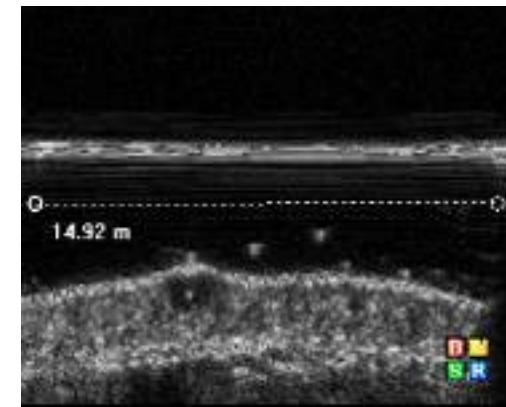
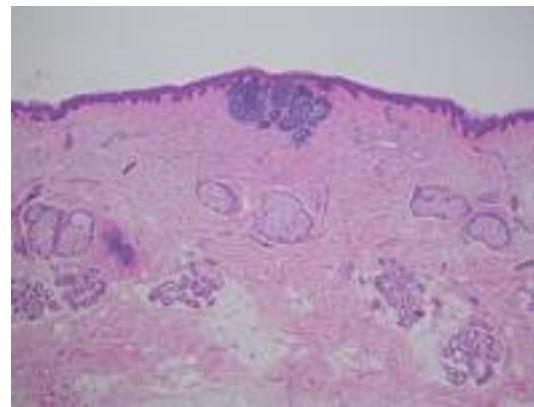


Konfokālās mikroskopijas
attēls



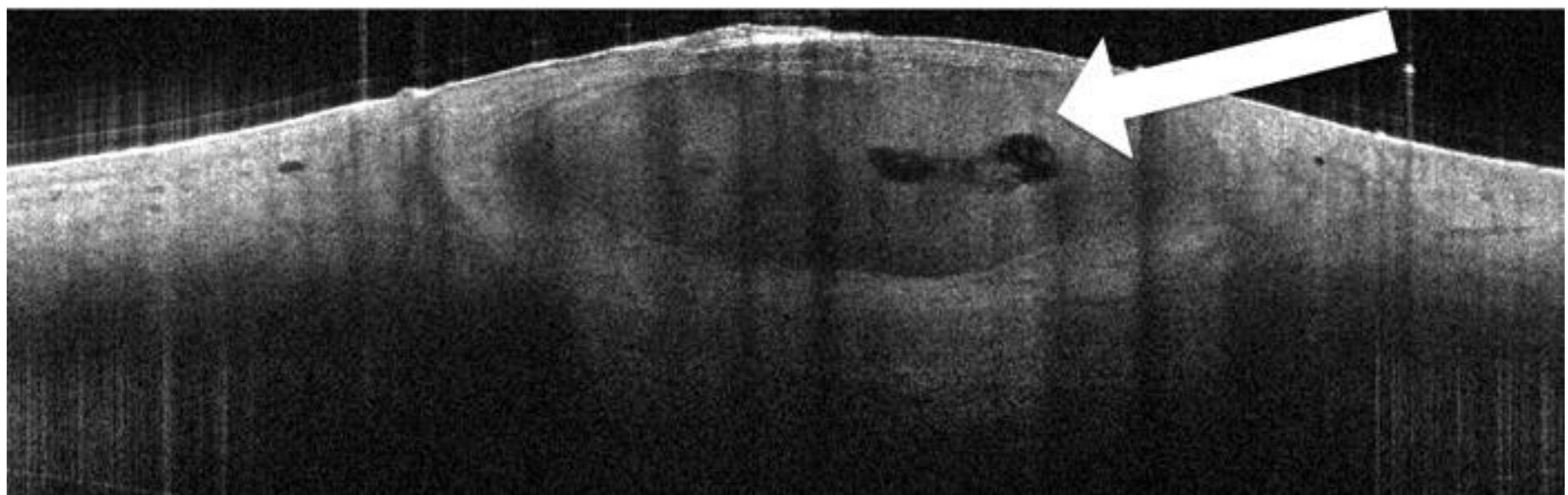
Augstas frekvences ultrasonogrāfija

- Ādas veidojumu diagnostikai izmanto augstu frekvenču US (20-100MHz).
- US penetrācijas dziļums – līdz 8 mm, izšķirtspēja – 80-200 μm.
- Grūti diferencēt melanomu no iekaisīgiem infiltrātiem (abi hipoehogēni), tas traucē precīzi noteikt melanomas dziļumu.
- Grūtības ar hiperkeratotisku ādas veidojumu biezuma noteikšanu, apgrūtināta plaukstu un pēdu melanomu diagnostika (echo-efekta aizture).



Optiskā koherences tomogrāfija

- Pārsvarā izmanto ādas veidojumu skrīningam zinātniskos nolūkos;
- Neinvazīva metode, kas balstās uz infrasarkanās gaismas izmantošanu (izšķirtspēja $3\text{-}15\mu\text{m}$);
- Jūtīgāka metode par US un KMR. Izšķirtspēja sliktāka nekā optiskai mikroskopijai, bet ar šo metodi var "redzēt" salīdzinoši dzīļāk.
- Var tikt izmeklēti veidojumi arī ar hiperkaratotisku virsmu, t. sk. uz plaukstām un pēdām, kā arī mutes gлотādā;
- Nevar izmeklēt veidojumus, kas ir biezāki par 1 mm.



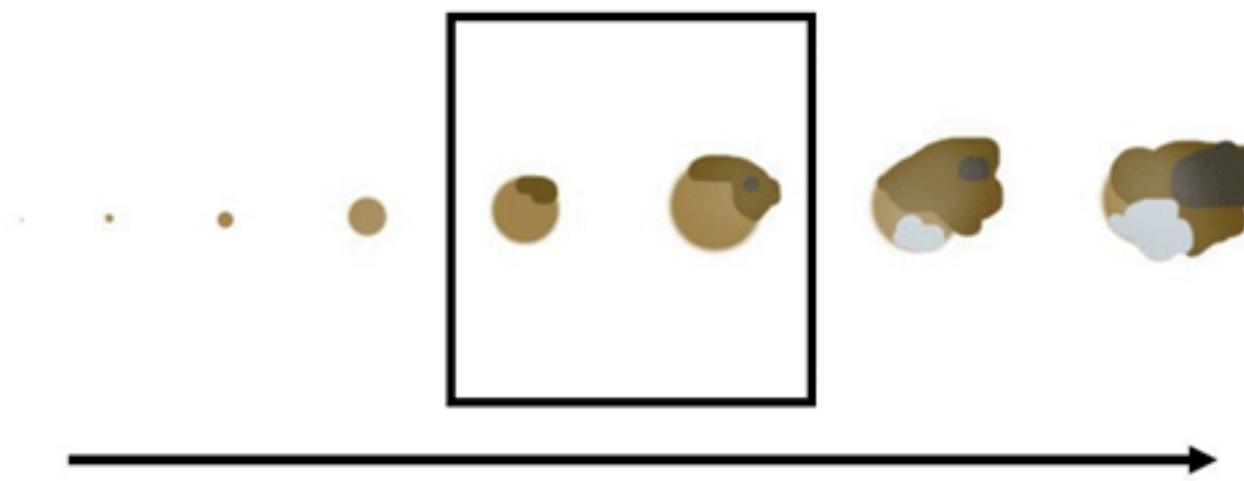
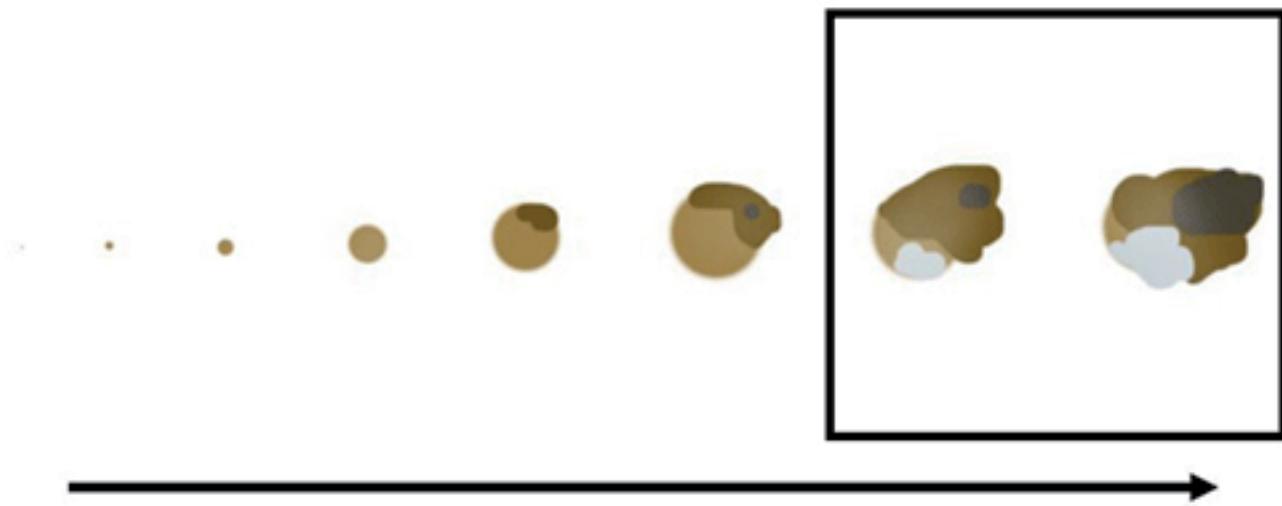
Elektriskā impedances spektroskopija

- Sauc par “elektrisko biopsiju”
- Izmanto dažādu audzēju diagnostikai
- Tieka salīdzināta veselo un slimīgo audu elektriskā vadītspēja un caurlaidība
- Metode vēl ir izstrādes procesā un pielietojums dermatoloģijā vēl nav līdz galam skaidrs.

Tape stripping mRNA

(epidermālās ģenētiskās informācijas iegūšana)

- Epidermas (*stratum corneum*) RNS neinvazīva savākšana ar līmlentu
- Šūnu RNS analīze izmantojot PĶR



- 1655.g. P. Borelus un 1663. g. Kohlhaus - pirmie veica ādas virsmas mikroskopiju
Tie bija pirmie mēģinājumi "in vivo" ādas veidojumu diagnostikai
- 1989.g, 1990.g O. Braun-Falco – izveidoja pirmo portatīvo dermatoskopu, kas bija ērts un piemērots ikdienas lietošanai
- 2015.g. ...

Izmantotā literatūra

1. Hueter C. Die Cheilangioskopie, eine neue Untersuchungsmethode zu physiologischen und pathologischen Zwecken. Centralb Med Wissensch 1879; 13: 225-227.
2. Rutkowski P, Wysocki PJ, Nowecki ZI, Rudnicka L, Nasierowska-Guttmejer A, Fijuth J, et al. Cutaneous melanoma — diagnostic and therapeutic guidelines in 2013. *Przegl Dermatol.* 2013; 100: 1-15
3. Cindy Wassef, BA, and Babar K. Rao, MD. Uses of non-invasive imaging in the diagnosis of skin cancer: an overview of the currently available modalities. *International J of dermatology* 2013, 52, 1481–1489
4. Agnieszka Kardynal , Małgorzata Olszewska. Modern non-invasive diagnostic techniques in the detection of early cutaneous melanoma. *J Dermatol Case Rep* 2014 1, pp 1-8
5. Peter Mohr, Ulrik Birgersson2, Carola Berking, Catriona Henderson, Uwe Trefzer, Lajos Kemeny, Cord Sunderkoetter, Thomas Dirschka, Richard Motley, Margareta Frohm-Nilsson, Uwe Reinhold, Carmen Loquai, Ralph Braun, Filippa Nyberg and John Paoli. Electrical impedance spectroscopy as a potential adjunct diagnostic tool for cutaneous melanoma. *Skin Research and Technology* 2013; 19: 75–83
6. Kurzeja M, Walecka I, Rudnicka L, Olszewska M. The application of in vivo reflectance confocal microscopy in dermatology. *Przegl Dermatol.* 2010; 97: 281-289.
7. Puig S. A new era in melanoma. *Dermatol Ther.* 2012; 25: 389-391. PMID: 23046016.
8. Moscarella E, Rabinovitz H, Oliviero MC, Brown L, Longo C, Zalaudek I, Piana S, Farnetani F, Lallas A, Argenziano G, Pelizzetti G. The role of reflectance confocal microscopy as an aid in the diagnosis of collision tumors. *Dermatology*. 2013; 227: 109-117. PMID: 24080548.
9. Larre Borges A, Zalaudek I, Longo C, Dufrechou L, Argenziano G, Lallas A, Piana S, Moscarella E. Melanocytic nevi with special features: clinical-dermoscopic and reflectance confocal microscopic-findings. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2013 Oct 31. doi: 10.1111/jdv.12291. [Epub ahead of print]. PMID: 24171788.
10. Crisan M, Crisan D, Sannino G, Lupșor M, Badea R, Amzica F. Ultrasonographic staging of cutaneous malignant tumors: An ultrasonographic depth index. *Arch Dermatol Res.* 2013; 305: 305-313. PMID: 23400334.
11. Szymańska E, Maj M, Majsterek M, Litniewski J, Nowicki A, Rudnicka L. [The usefulness of high frequency ultrasonography in dermatological practice--ultrasound features of selected cutaneous lesions]. *Pol Merkur Lekarski.* 2011; 31: 37- 40. PMID: 21870707.

Paldies par uzmanību!





EUROPAS SOCIĀLAIS
FONDS



EUROPAS SAVIENĪBA

IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



LATVIJAS
UNIVERSITĀTE
ANNO 1919

Benign – atypical nevi discrimination using diffuse reflectance and fluorescence multispectral imaging system

Dainis Jakovels

Biophotonics Laboratory

Institute of Atomic Physics and Spectroscopy

University of Latvia

E-mail: dainis.jakovels@lu.lv

Motivation: Why atypical nevi?



➤ Early detection of melanoma is of great interest for dermatologists, but most of the observed melanomas are already in late stage of development.



➤ Atypical nevi are not considered to be malignant, but are suspects that should be detected and monitored over time as they may resemble melanoma.

Our previous studies on melanoma:

- I. Kuzmina, I. Diebele, D. Jakovels, J. Spigulis, L. Valeine, J. Kapostinsh, and A. Berzina, "Towards non-contact skin melanoma selection by multi-spectral imaging analysis," *J. Biomed. Opt.* 16(6), 060502 (2011)
- I. Diebele, I. Kuzmina, A. Lihachev, J. Kapostinsh, A. Derjabo, L. Valeine, and J. Spigulis, "Clinical evaluation of melanomas and common nevi by spectral imaging," *Biomed. Opt. Express* 3(3), 467-472 (2012)

Multispectral imaging setup and samples



Diffuse reflectance mode:

- VIS-NIR LED ring light
- 450-950 nm spectral range
- 10 nm step with 15 nm FWHM
- Acquisition of white reference

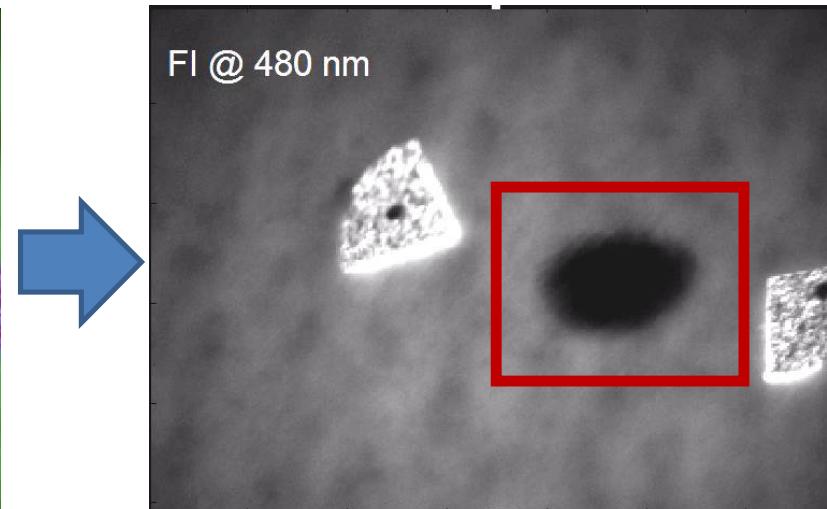
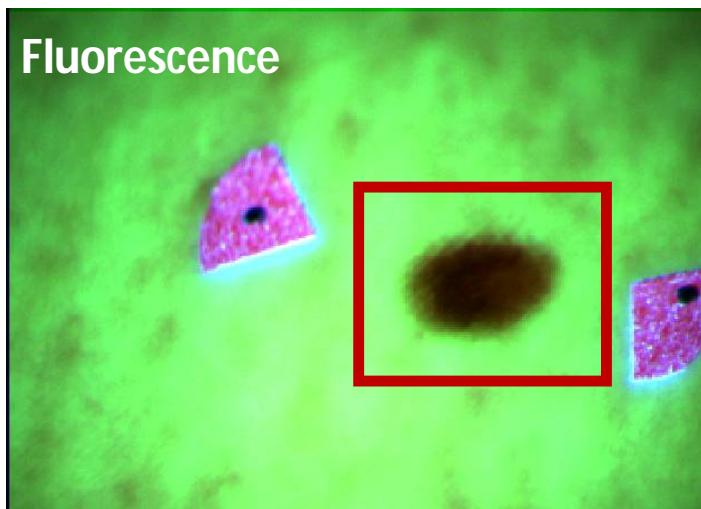
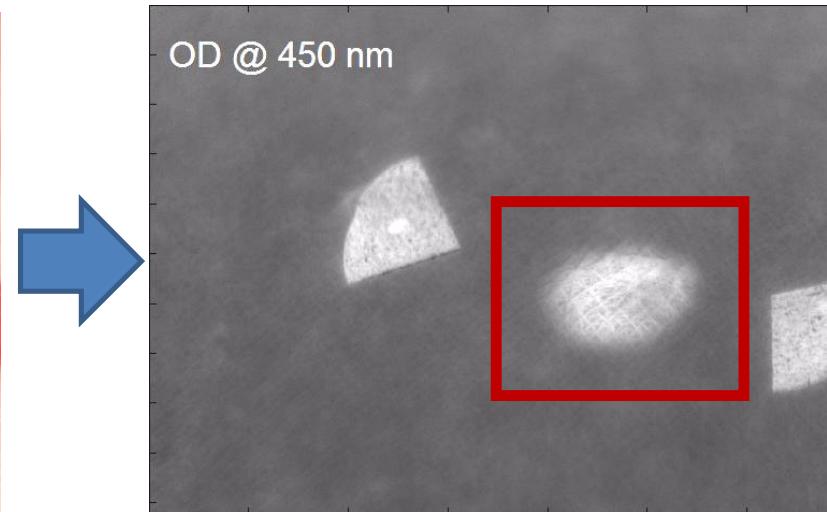
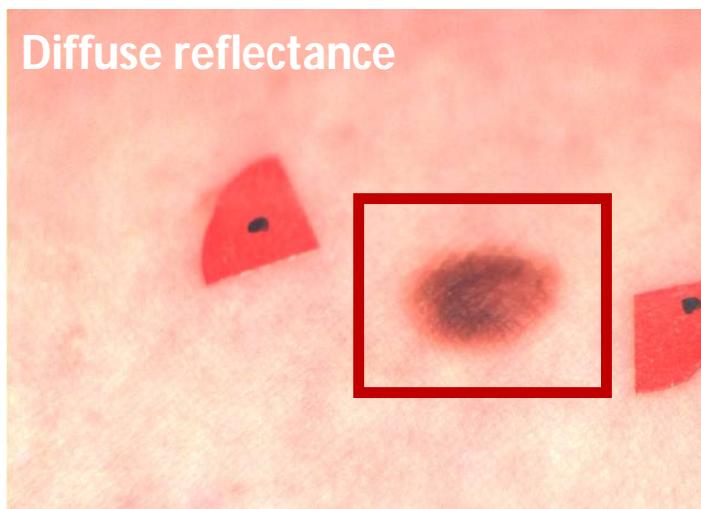
Fluorescence mode:

- 405 nm LED for excitation
- 480-700 nm spectral range
- 10 nm step with 15 nm FWHM
- Fixed exposition time 200 ms

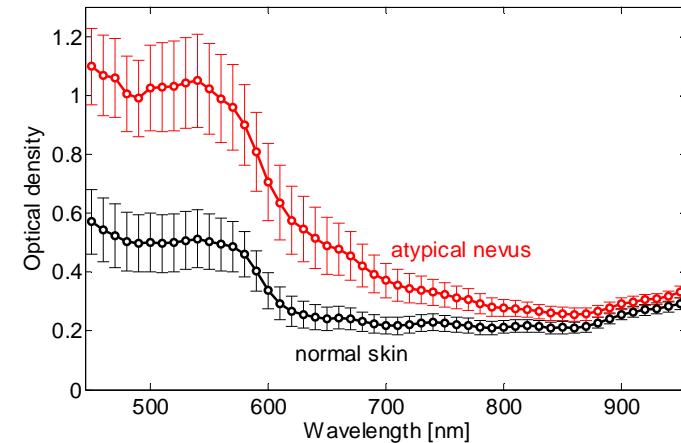
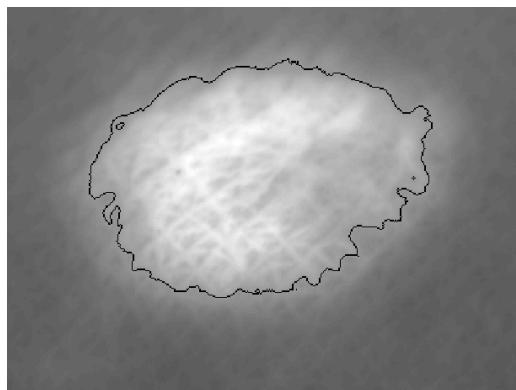
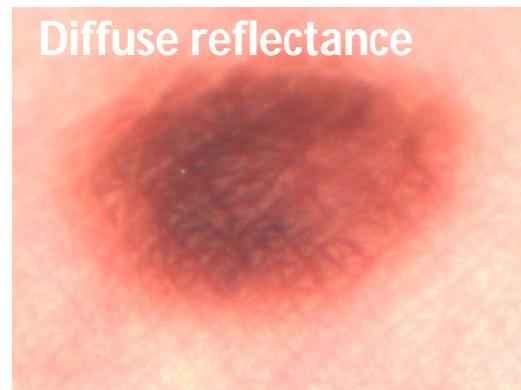
Pilot study – 75 volunteers, 90 pigmented lesions, two dermatologists were involved.

47 pigmented lesions (26 atypical and 21 benign nevi) were used for current study.

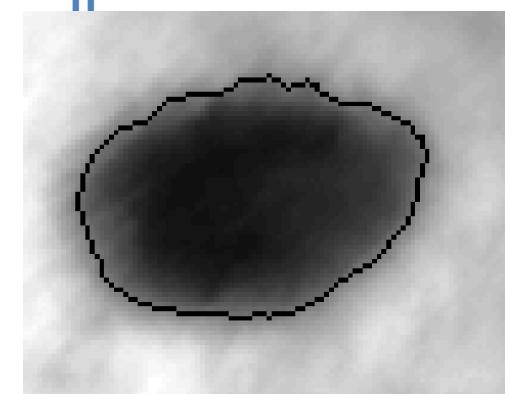
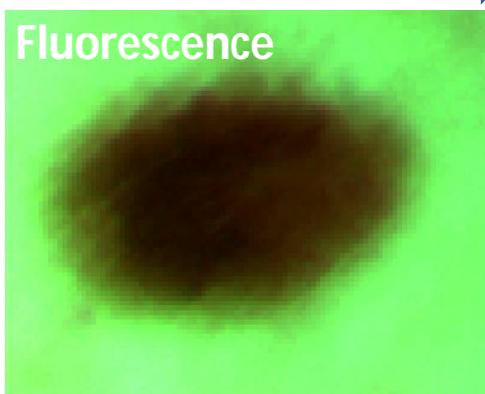
Multispectral imaging data



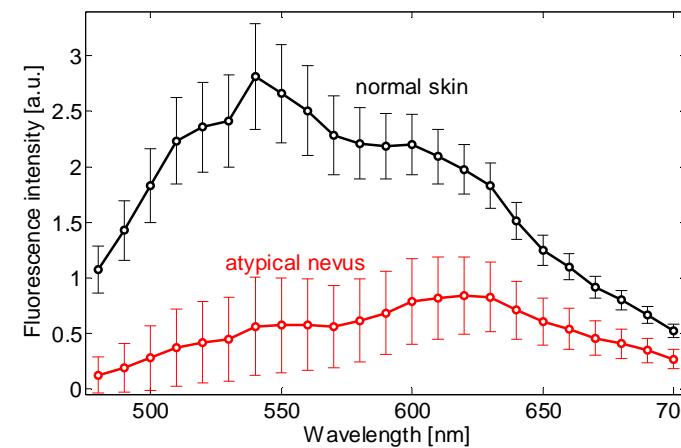
Data processing



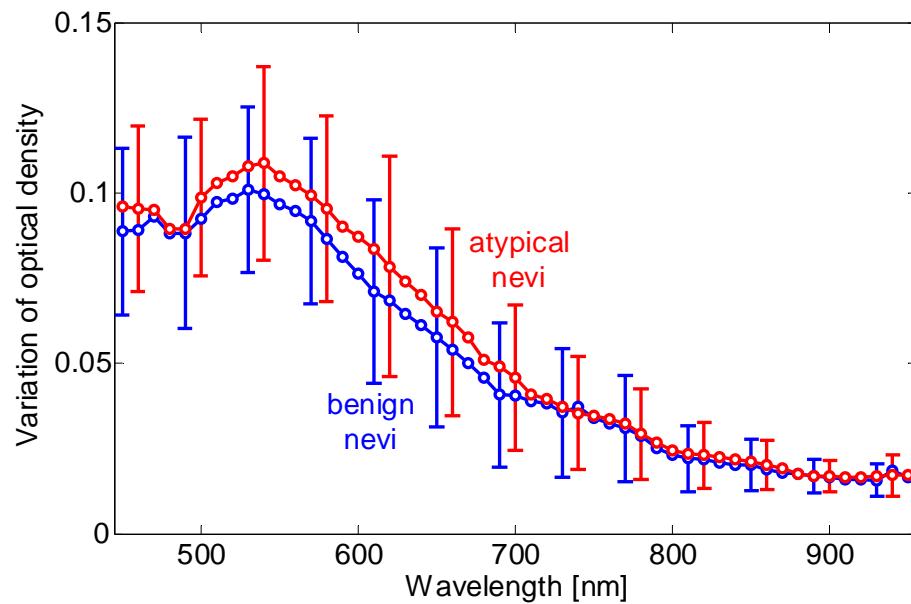
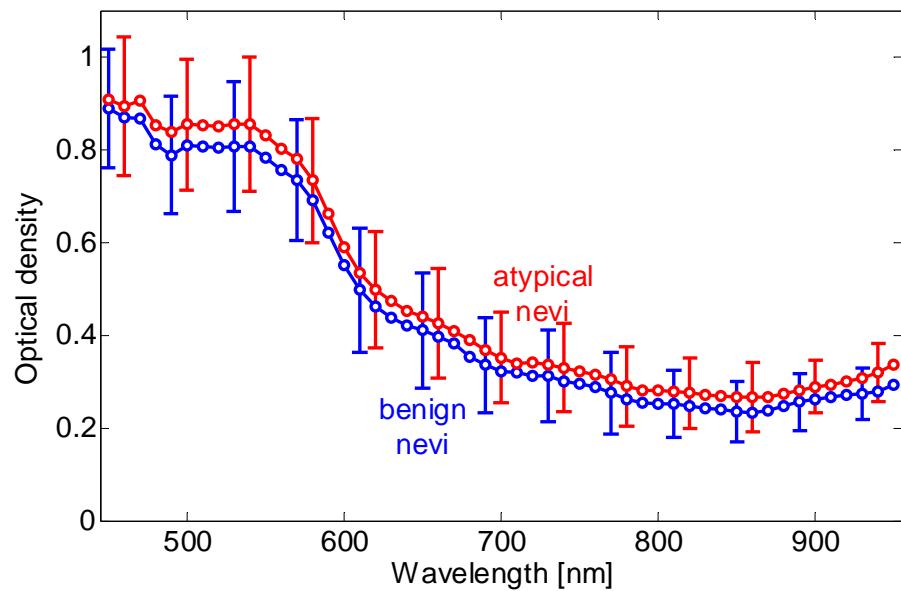
Cutting
region of interest



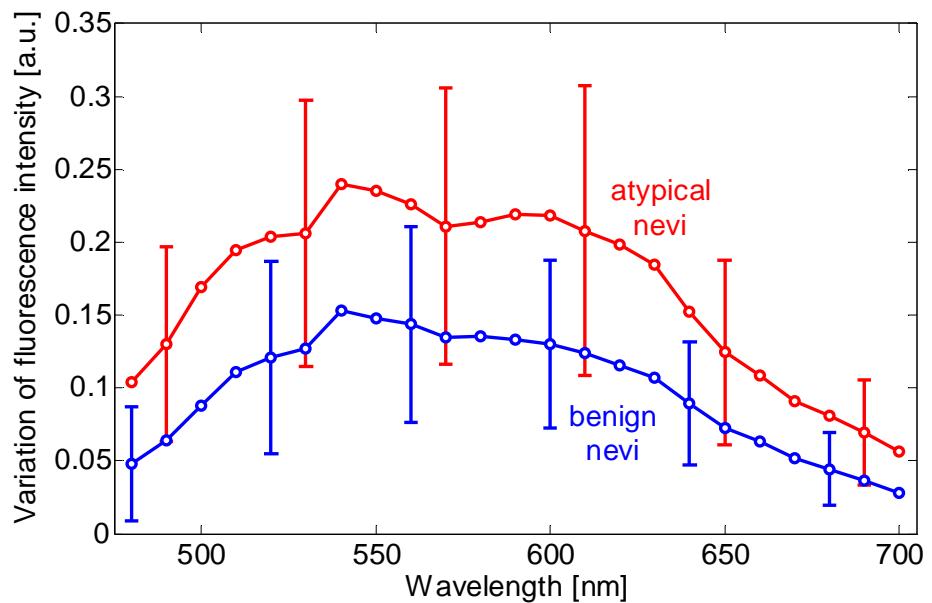
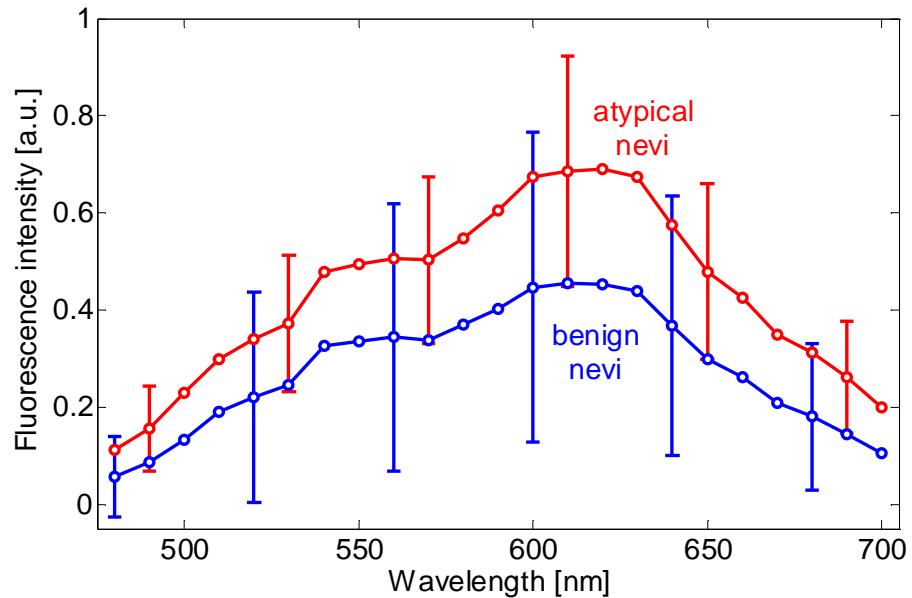
Extraction of mean spectra
and standard deviations



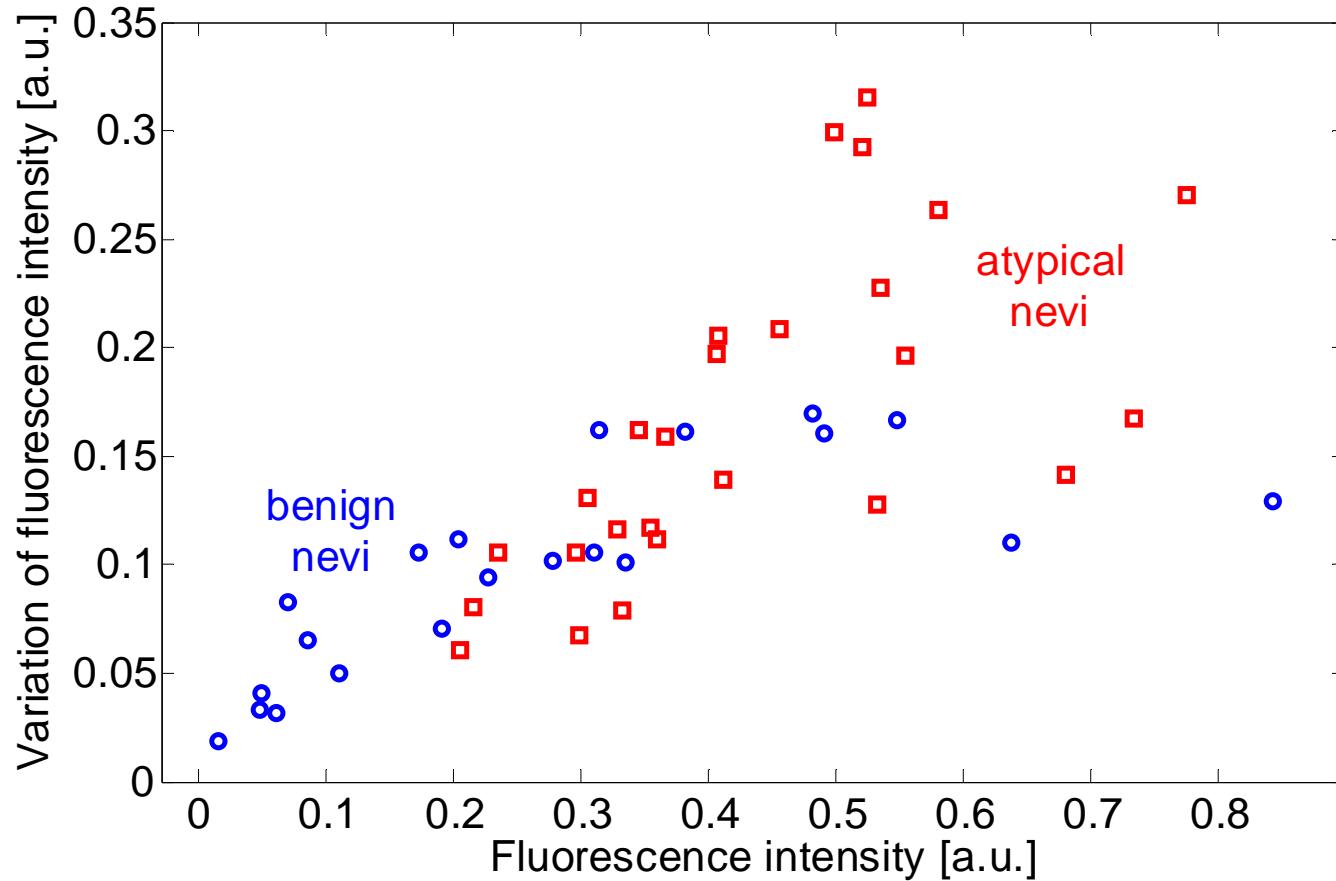
Comparison of diffuse reflectance spectra



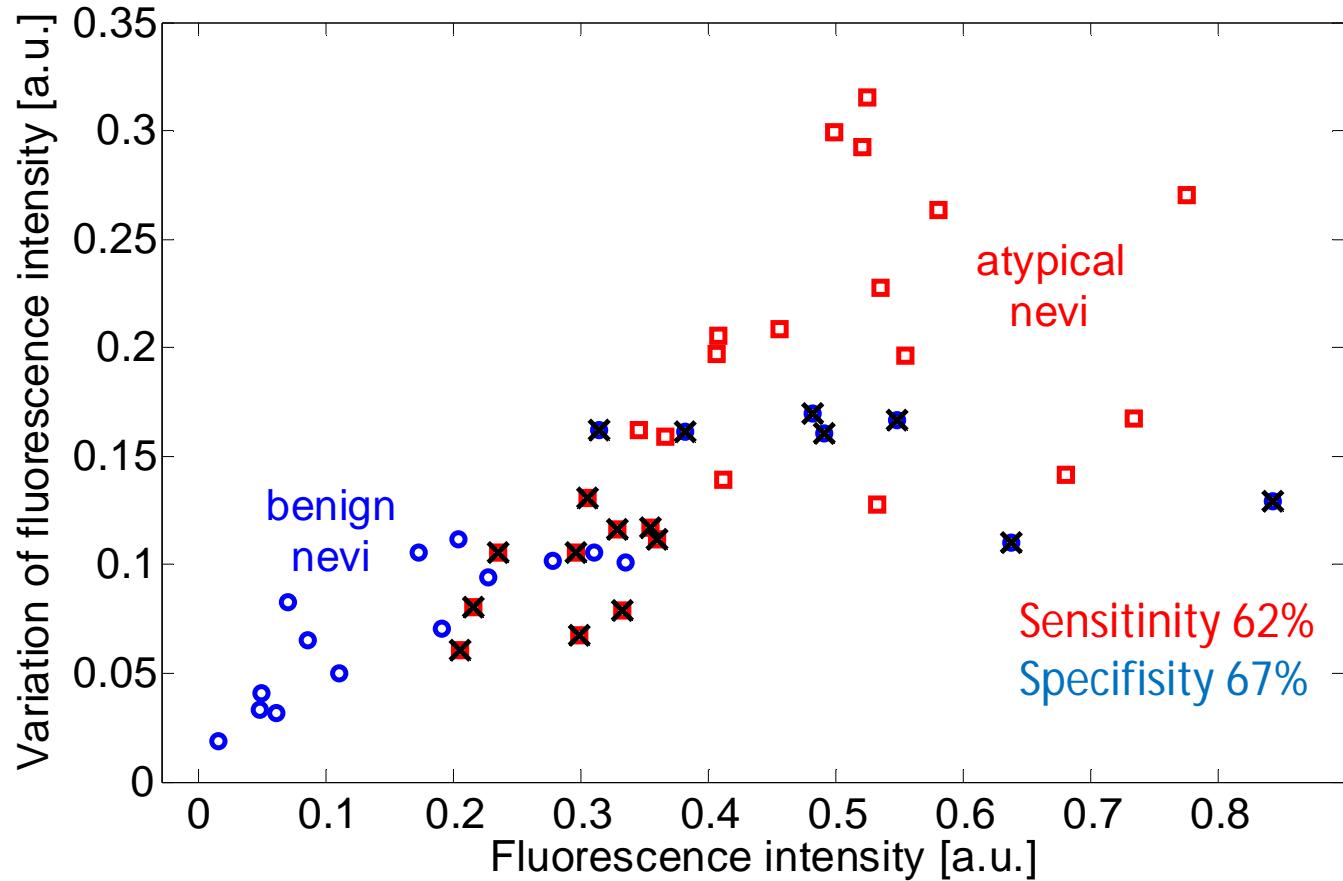
Comparison of fluorescence spectra



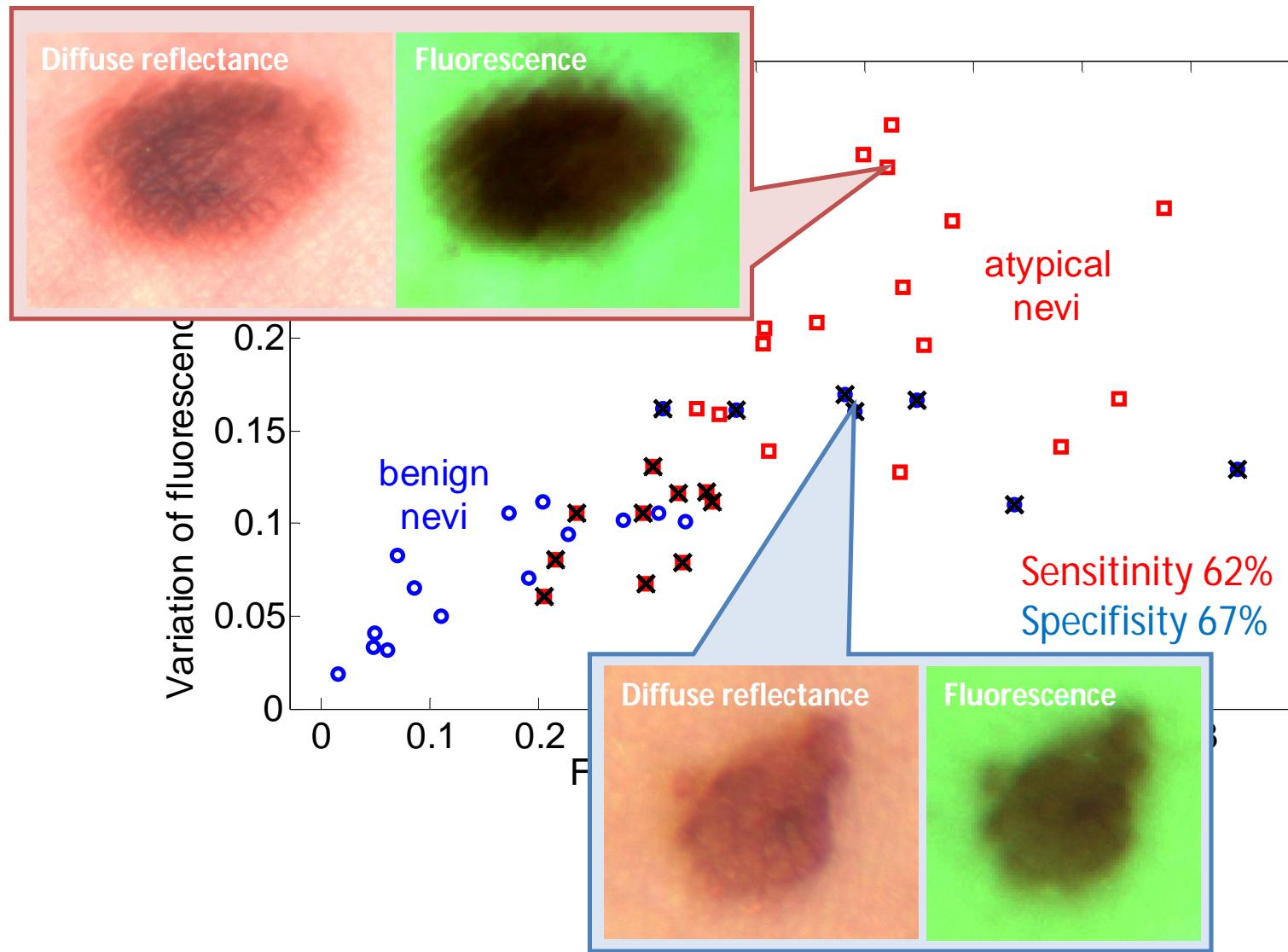
Benign – atypical nevi discrimination



Benign – atypical nevi discrimination



Benign – atypical nevi discrimination



Summary

- Discrimination between benign and atypical nevi was studied using diffuse reflectance and fluorescence multispectral imaging data. Mean and standard deviation values of optical density and fluorescence intensity were extracted from segmented pigmented lesions (21 benign and 26 atypical nevi) and used for further analysis.
- Fluorescence parameters showed significant difference between benign and atypical nevi. It was possible to achieve 62% sensitivity and 67% specificity for discrimination between atypical and benign lesions using averaged fluorescence mean intensity and standard deviation values.
- Diffuse reflectance parameters didn't show significant difference between benign and atypical lesions.
- Additional measurements should be acquired to evaluate potential of both techniques for discrimination between benign and atypical lesions. Dermatologists decisions about diagnosis should be examined.
- Long term study with repetitive measurements is required to obtain samples of early development of malignant lesions.

Acknowledgements



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



This study was supported by the European Social Fund project
“Innovative biomedical image acquisition and processing technologies”,
grant #2013/0009/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/014.



Dainis Jakovels
dainis.jakovels@lu.lv



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



ELEKTRONIKAS UN
DATORZINĀTNU
INSTITŪTS



Mākslīgo neironu tīklu izmantošana veidojumu segmentācijai ādas attēlos

Roberts Kadiķis

Projekts

Inovatīvas biomedicīnisko attēlu iegūšanas un apstrādes tehnoloģijas
(InBiT)

Nr. 2013/0009/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/014



INSTITUTE OF
ELECTRONICS AND
COMPUTER SCIENCE

Roberts Kadiķis

InBiT

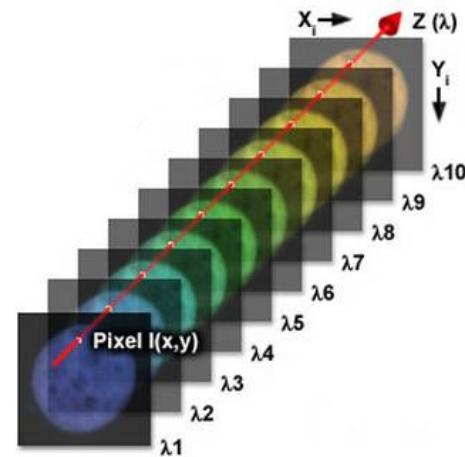
27/08/2015

1

Priekšapsrtādes uzdevumi

REĢISTRĀCIJA

R. Kadikis, "Registration Method for Multispectral Skin Images," In Radioelektronika, Proc. 25th International Conference, IEEE, 2015, pp. 232-235.

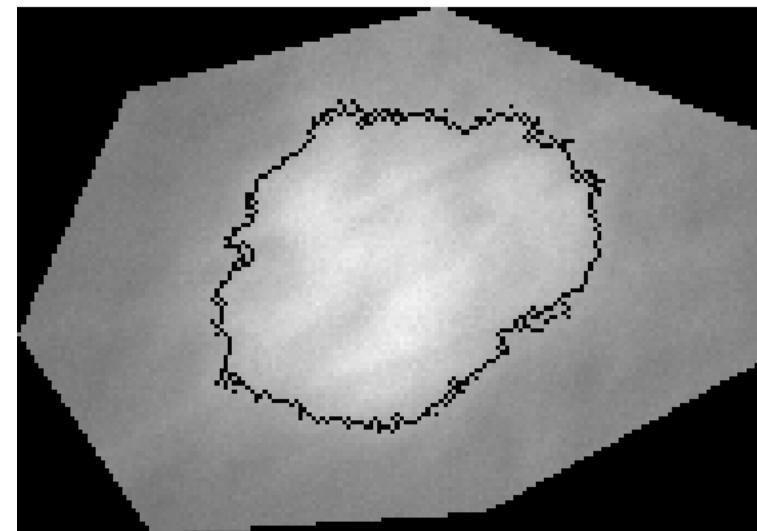
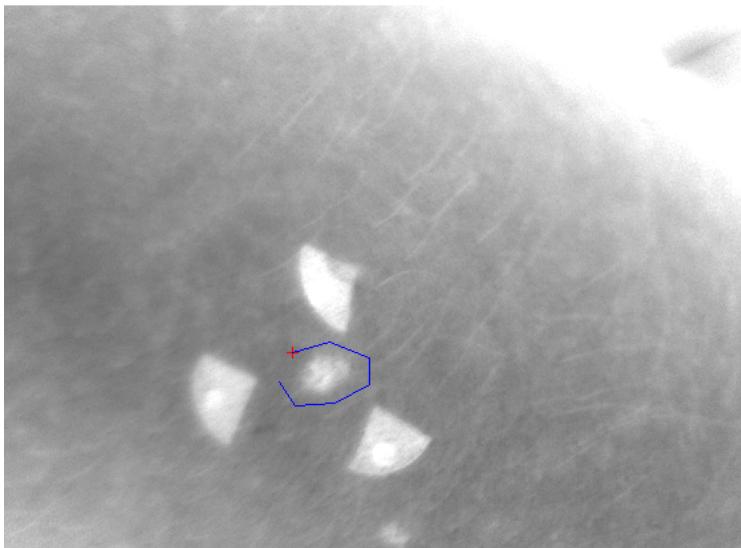


SEGMENTĀCIJA

- ◆ Pikselu klasificēšana – veidojumam atbilstošie pikseļi vai veidojumam neatbilstošie pikseļi.



Segmentācija pēc intensitātes



- ♦ Otsu metodē pikseļi tiek sadalīti tādējādi, ka fona un priekšplāna pikseļu izkliežu summa ir minimāla

$$\sigma_w^2 = W_f \sigma_f^2 + W_b \sigma_b^2$$

W_f – priekšplāna (veidojuma) pikseļu skaits

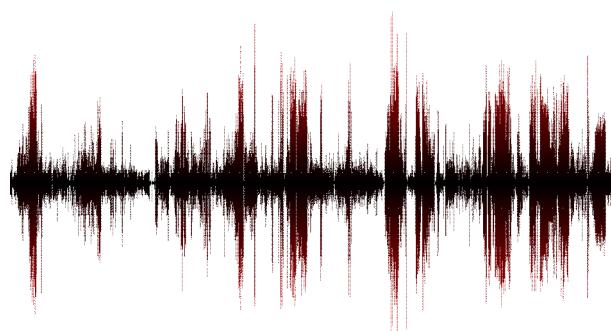
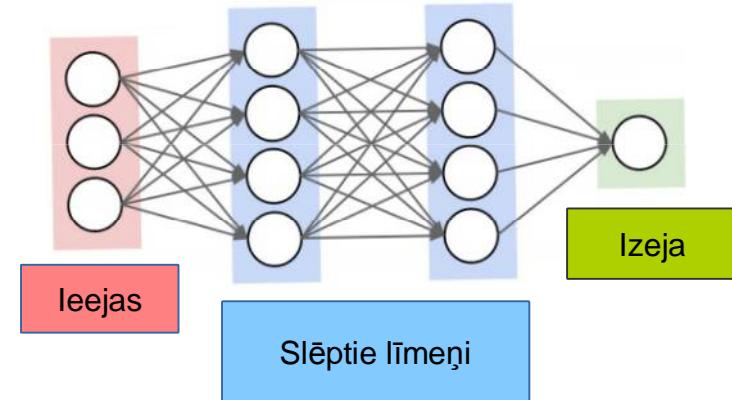
W_b – fona (ādas) pikseļu skaits

σ_f^2 – priekšplāna pikseļu dispersija

σ_b^2 – fona pikseļu dispersija

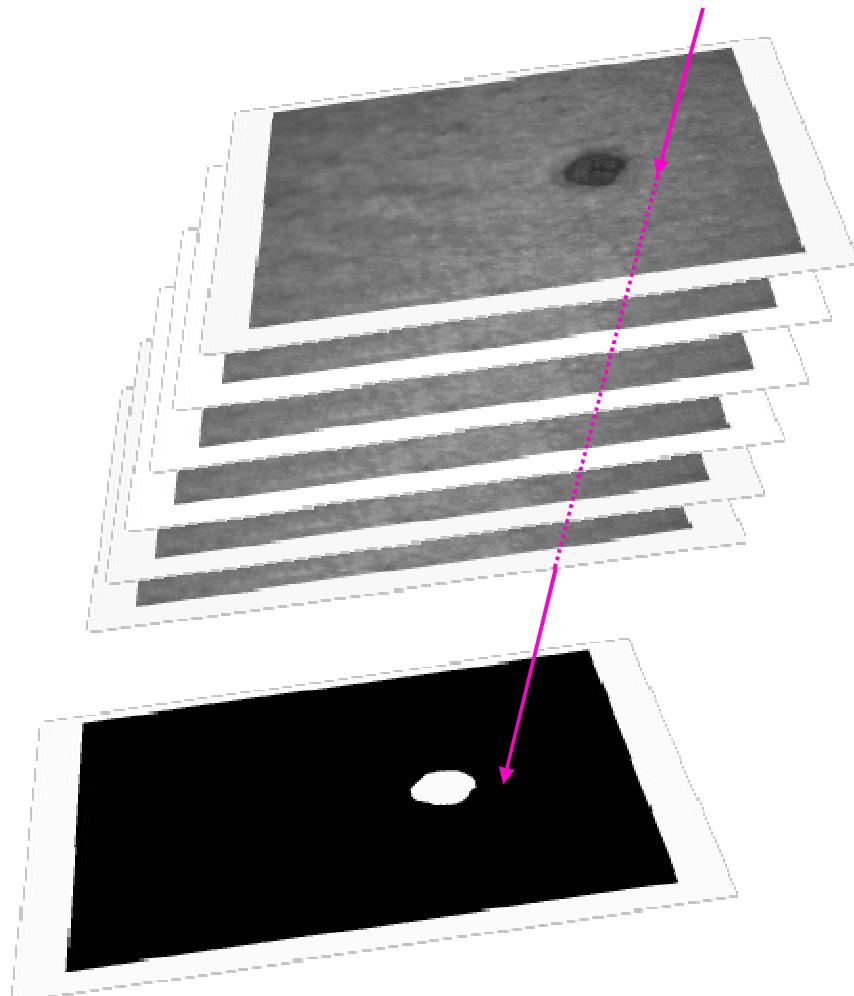
σ_w^2 – svaroto dispersiju summa

- ◆ GPU Technology Conference
- ◆ Deep Learning
- ◆ Objektu atpazīšana attēlos
CNN – Convolutional neural network
- ◆ Runas atpazīšana
RNN – Recursive neural network
- ◆ Attēlu aprakstīšana
CNN → RNN



Two dogs play in the grass.

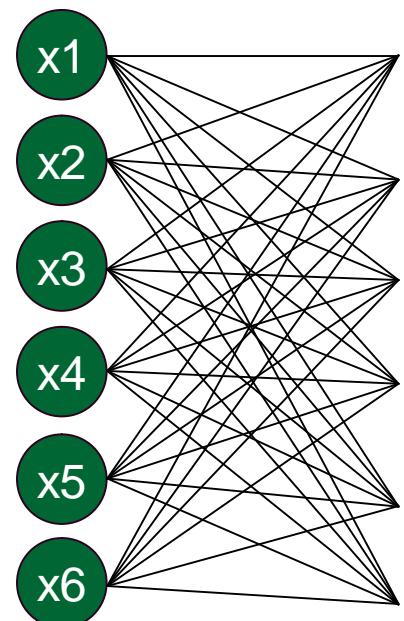
Ieejas datu sagatavošana



- ♦ Treniņkopas elements:

$$x = \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \\ x_4 \\ x_5 \\ x_6 \end{bmatrix}$$

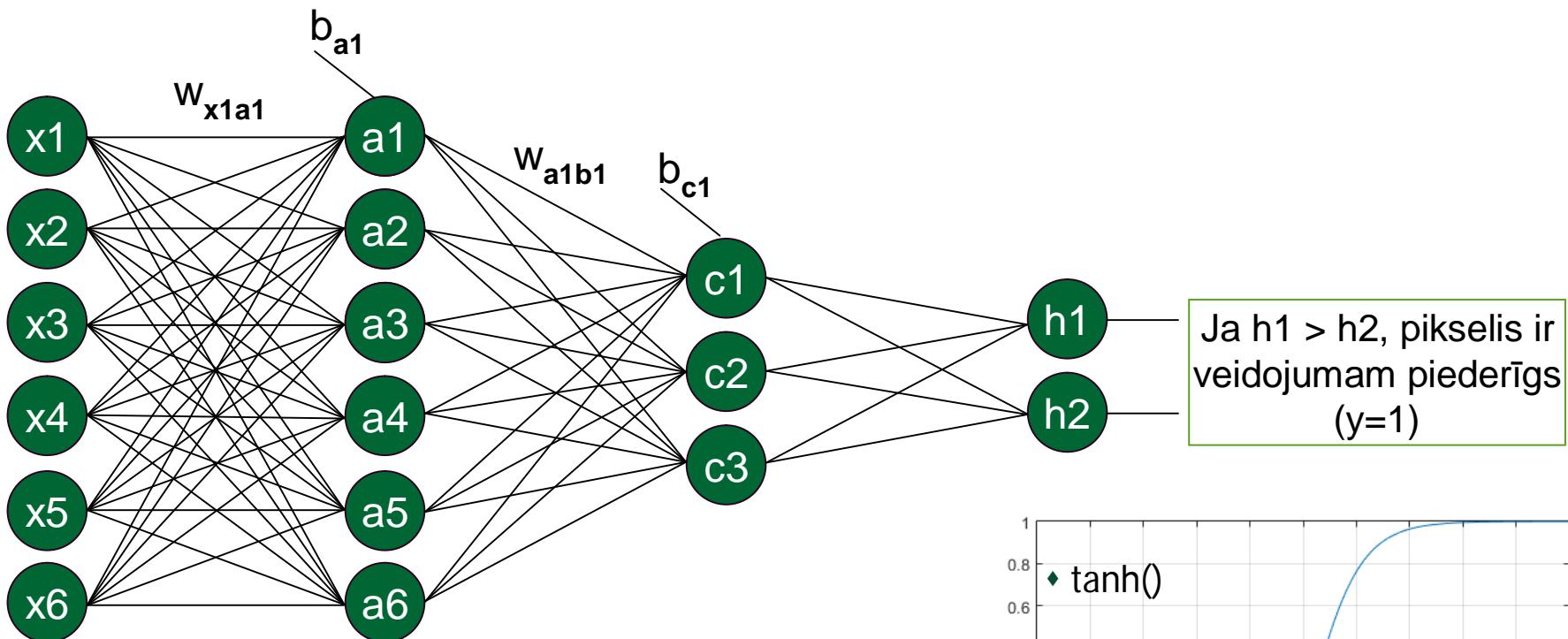
- ♦ Neironu tīkla ieejas slānis:



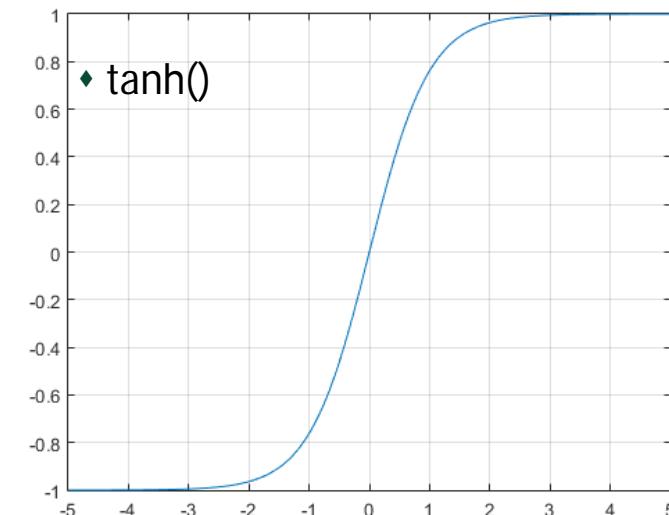
- ♦ Sagaidāmais rezultāts:

$$y = 0$$

Neironu tīklu trenēšana 1

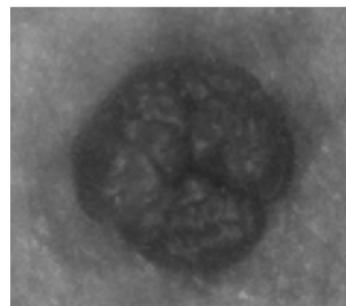


$$a_1 = \tanh\left(\sum_{i=1}^6 x_i w_{xia1} + b_{a1}\right)$$

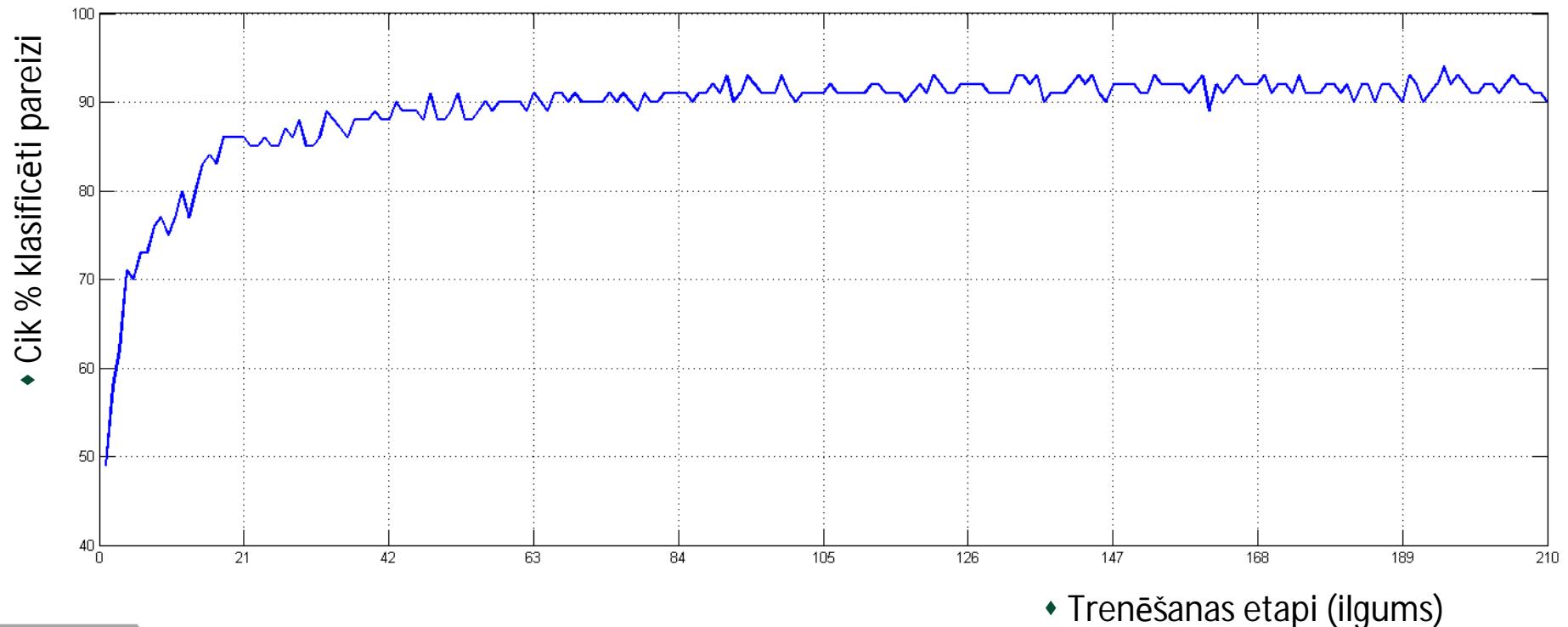
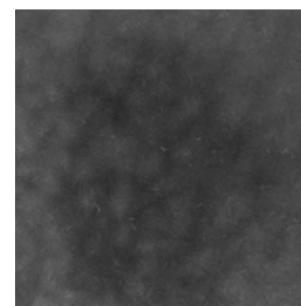


Neironu tīklu trenēšana 2

♦ Treniņa kopa



♦ Testa kopa



♦ Trenēšanas etapi (ilgums)



INSTITUTE OF
ELECTRONICS AND
COMPUTER SCIENCE

Roberts Kadiks

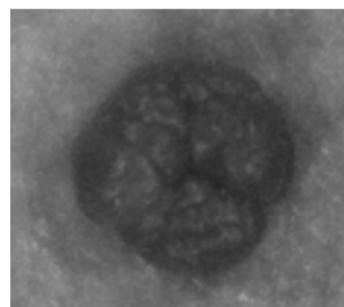
InBiT

27/08/2015

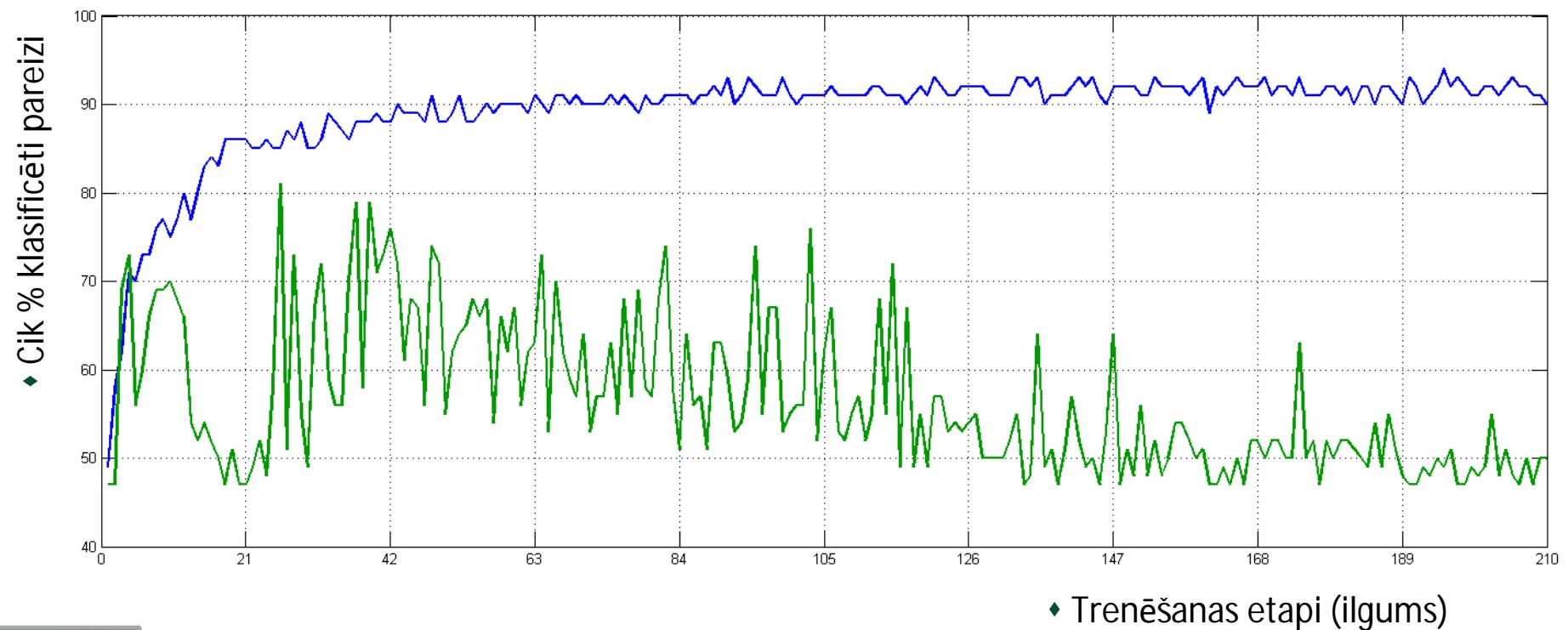
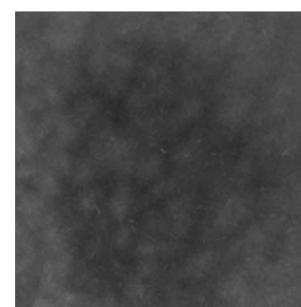
7

Neironu tīklu trenēšana 3

♦ Treniņa kopa

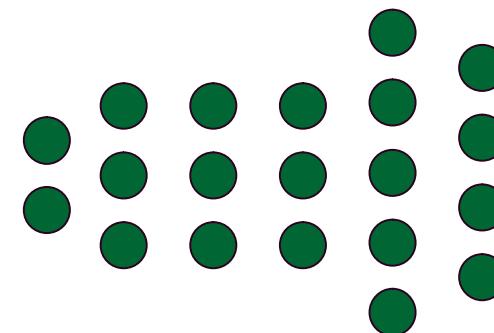
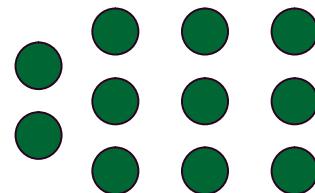
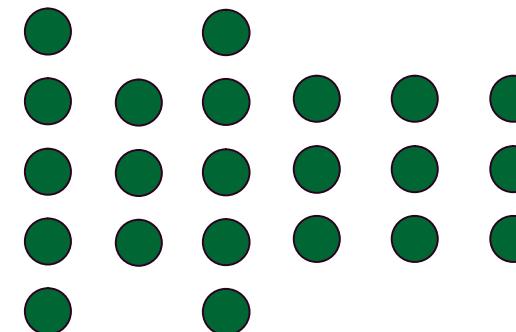
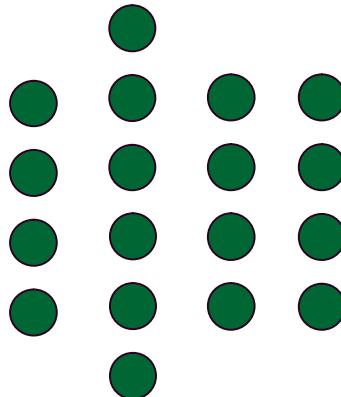


♦ Testa kopa



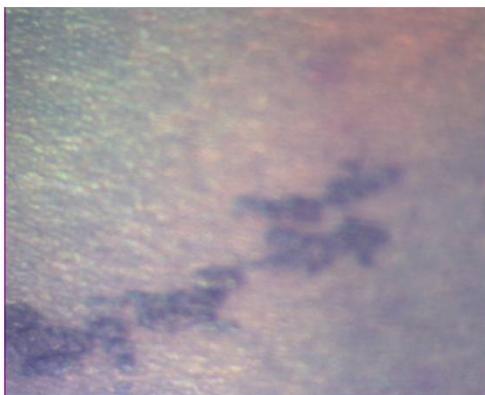
Neironu tīklu trenēšana 4

- ◆ Caffe, Theano, **Torch7**
- ◆ CUDA
- ◆ EDI GPU serveris – 4 x NVIDIA Tesla K20



Segmentācijas paātrināšana

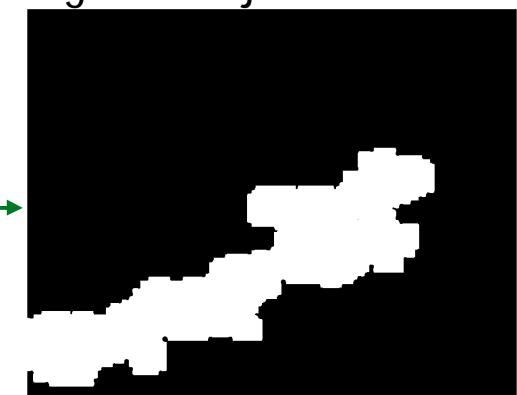
- ♦ Ieejas attēls



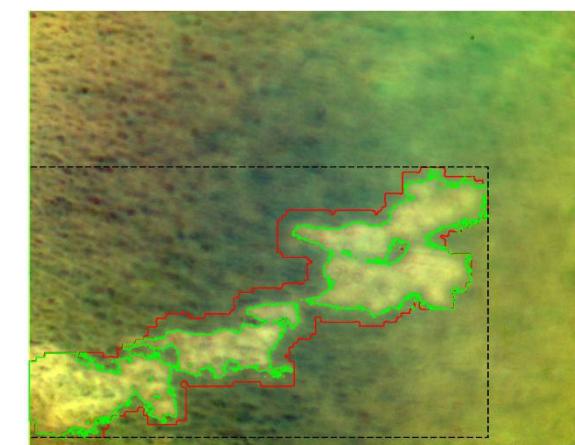
Segmentācija ar
neironu tīklu



- ♦ Aptuvena segmentācijas maska



- ♦ Segmentācijas precizēšana ar Otsu slieksni



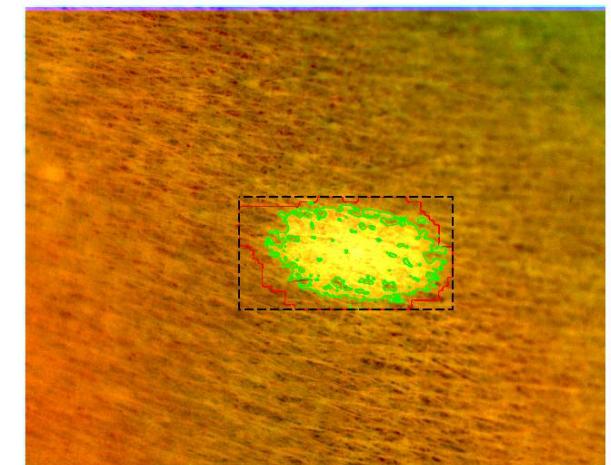
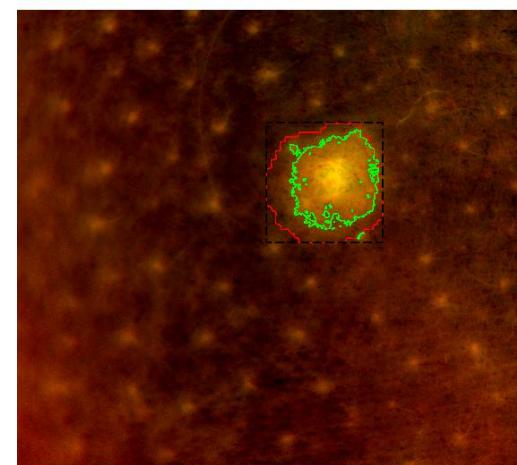
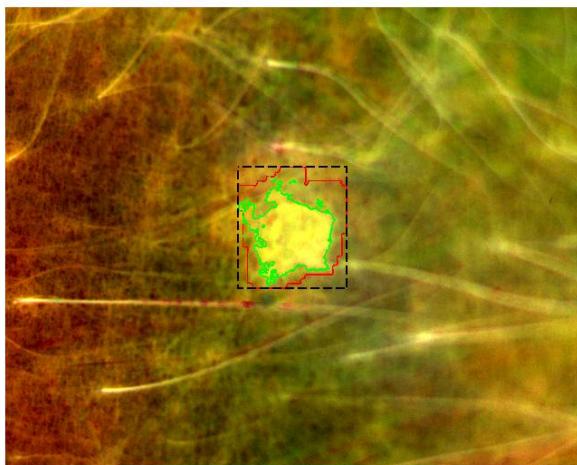
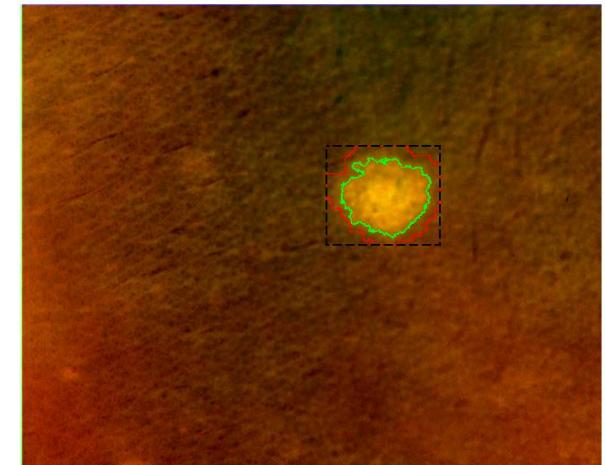
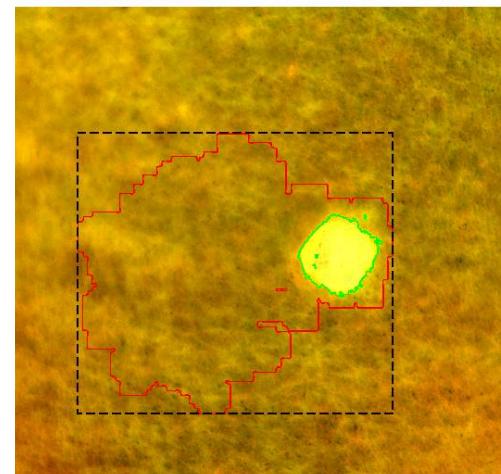
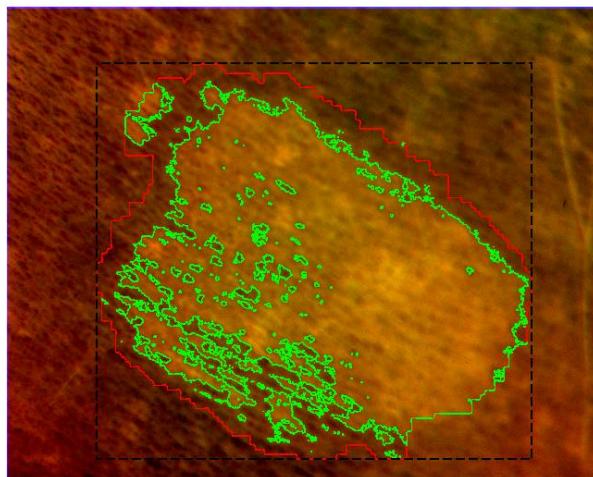
	Segmentācija ar neironu tīklu	Attēlu apstrāde + Otsu metode
Pilna izmēra attēls (1024 x 1280 x 6)	66 sec	0 sec
Samazināts attēls (103 x 128 x 6)	0.66 sec	1 sec

Nobeigums

- ♦ Tika izveidota pilnībā automātiska un ātra ādas veidojumu segmentācijas programma.
- ♦ Segmentācijas algoritma darbība atkarīga no pieejamiem treniņa datiem. Lietojot iekārtu, treniņa datu kopu var palielināt, uzlabojot algoritma darbību.
- ♦ Projektā iegūtās zināšanas par mākslīgajiem neironu tīkliem un sagatavotā vide uz EDI skaitļošanas servera dziļu tīklu trenēšanai būs noderīga turpmāku problēmu risināšanai attēlu apstrādes, datoru redzes un citās jomās.



Paldies par uzmanību!



ĀDAS MITRUMA NOTEIKŠANA AR TUVĀ INFRASARKANĀ DIAPAZONA SPEKTROSKOPIJU UN ATTĒLOŠANU

INGA SAKNĪTE, MSc. Phys.

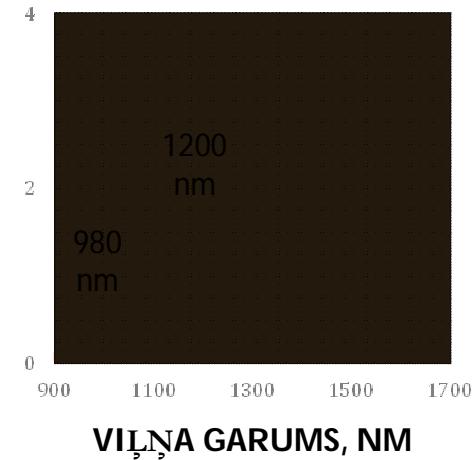
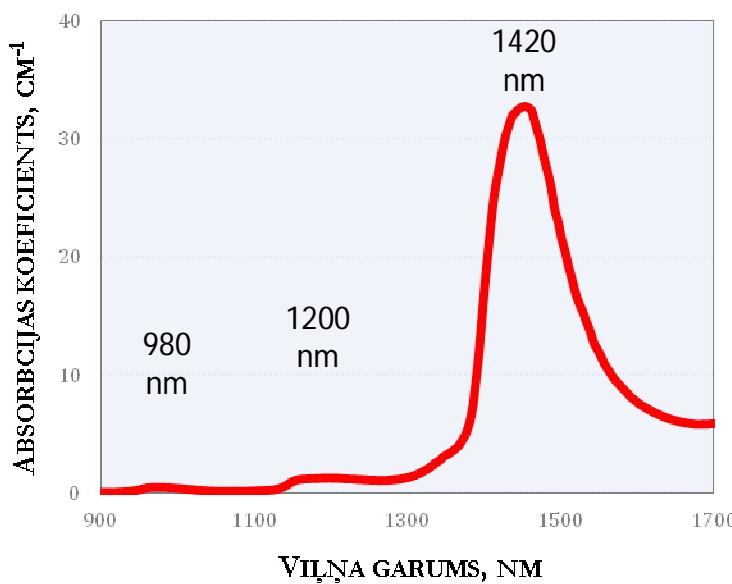
Projekta ‘Inovatīvas biomedicīnisko attēlu iegūšanas un apstrādes tehnoloģijas’

Nr. 2013/0009/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/014
noslēguma seminārs

Rīgā, 2015. gada 27. augustā

AKTUALITĀTE

- Ādas mitruma (ūdens tilpuma daļu ādā) noteikšana ar optiskām metodēm;
- Potenciāls pielietojums kosmētikas industrijā, medicīnā;
- Šobrīd esošās metodes pārsvarā balstās uz pretestības/kapacitātes izmaiņām ādā mitruma ietekmē (tieka uzskatītas par neprecīzām);
- Optisko metožu potenciāls, tomēr joprojām neeksistē vienotas skaidras metodoloģijas un izpratnes

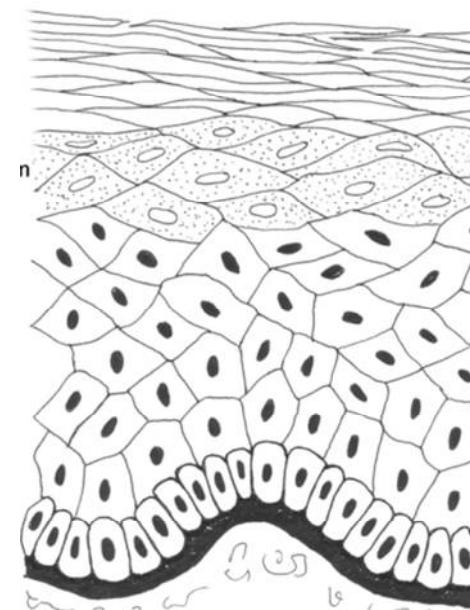


Ūdens absorbcijs spektrs no K. F. Palmer and D. Williams, "Optical properties of water in the near infrared," *J. Opt. Soc. Am.*, vol. 64, no. 8, p. 1107, 1974.

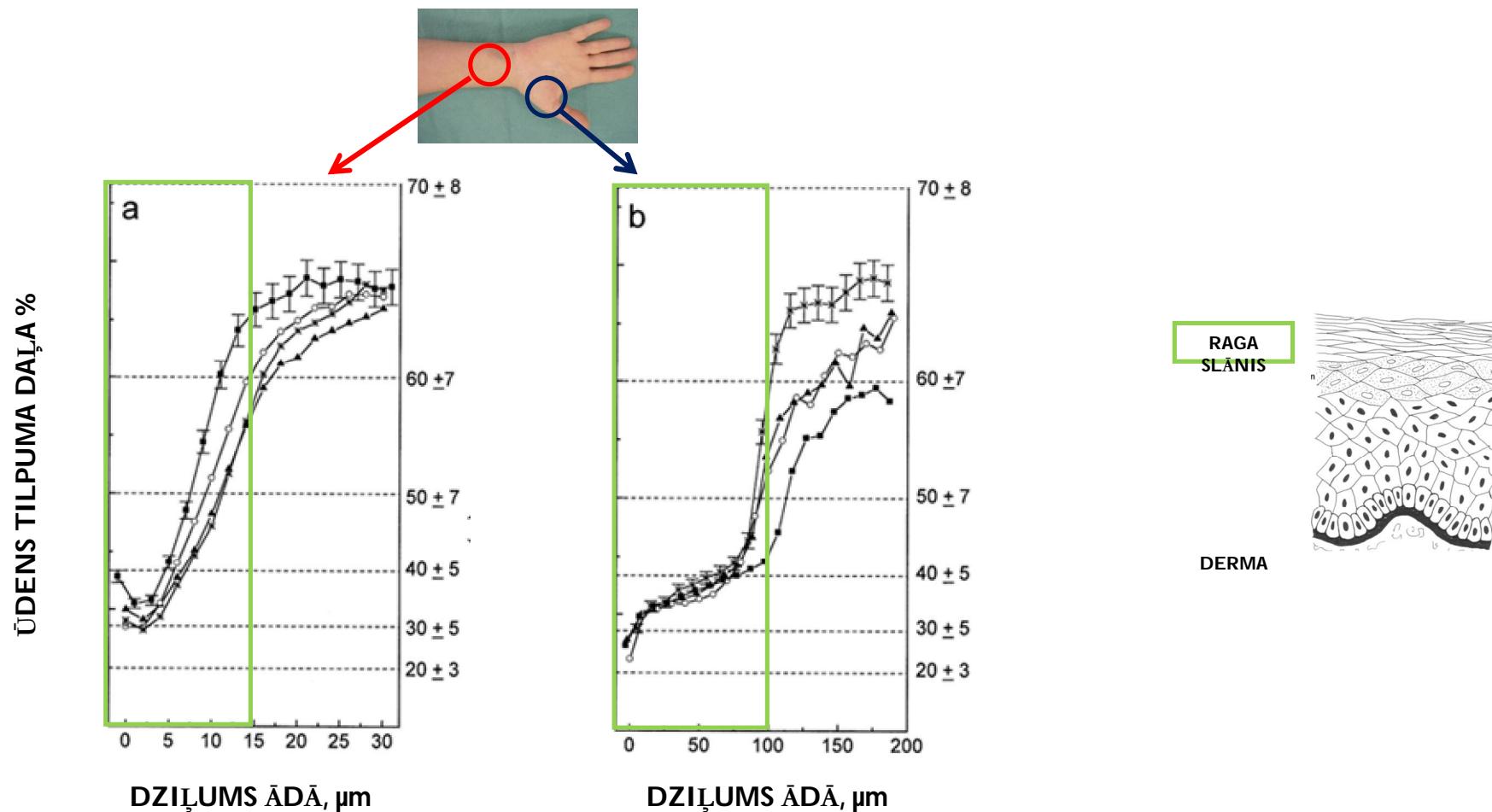
CILVĒKA ĀDA

RAGA SLĀNIS
(*STRATUM CORNEUM*)

DERMA



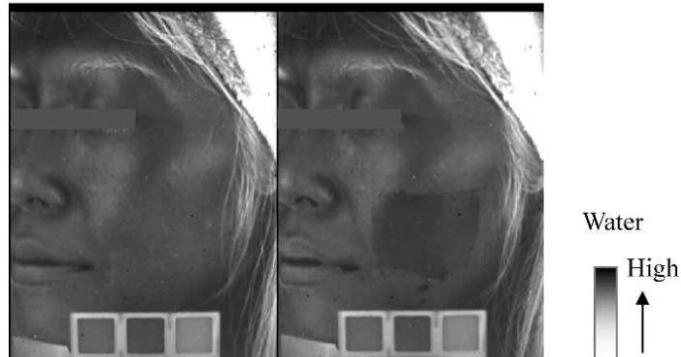
ĀDAS MITRUMS



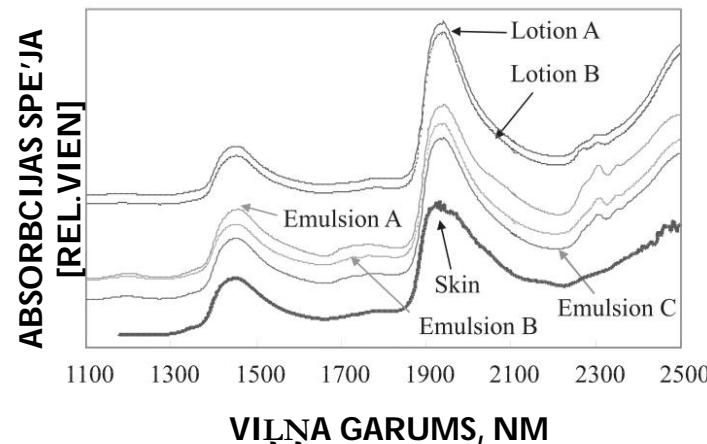
Caspers PJ, Lucassen GW, Carter E a, Bruining H a, Puppels GJ. "In vivo confocal Raman microspectroscopy of the skin: noninvasive determination of molecular concentration profiles." *J. Invest. Dermatol.* 116(3), 434–442 (2001)

AKTUALITĀTE

- Potenciāls pielietojums kosmētikas industrijā – cik labi, ātri, efektīvi dažādi **krēmi uzsūcas** cilvēka ādā?
- Līdzšinēji pētījumi, izmantojot **1950nm** ūdens absorbcijas maksimumu



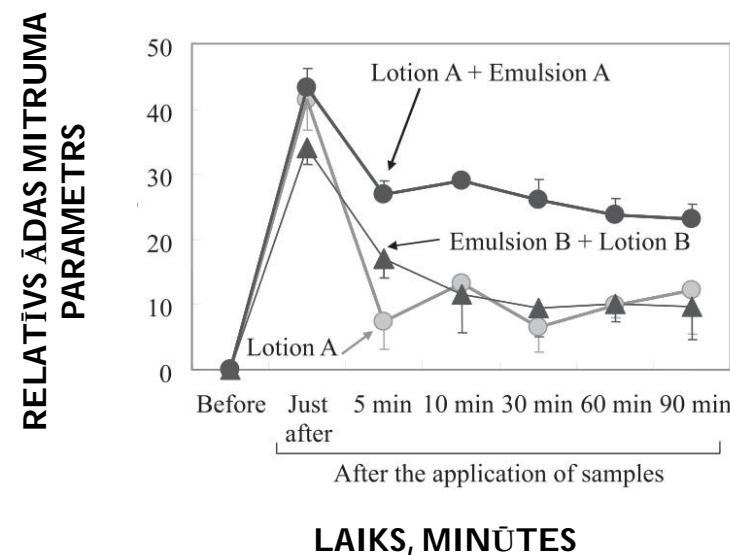
Tuvā infrasarkanā diapazona atteli pie **1950nm** pirms un pec krēma uzklāšanas



H. Arimoto and M. Egawa, "Water content distribution imaging of skin tissue using near-infrared camera and measurement depth analysis," vol. 8587, p. 85871T, Feb. 2013.

AKTUALITĀTE

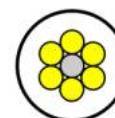
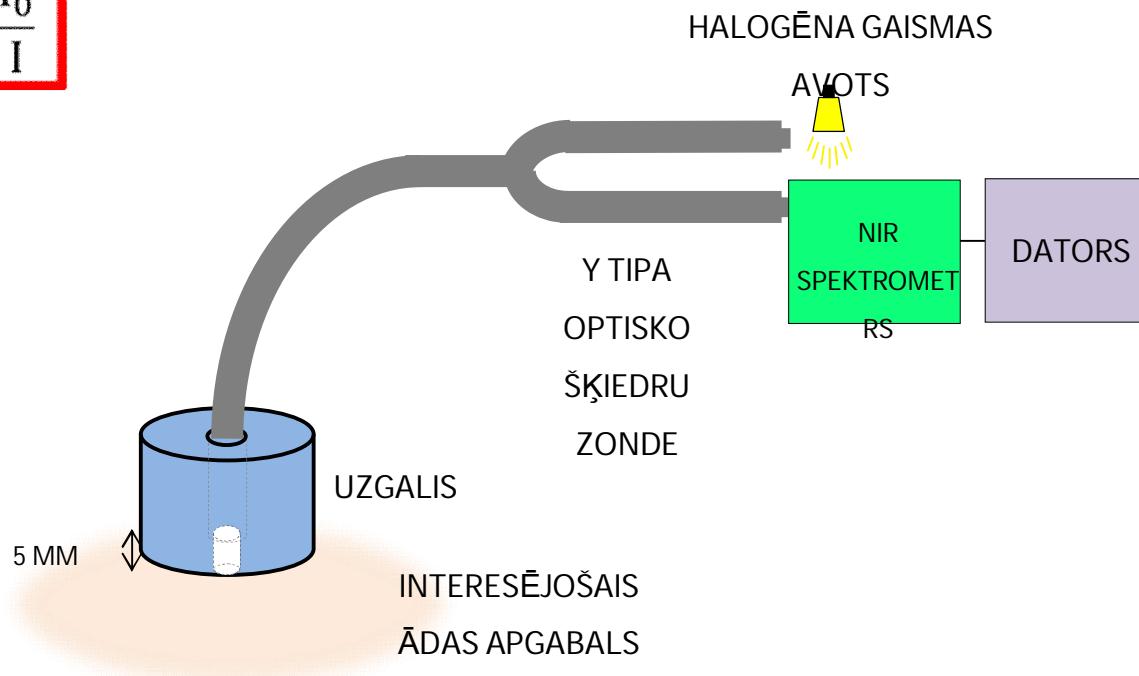
- Potenciāls pielietojums kosmētikas industrijā – cik labi, ātri, efektīvi dažādi **krēmi uzsūcas** cilvēka ādā?
- Līdzšinēji pētījumi, izmantojot **1950nm** ūdens absorbcijas maksimumu;
- **Mērķis** – izpētīt iespējas novērtēt ādas mitrumu, izmantojot spektra diapazonu no **900-1700nm**



H. Arimoto and M. Egawa, "Water content distribution imaging of skin tissue using near-infrared camera and measurement depth analysis," vol. 8587, p. 85871T, Feb. 2013.

SPEKTROSKOPIJAS MĒRĪJUMI

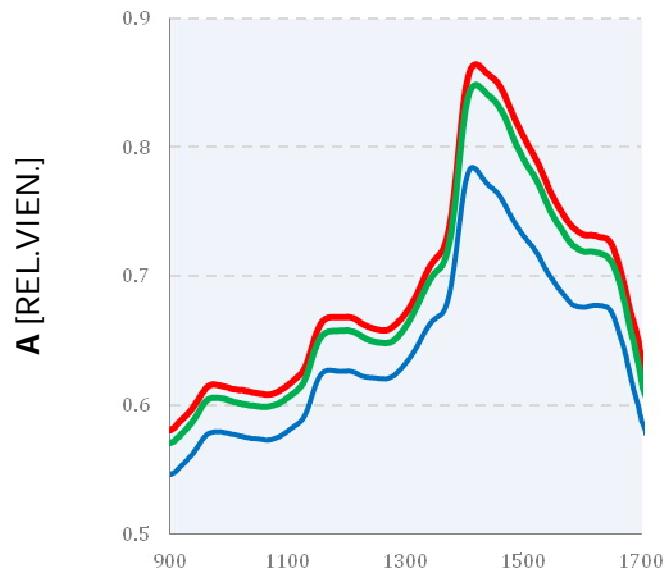
$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I}$$



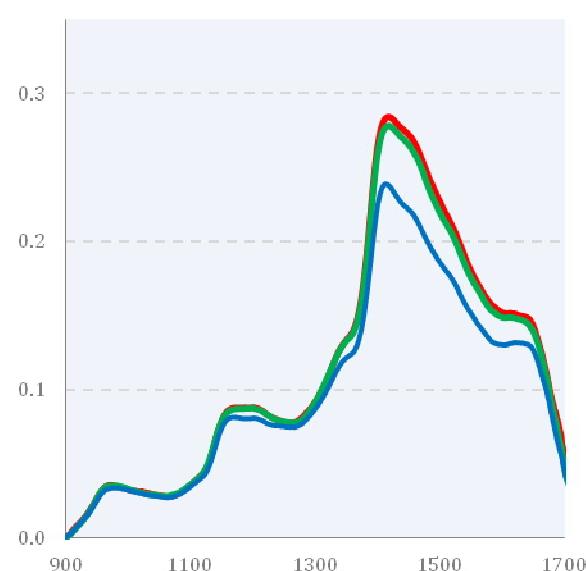
7 šķiedras **400µm** diametrā:
6 starojošās
1 uztverošā (centrā)

SPEKTROSKOPIJAS MĒRĪJUMI

PIRMS NORMĒŠANAS



PĒC NORMĒŠANAS

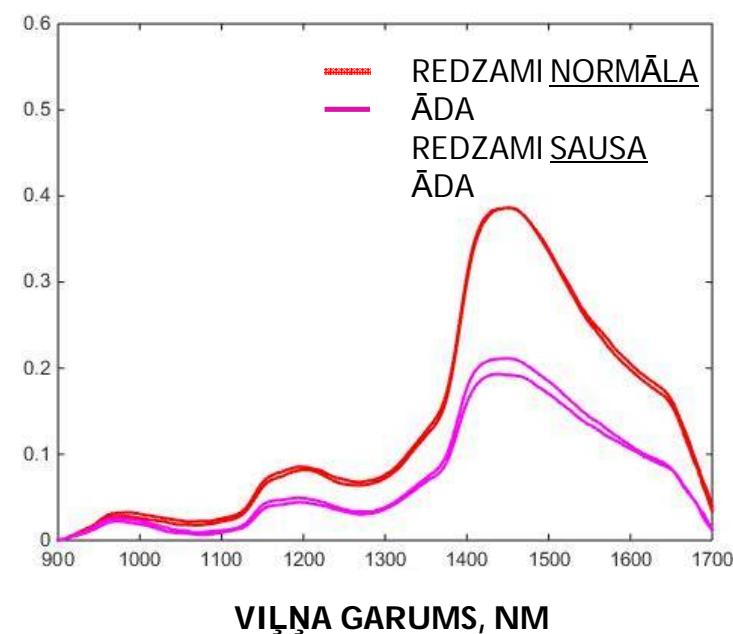
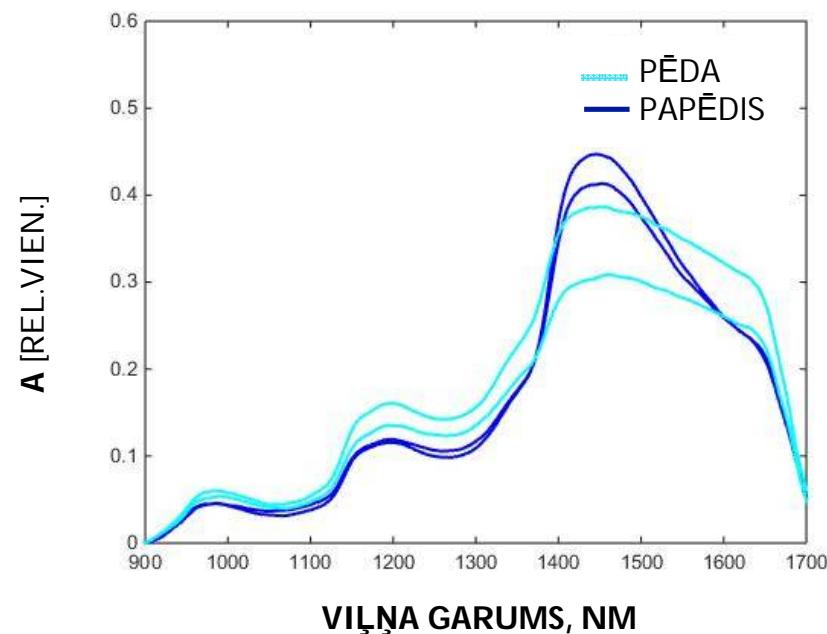


VIĻŅA GARUMS, NM

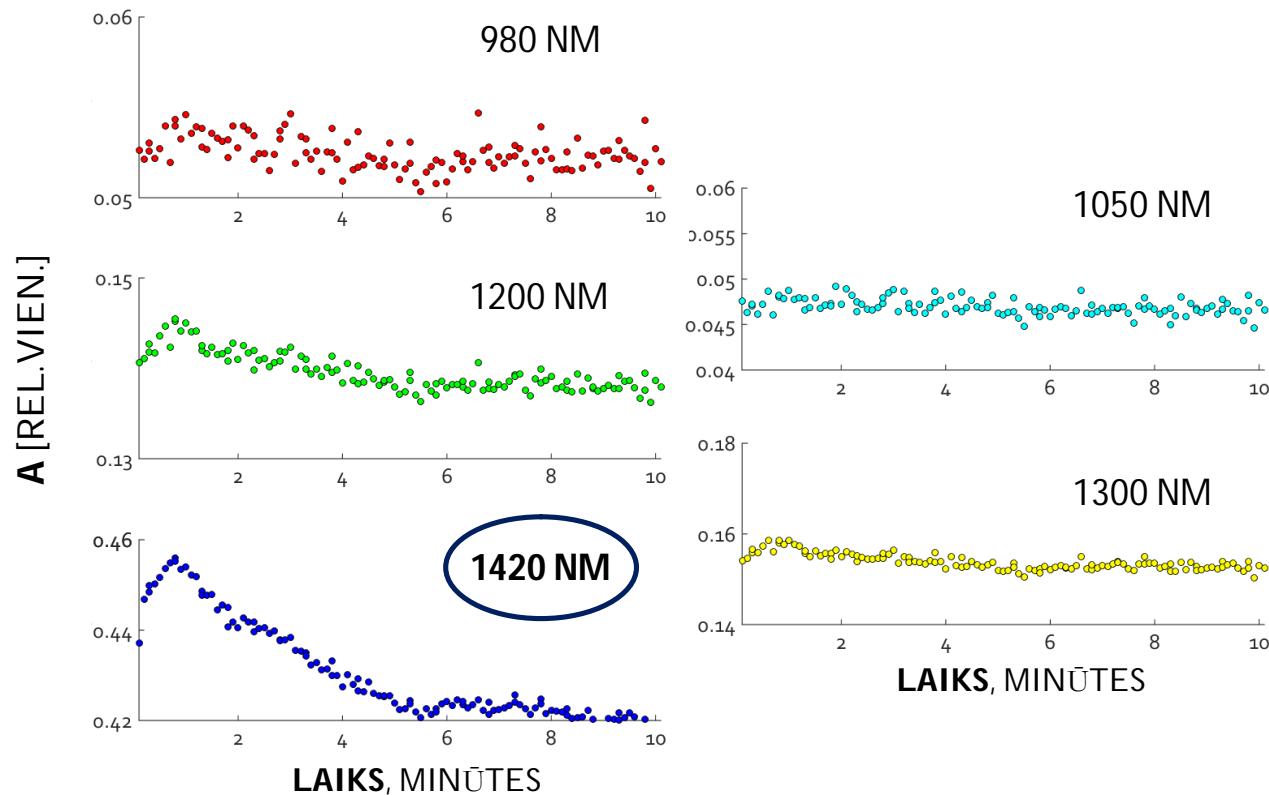
VIĻŅA GARUMS, NM

REZULTĀTI

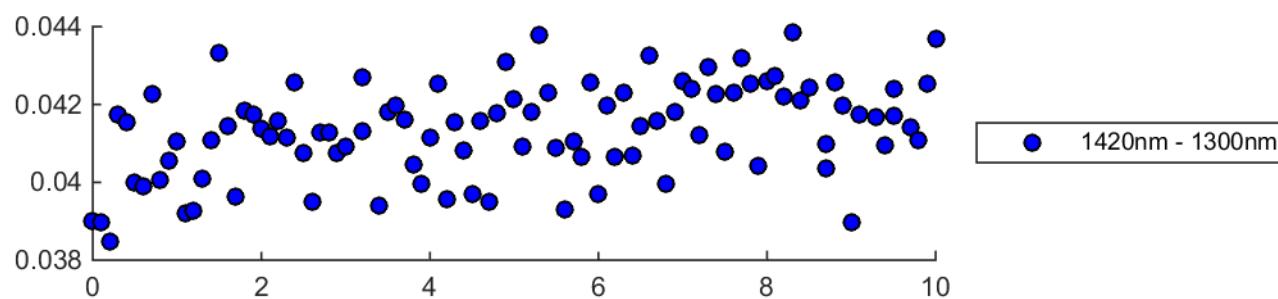
$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I}$$



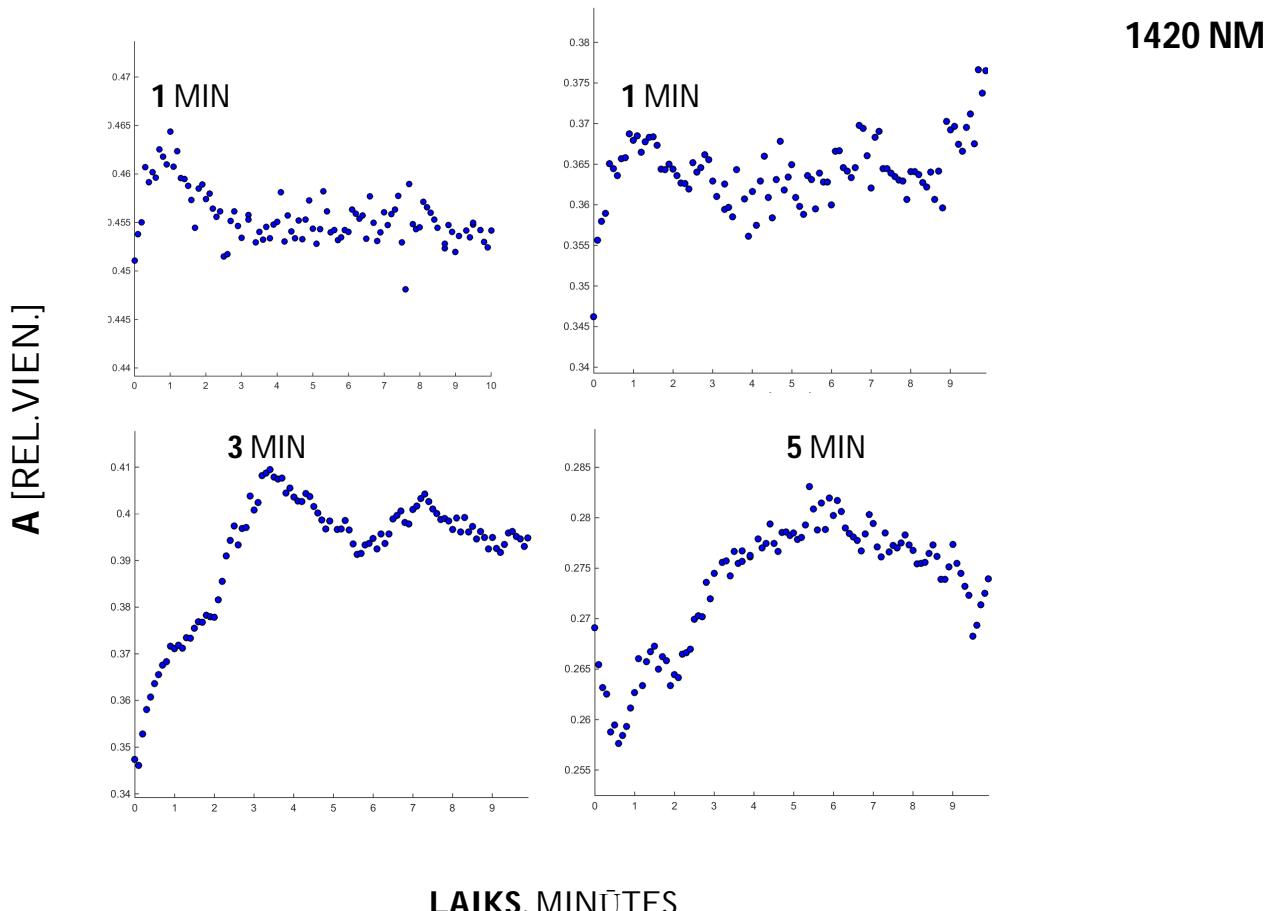
IZMAINĀS LAIKĀ PĒC KRĒMA UZKLĀŠANAS



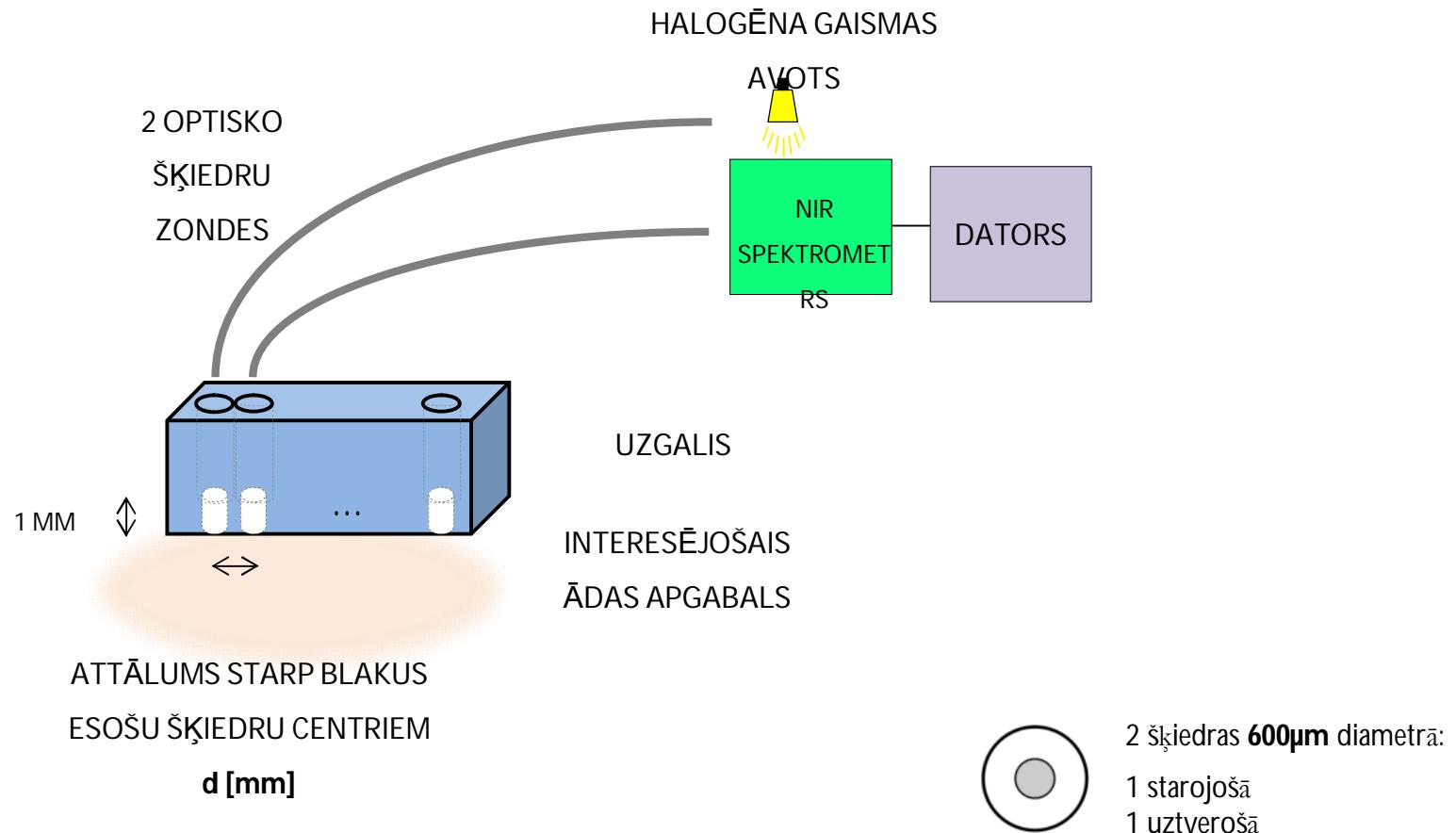
IZMAINĀS LAIKĀ PĒC KRĒMA UZKLĀŠANAS



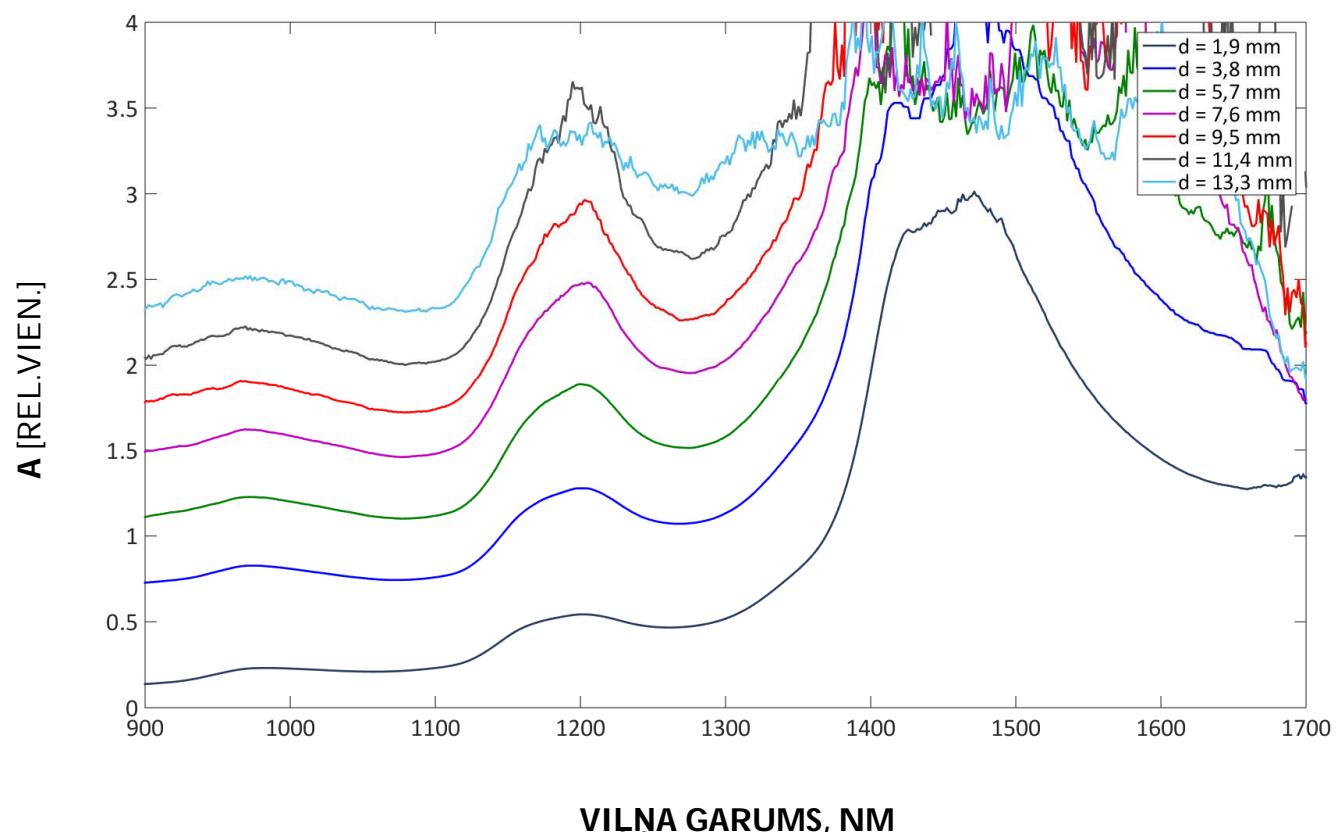
IZMAINĀS LAIKĀ PĒC KRĒMA UZKLĀŠANAS



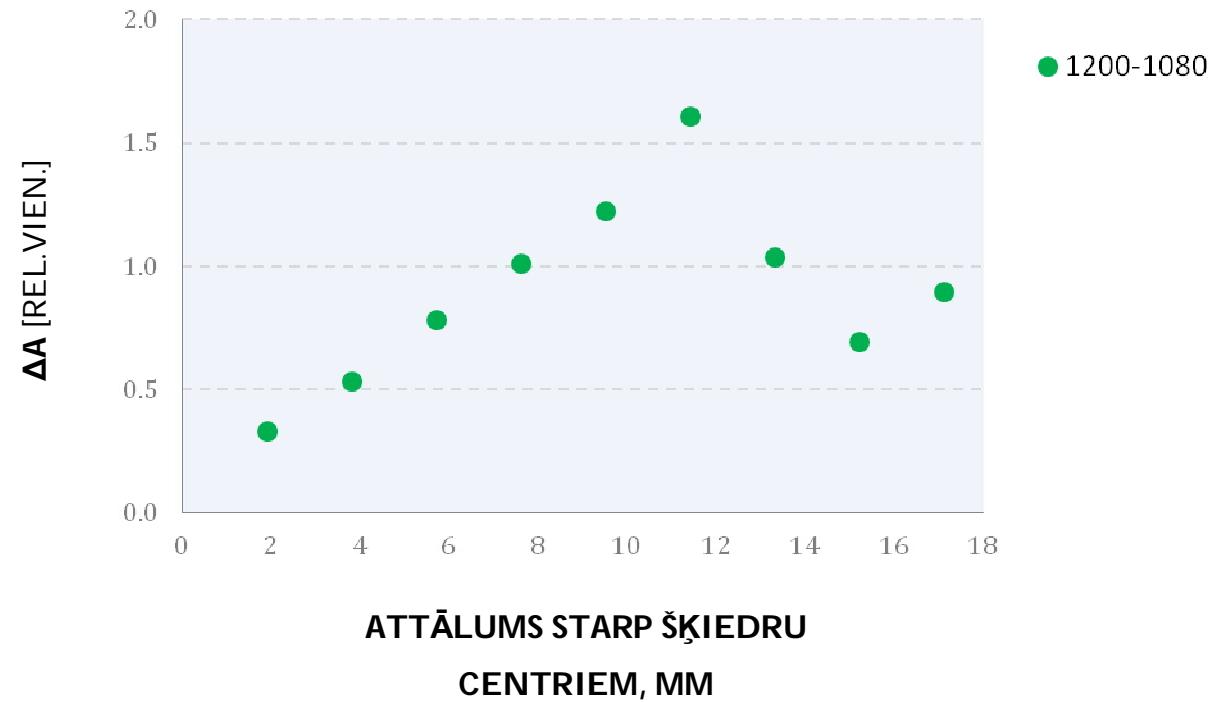
DAŽĀDU ŠĶIEDRU ATTĀLUMU SPEKTROSKOPIJAS MĒRĪJUMI



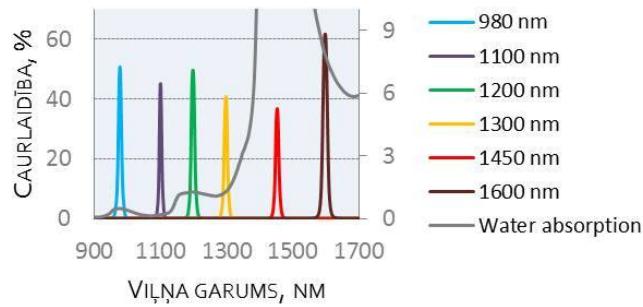
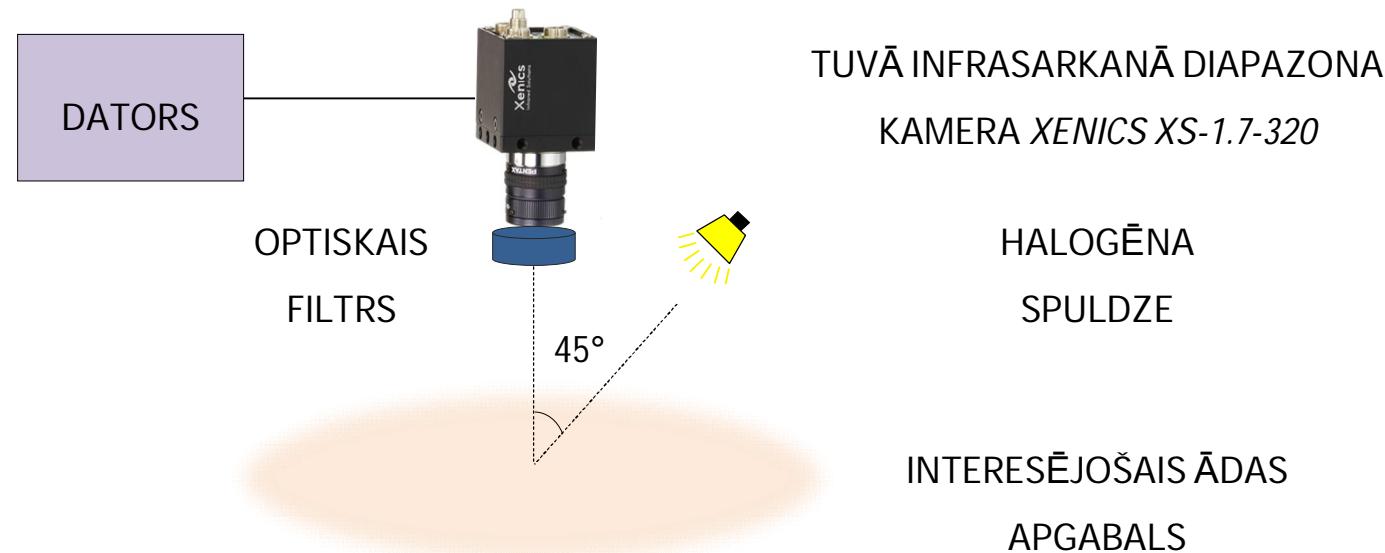
DAŽĀDU ŠĶIEDRU ATTĀLUMU SPEKTROSKOPIJAS MĒRĪJUMI



DAŽĀDU ŠĶIEDRU ATTĀLUMU SPEKTROSKOPIJAS MĒRĪJUMI

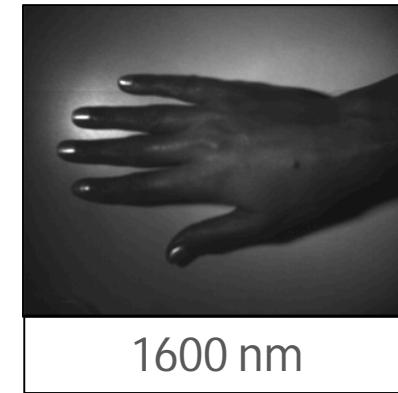
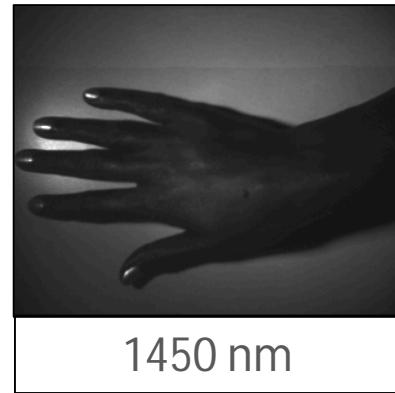
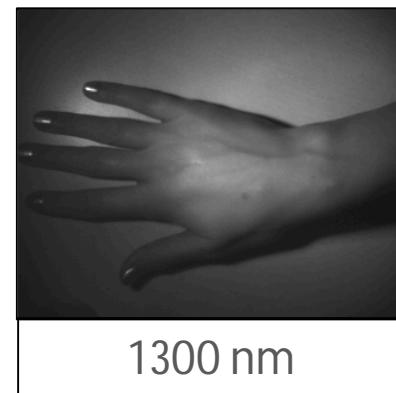
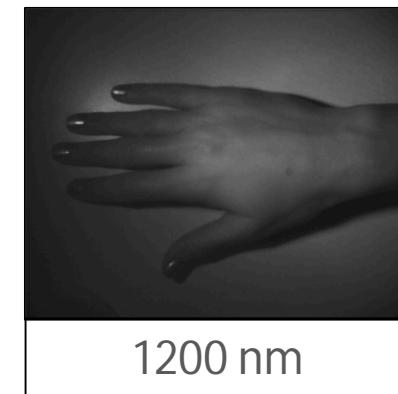
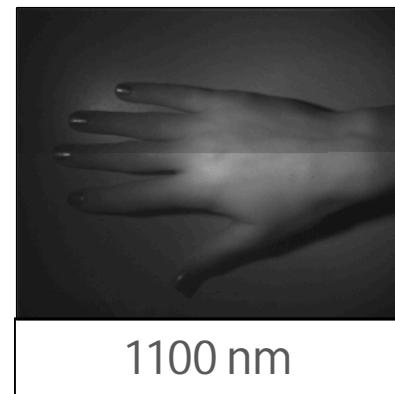
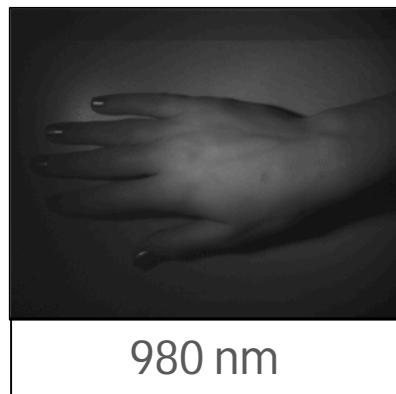


ATTĒLOŠANAS MĒRĪJUMI

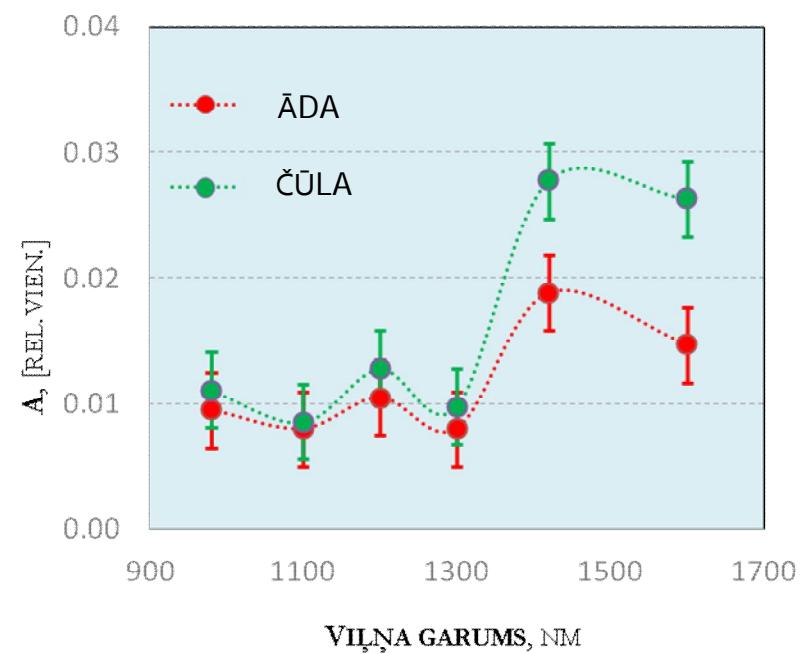
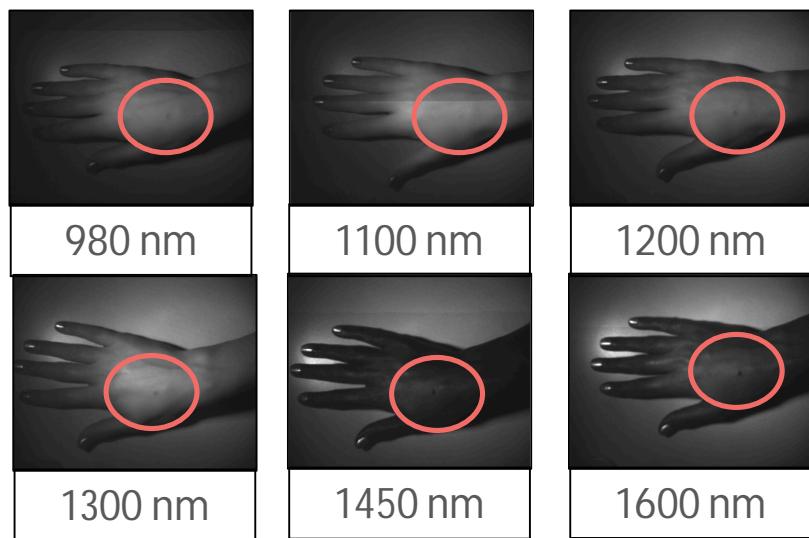


$$A(x,y) = \frac{1}{R(x,y)}$$

REZULTĀTI



REZULTĀTI



$$A(x, y) = \frac{1}{R(x, y)}$$

SECINĀJUMI UN DISKUSIJA

- Izstrādātā metode ādas mitruma izmaiņu novērtēšanai laikā pēc mitrinoša krēma uzklāšanas ar atstarotās gaismas spektroskopiju parāda tuvā infrasarkanā spektra **diapazona līdz 1700nm potenciālu neinvazīvam ādas mitruma novērtējumam**;
- Ar izstrādāto metodiku iespējams novērtēt ādas absorbcijas izmaiņas laikā **pēc krēma uzklāšanas** – vislabāk šim uzdevumam der iespējami mazs attālums starp uztverošo un starojošo šķiedru;
- Izmantojot eksperimentālo stendu, kurā uztverošā un starojošā šķiedra atrodas tālāk viena no otras, novērojama absorbcijas palielināšanās, kas varētu nozīmēt to, ka tiek uztverta informācija **no dzīļākiem ādas slāniem**;
- Izstrādātā metode ādas mitruma kartēšanai tuvajā infrasarkanajā spektra diapazonā parāda iespēju **izšķirt ādas apgabalus ar dažādu mitruma pakāpi**, tomēr ar esošo aprīkojumu iespējams izšķirt tikai tādus apgabalus, kuru biezums ir vismaz ~1mm.

PUBLICITĀTE

Prezentācijas konferencēs

- I.Saknīte, J.Spīgulis "Determination of in vivo skin moisture level by near-infrared reflectance spectroscopy"; stenda referāts konferencē "Photonics West 2015" 7.-12. februārī (2015) Sanfrancisko, ASV
- I.Saknīte, G.Tunēns, J.Spīgulis "Study on near-infrared reflectance spectroscopy of skin for noninvasive determination of skin hydration", stenda referāts Biofotonikas vasaras skolā 6.-13. jūnijā Venas salā, Zviedrijā

Raksti

- I. Saknīte and J. Spīgulis, "Determination of in vivo skin moisture level by near-infrared reflectance spectroscopy," *Proc. SPIE*, 9332, 93320Y (2015)
- I. Saknīte, G. Tunēns, J. Spīgulis, "Study on near-infrared reflectance spectroscopy of skin for noninvasive determination of skin hydration" (*tiks iesniegts publicēšanai Journal of Biomedical Optics*)

Izstrādāta un iesniegta **doktora** **dissertācija**



Fluorescences spektroskopijas un multispektrālo attēlu izmantošana neinvazīvai GFP transfekcijas efektivitātes novērtēšanai: jaunākie rezultāti

Part2

Mindaugas Tamošiūnas

*Biophysical research group, Faculty of Natural Sciences, Vytautas
Magnus University, Vileikos 8, Kaunas, LT-44404, Lithuania*

Dainis Jakovels, Inga Saknīte, Aleksejs Ļihačovs

*Institute of Atomic Physics and Spectroscopy, University of Latvia, 19
Rainis Blvd. Riga, LV-1586, Latvia*

Roberts Kadiķis

*Institute of Electronics and Computer Science, 14 Dzerbenes St., LV-1006,
Riga, Latvia*



VYTAUTO DIDŽIOJO
UNIVERSITETAS
M C M X X I I



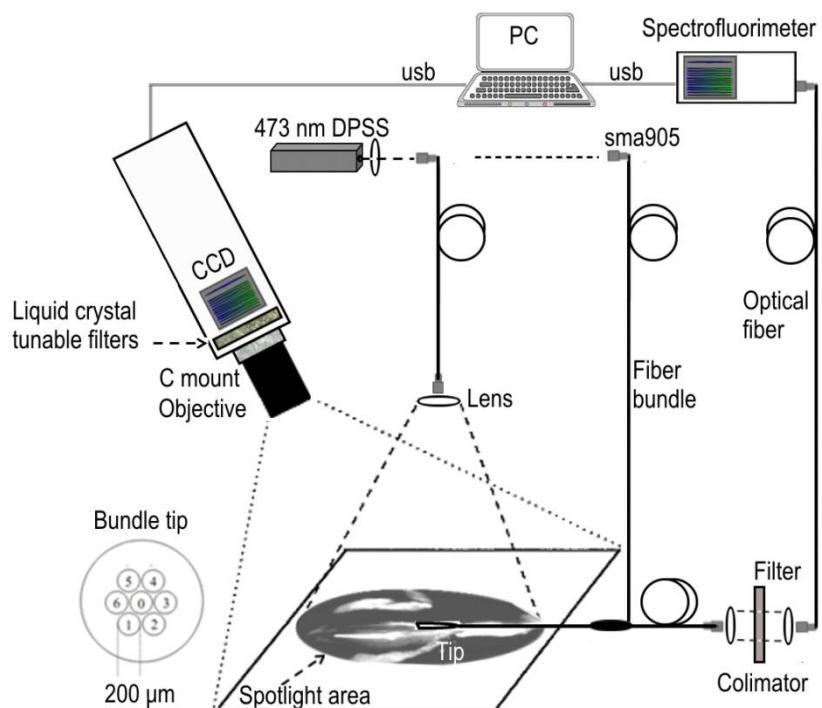
ATOMFIZIKAS UN SPEKTROSKOPIJAS INSTITŪTS



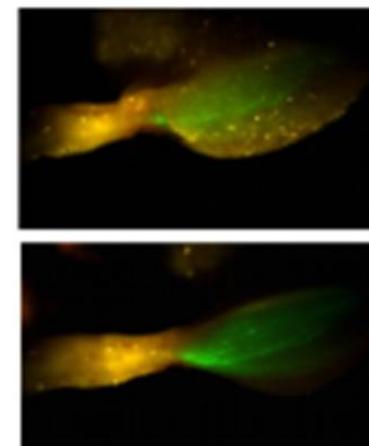
Elektronikas un datorzinātņu institūts

Riga, 2015

Method: fluorescence spectroscopy point measurements and multispectral imaging.

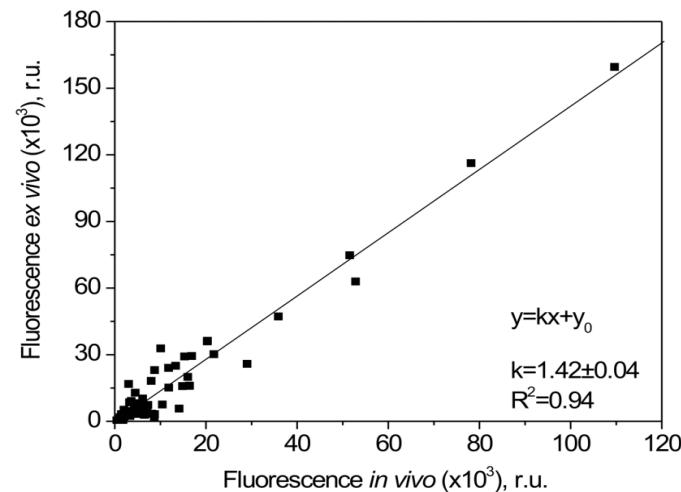


Result: correlation between GFP fluorescence intensity detected from the skin above the muscle and on muscle surface

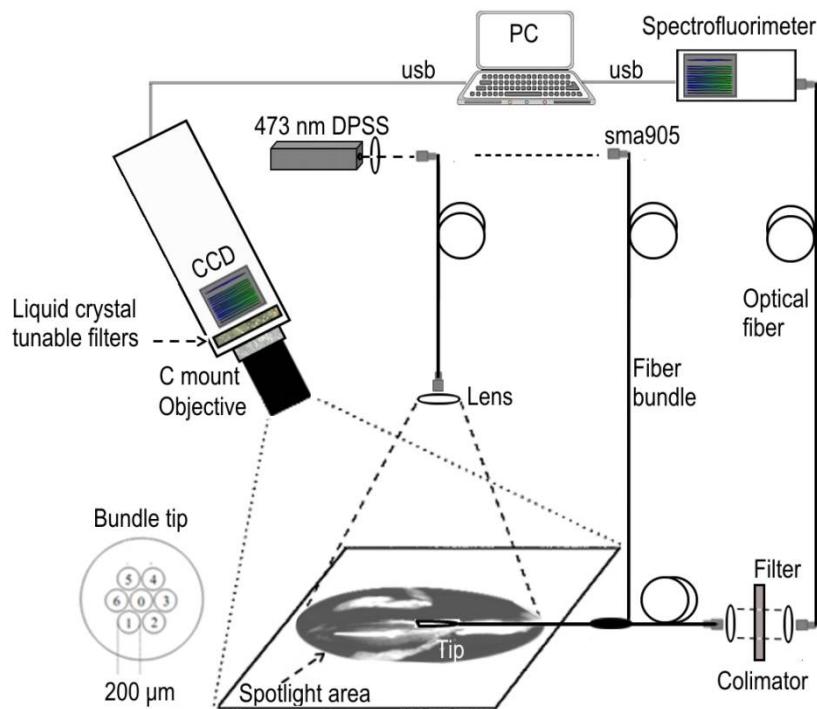


GFP fluorescence detected transcutaneously

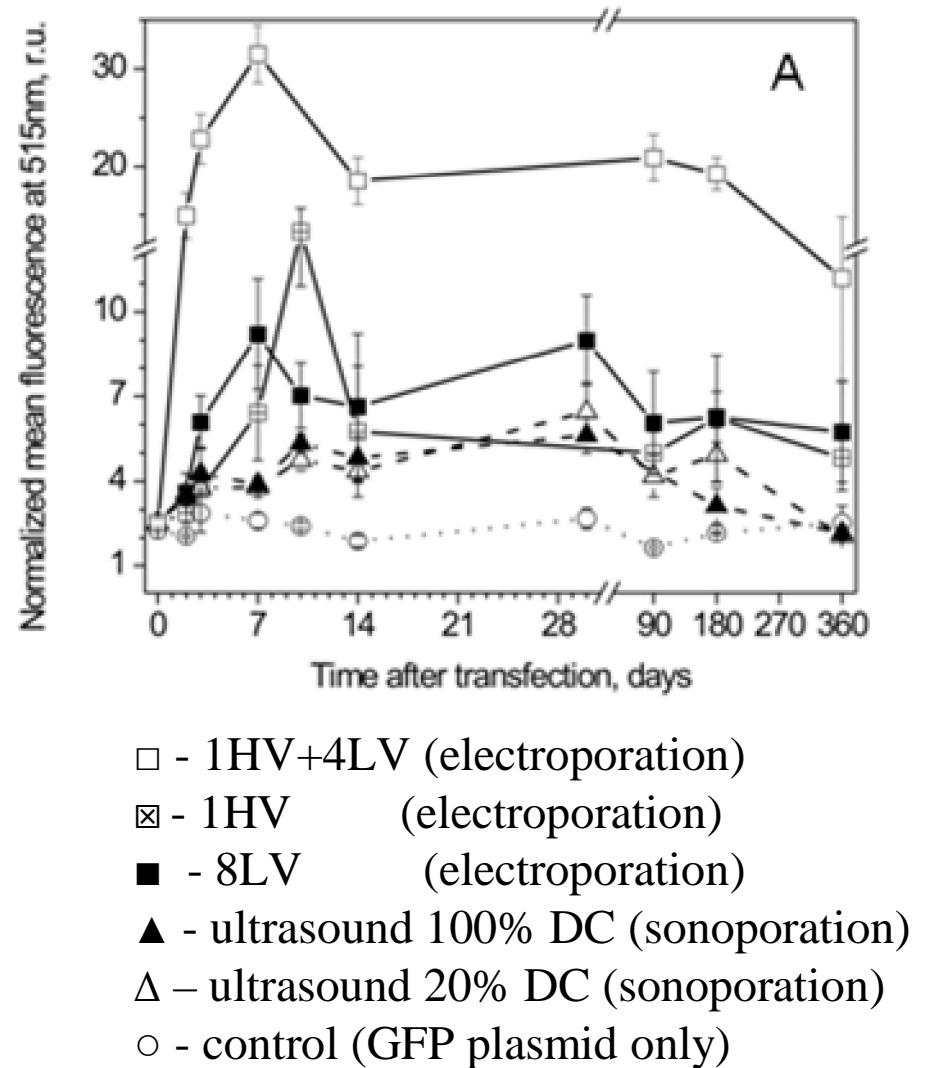
GFP fluorescence at surface of muscle (the skin is removed)



Method: fluorescence spectroscopy point measurements and multispectral imaging.



Result: non-invasive monitoring of EGFP pharmacokinetics *in vivo*



File Edit View History Bookmarks Tools Help

Journal of Biomedical Optics +

jbo.msubmit.net/cgi-bin/main.plex?form_type=view_ms&j_id=363&ms_id=178923&ms_rev_no=0&ms_id_key=ftdiYWtir5V52czbe

Search

return to main page suggestions help?

Journal of Biomedical Optics

published by SPIE

SPIE.

[home](#) [about the journal](#) [author information](#) [contact editorial office](#)

Manuscript # N/A
Journal Journal of Biomedical Optics
Current Revision # 0
Submission Date 2015-08-26 22:50:42
Current Stage Preliminary Manuscript Data Posted

Title Non-invasive optical diagnostics of EGFP expression in skeletal muscle for comparison of electroporation and sonoporation efficiencies

Manuscript Type Regular Paper

Special Section N/A

Category General (50)

Corresponding Author Mindaugas Tamosiunas (Vyttautas Magnus University)
Mindaugas Tamosiunas (corr-auth) , Roberts Kadikis , Inga Saknite , Juozas Baltusnikas , Audrius Kilikevicius , Aleksejs Lihacovs , Ramona

Contributing Authors Petrovska , Dainis Jakovels , Saulius Satkauskas

Financial Disclosure I have no relevant financial interests in this manuscript.

Abstract In this study we highlight the options available for non-invasive optical diagnostics of gene expression in mice tibialis cranialis muscle. An in vivo multispectral imaging ... [View full abstract](#)

Nontechnical Research Summary (Optional) Non-invasive optical diagnostic can be introduced as a progressive method in cancer diagnostic and treatment. In this study we highlight the

Please do not include the summary in your manuscript file options available for non-invasive ... [View full alternate abstract](#)

Editorial Board Member Not Assigned

Index Terms fluorescence spectroscopy, multispectral imaging, green fluorescent protein, transfection

Multimedia Files Manuscript has NO multimedia files

Manuscript Items

1. Author Cover Letter (last updated: 08/26/2015 22:54:27) [PDF \(74KB\)](#) [Source File \(DOC\) 27KB](#)

2. Article File (last updated: 08/26/2015 22:54:28) [PDF \(859KB\)](#) [Source File \(DOCX\) 1126KB](#)

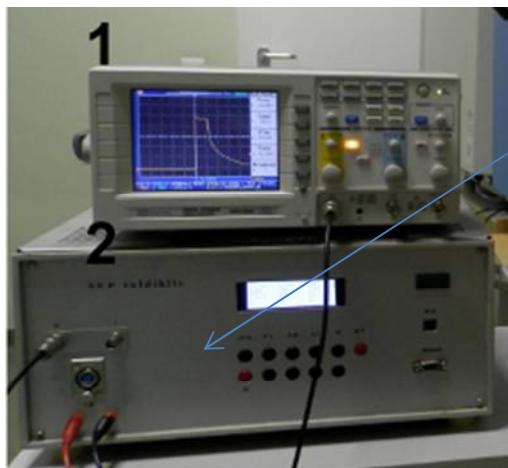
One or more workflow actions below are possible or appropriate. Please consider proceeding by using a link next to an arrow →

Fluorescence spectroscopy and multispectral imaging methods are suggested for non-invasive evaluation of reporter gene expression *in vivo*:

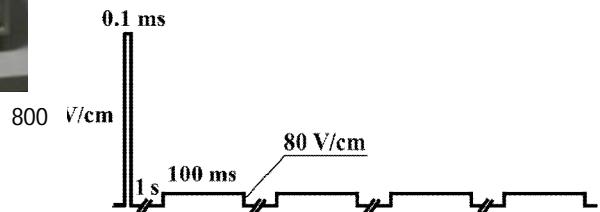
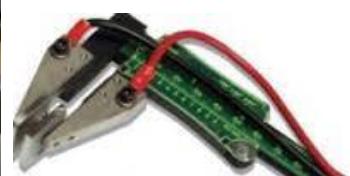
- i) allowing to monitor the duration and efficiency of gene expression;
- ii) allowing further recommendations for gene transfection protocols;
- iii) allowing to reduce the number of experimental animals.

Part 2

Electrosonoporation (electroporation + sonoporation)



High voltage generator
made in KTU (Kaunas)



Sonitron S2000 (USA)

Ultrasound
generator

Why electrosonoporation?

- non toxic, no immune & inflammatory response;
- no increased immune response when a repeated therapy course is applied
- **long lived, both for EP & SP!!!!!**; (no need to undergo multiple rounds of therapy)
- No cases of cancer development (due to the application of retrovirus gene therapy vector)

Non-viral gene delivery option

The main impetus for a such study :

- * **Usually a small or larger portion of cells remain intact using EP or SP separately**
- * **Desperately need to improve DELIVERY efficiency.**

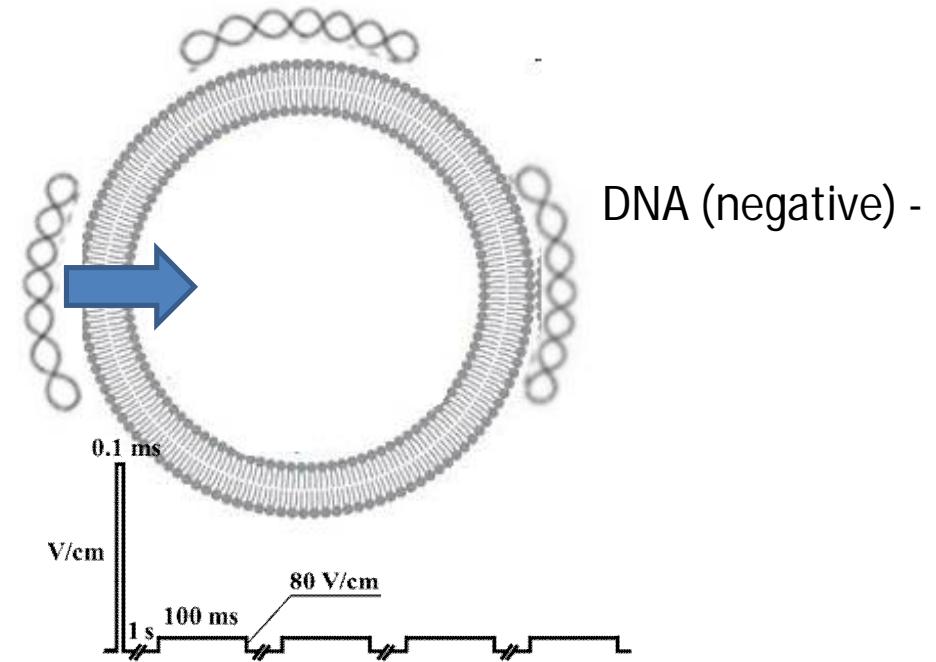
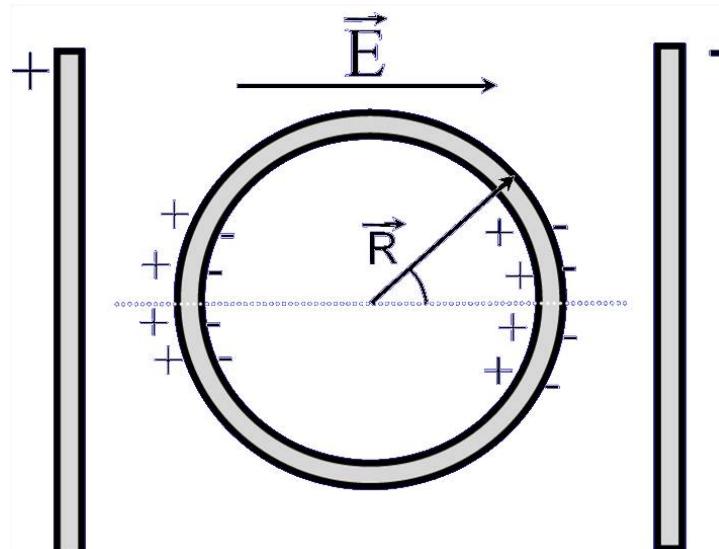
literature reports additive or synergistic increase of anticancer drug delivery efficiency or gene transfection efficiency by using electrosonoporation!
(however these reports are for *in vitro* only)

There are two attempts of electrosonoporation *in vivo*:

* Yamashita et al. Muscle-targeted interleukin-12 gene therapy of orthotopic hepatocellular carcinoma in mice using *in vivo* electrosonoporation. Mol Cancer Ther 3(9), 1177-1182 (2004).

** joint Latvian-Lithuanian-Taiwanese research team:
D. Jakovels, et al. "Assessment of efficiencies of electroporation and sonoporation methods by using fluorescence RGB imaging method ", Proc. SPIE 9032, Biophotonics—Riga 2013, 90320E (November 18, 2013);

Why electrosonoporation?

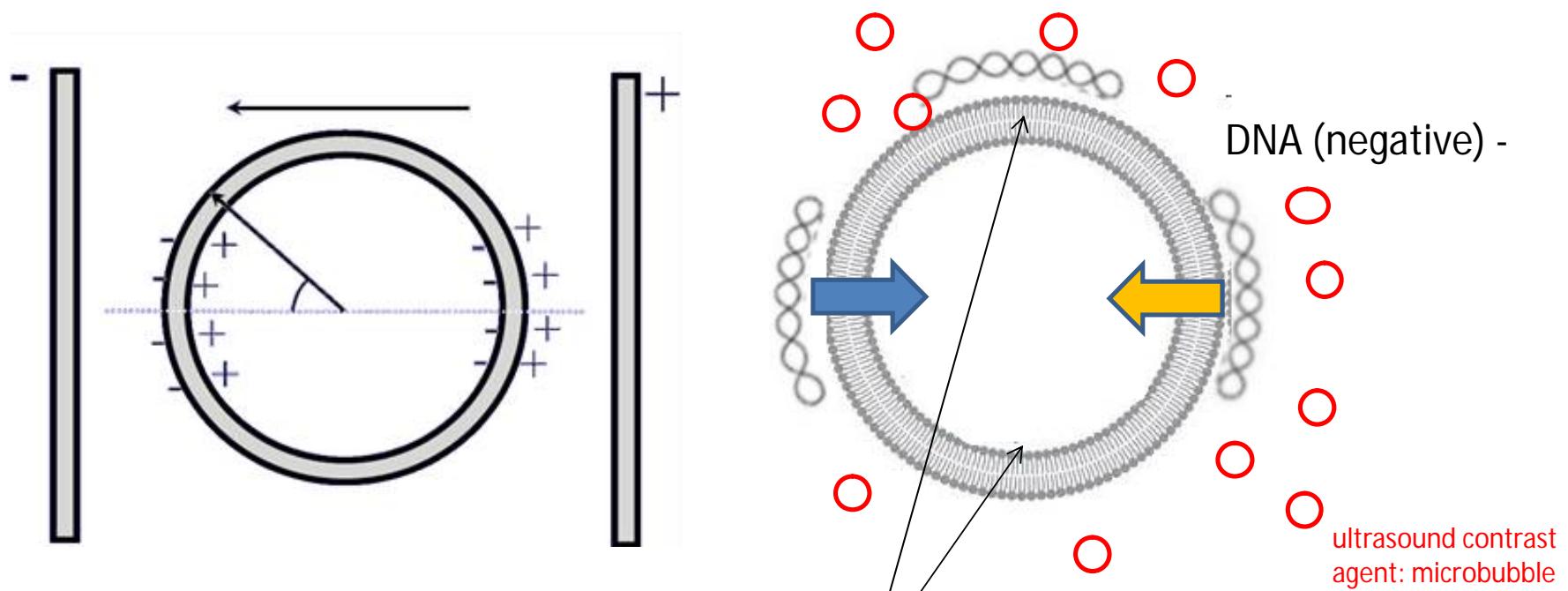


Our study demonstrate the importance of electrophoresis for higher pDNA transfection efficiency which is in agreement with the previous findings.

Why electrosonoporation?

What if we change the pulse polarity?

More DNA plasmid available intracellularly.



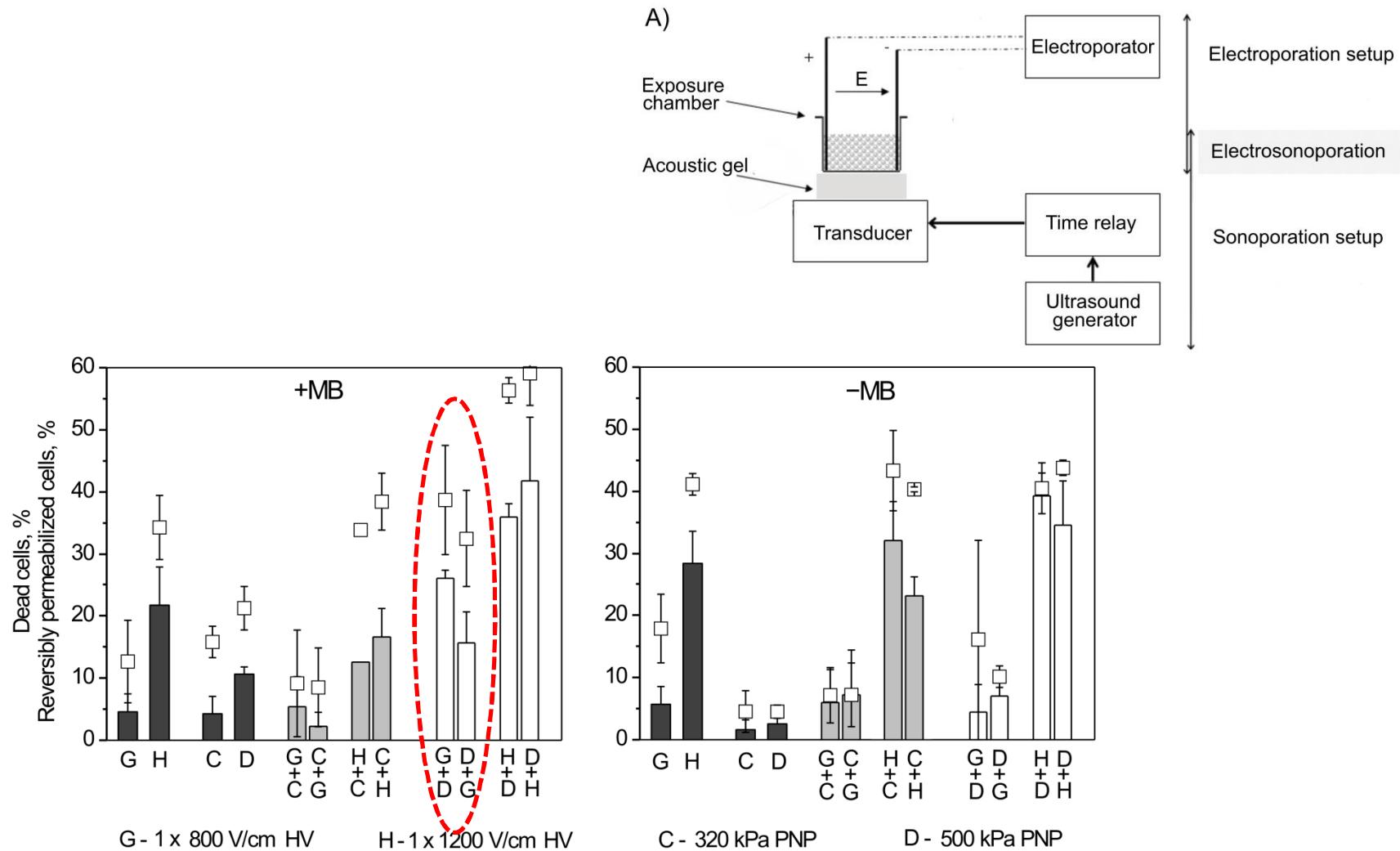
However these parts of the cell are not electroporated, because of $\cos 90^\circ = 0$:

$$\Delta\Phi_m = 1.5 ER \cos\alpha$$

Therefore there is sense to add sonoporation (microbubble cavitation) aiming at

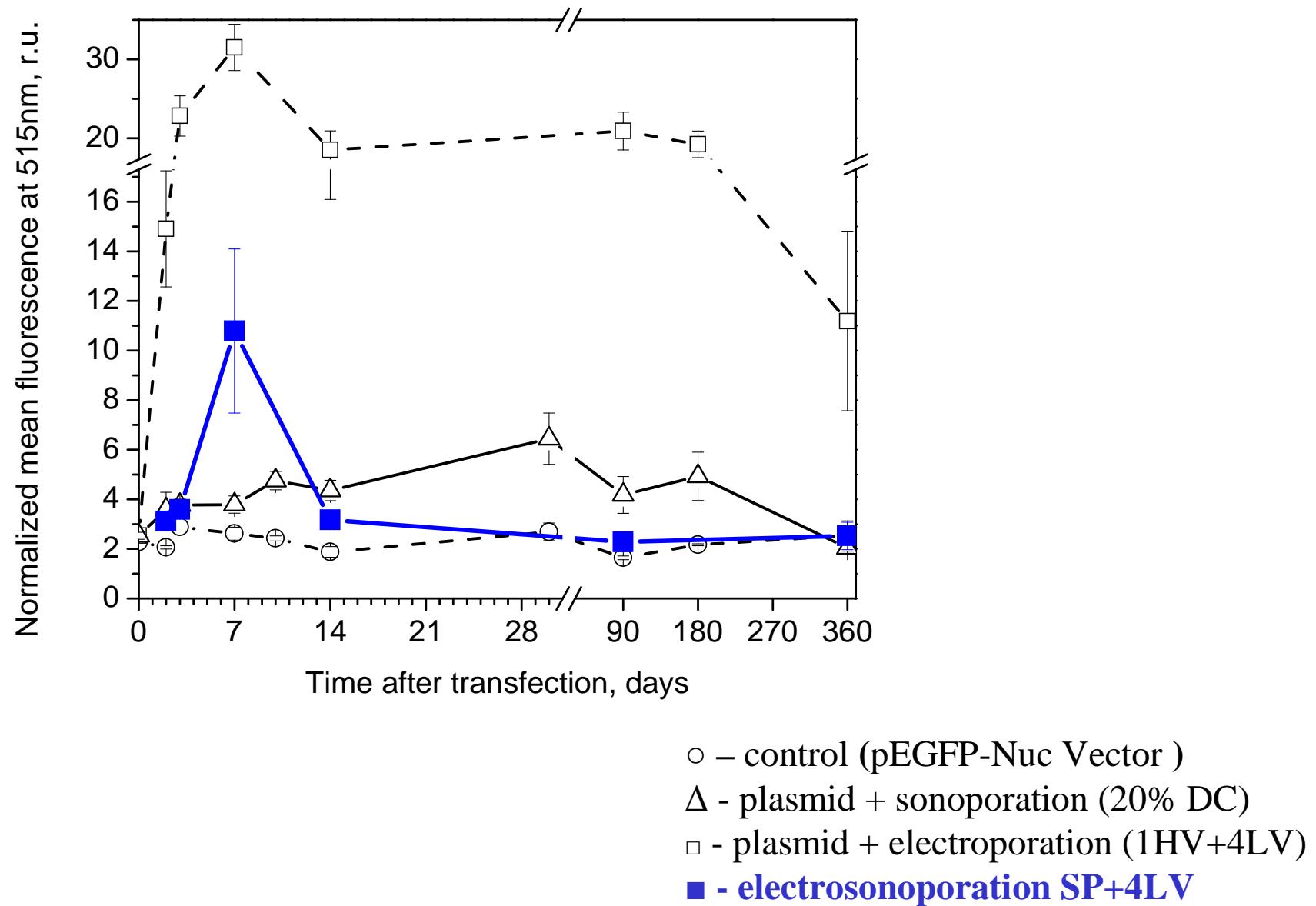
- * improvement of pDNA delivery efficiency
- * targeting tissues located deeper within the body for non-invasive pDNA delivery
- *targeting different popuations of cells

The summation effect for CHO cell reversible permeabilization to cytotoxic drug bleomycin, as well as the increased cell viability loss was reported in previous LT-LV research *in vitro* for bleomycin electrosonotransfer



Cell reversible permeabilization to bleomycin induced by HV electric pulses, ultrasound and their sequential combination

i) the strategy for electrosonoporation:
to substitute the pore-inducing pulse (HV) with MB cavitation



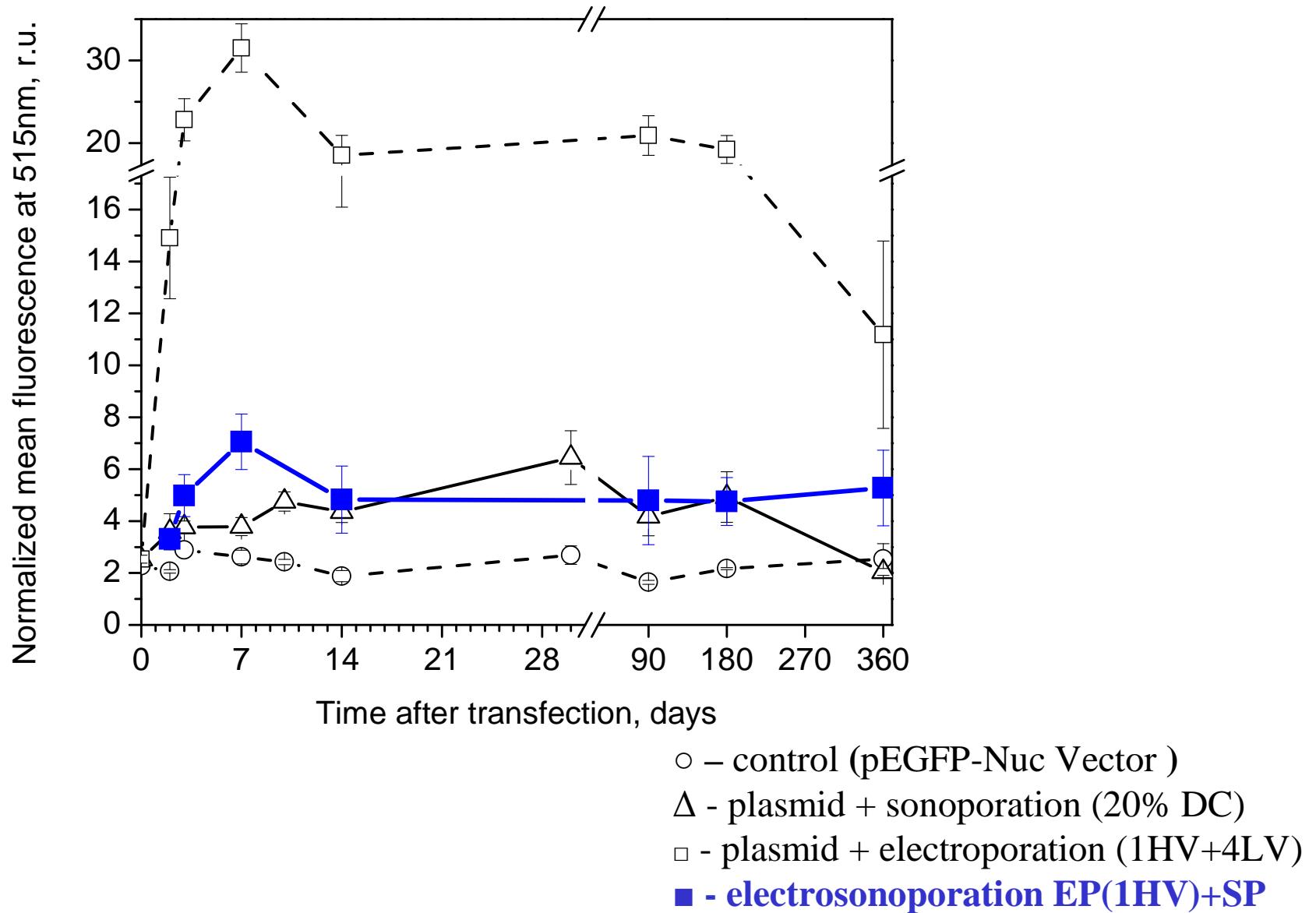
Yamashita et al. (2004) Gene Ther.

Methodic: *the quadriceps muscle was covered with ultrasound conducting lotion (Aloe-Sound Lotion, Rich-Mar, Inola, OK) and sonoporated for 5 minutes at 1 MHz input frequency with a 50% duty cycle and 2.0 W/cm² output intensity using a sonoporation device (Sonitron 1000). 25 V of electric pulses of the opposite polarity (pulse length of 100 ms/pulse and 6 pulses) were delivered.*

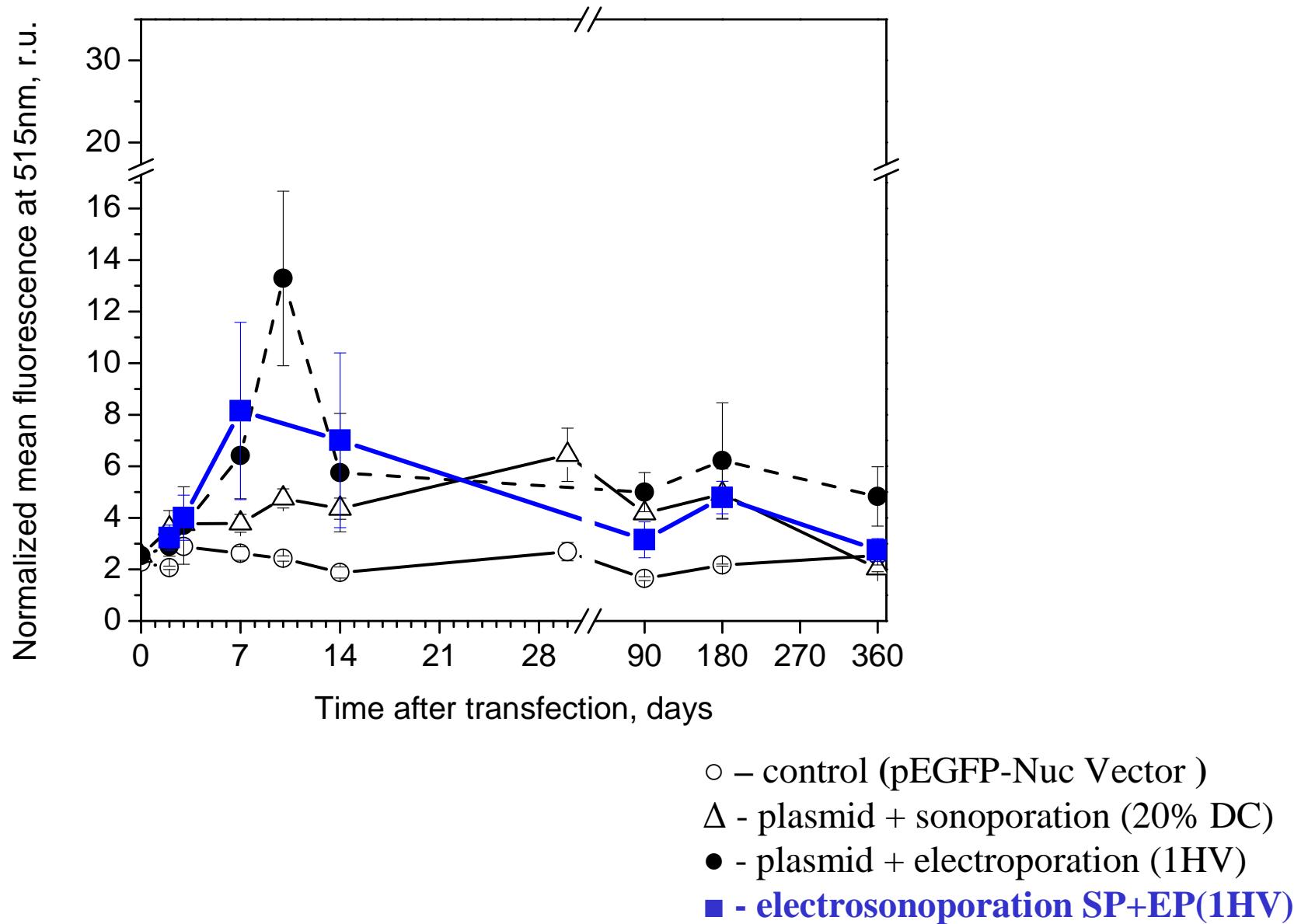
Main result: *i.m. administration of the mIL-12 gene with electrosonoporation elevated serum IL-12 and significantly prolonged the survival periods with both growth inhibition of orthotopic hepatocellular carcinoma and inhibition of spontaneous lung metastasis.*

(No)

ii) the strategy for electrosonoporation:
to substitute the electrophoretic (4LV) component with MB cavitation



ii) the strategy for electrosonoporation:
to perform sonoporation before electroporation



Muscle tissue damage has been described after electrotransfection as the infiltration of inflammatory mononuclear cells and muscle fiber necrosis. The latter was shown to decrease transfection efficiency by reducing the number of muscle fibers capable of transgene expression (Taylor et al. 2004, BMC Biotechnology). **(Yes)**

On the contrary, muscle regeneration after injury has been shown to increase transfection efficiency (Vitadello et al., 1994, Hum Gen Ther). **(No)**

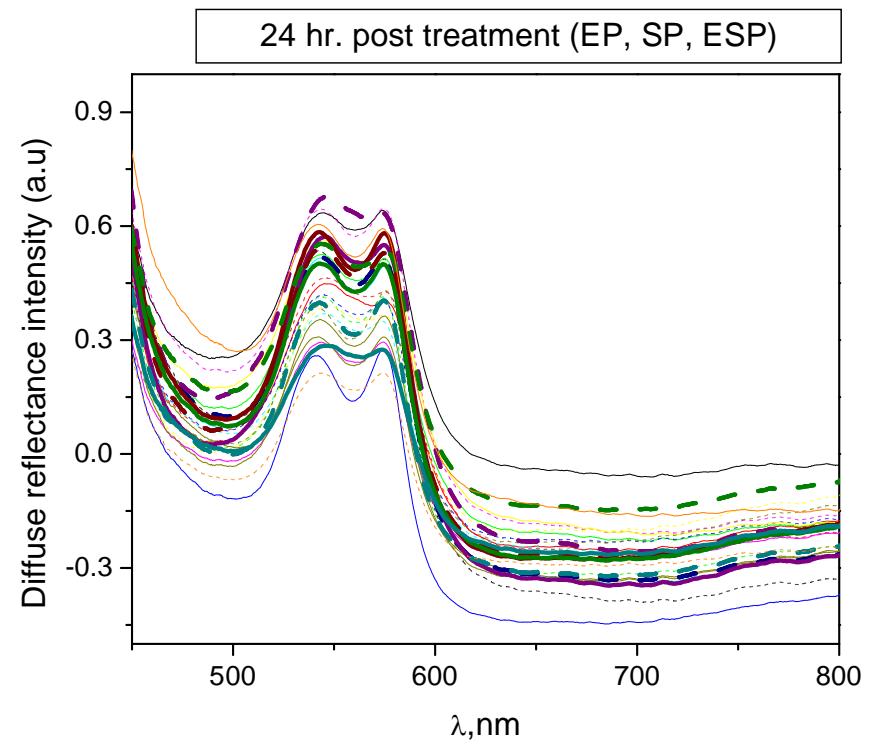
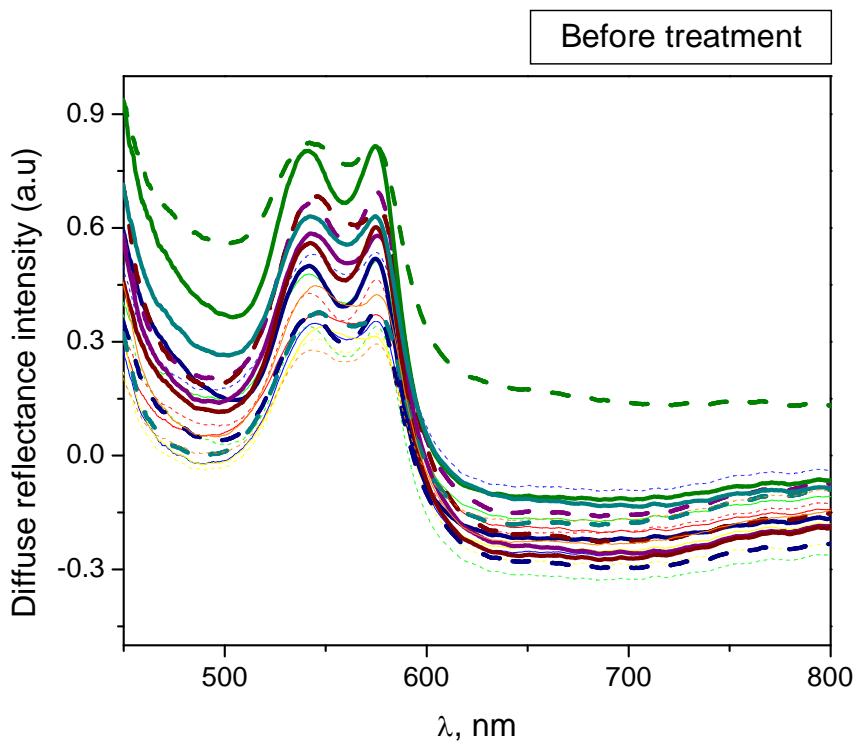
Moreover, muscle fiber regeneration from transfected myogenic satellite cells could be the underlying mechanism of prolonged transgene expression (Peng et al., 2005, Biochim Biophys Res Com). **(No)**

Detection of muscle necrosis:

(two methods were used)

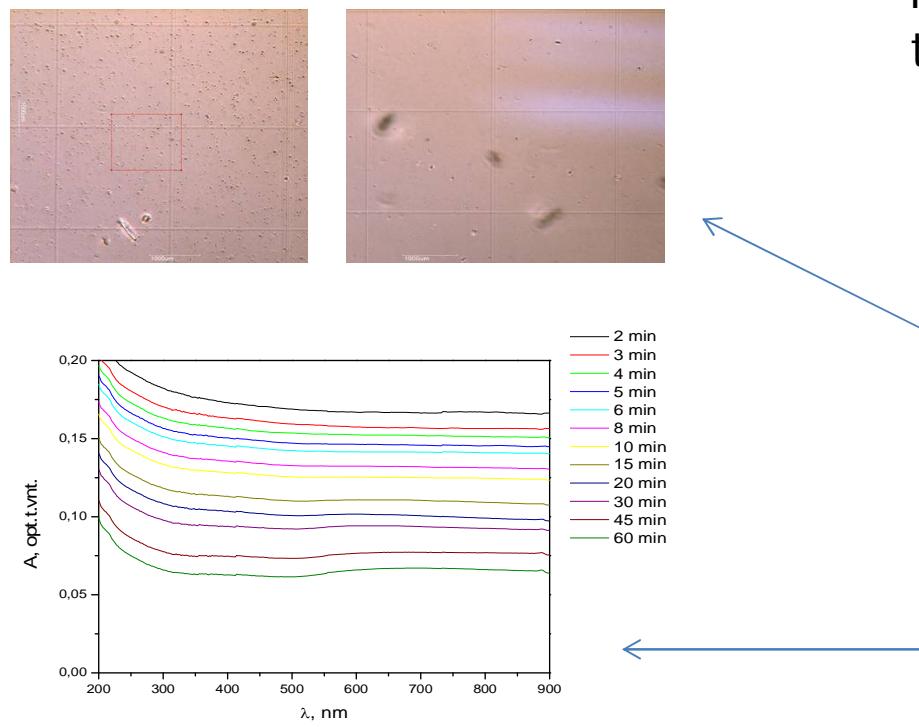
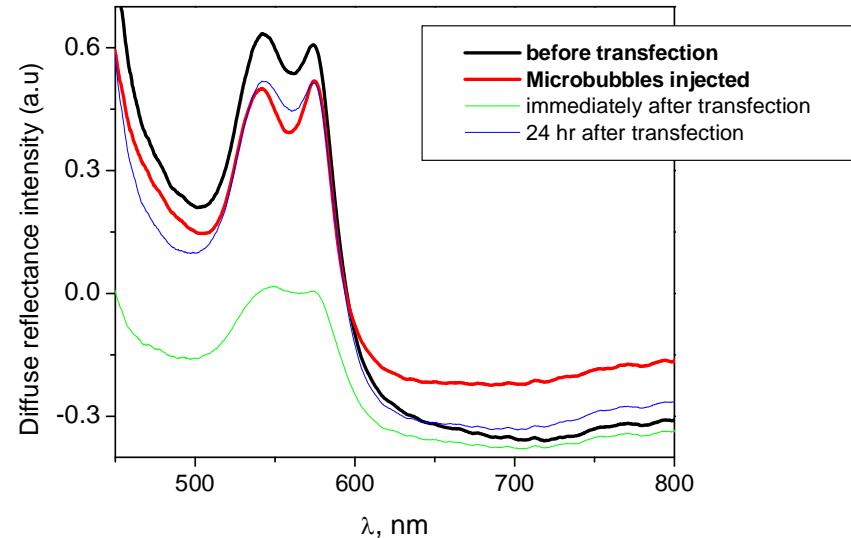
i) diffuse reflectance spectroscopy;

ii) histological muscle examination (absolute control);

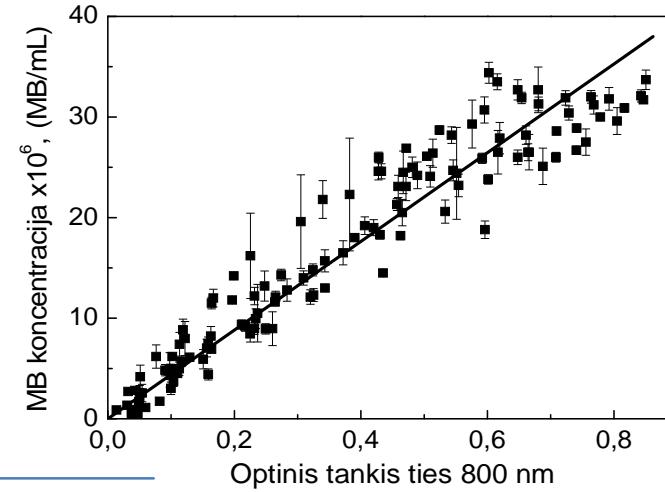


Spectra of electrosonoporated mice are in bold.

Diffuse reflectance can be promising method for MB detection *in vivo*
 (need further investigation)

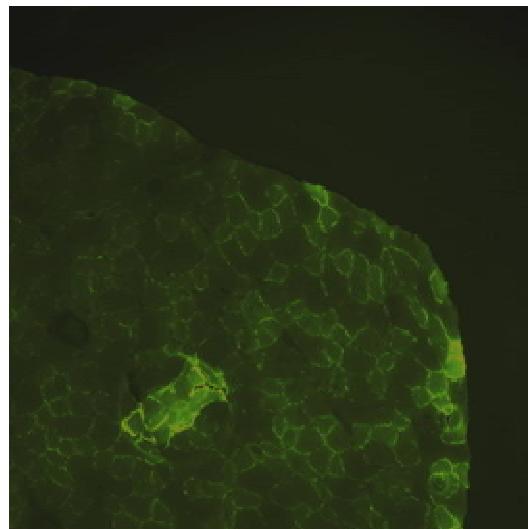


Previous study LT group revealed
 the method for MB quantification *in vitro*

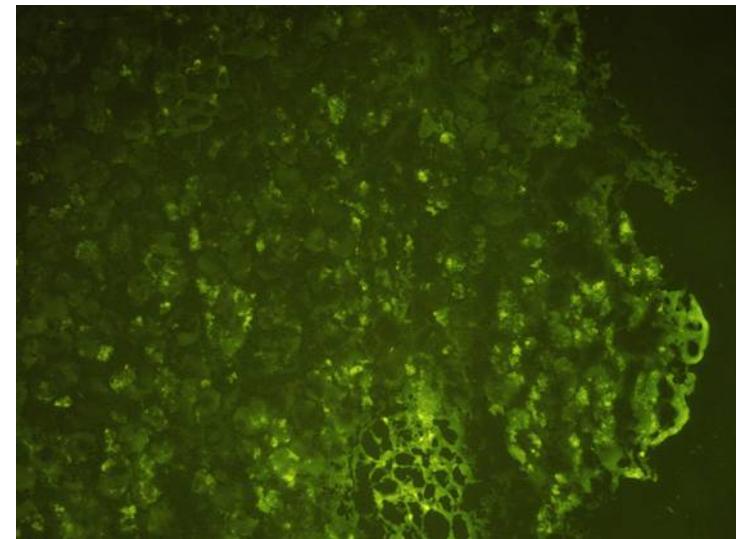


Detection of muscle necrosis:

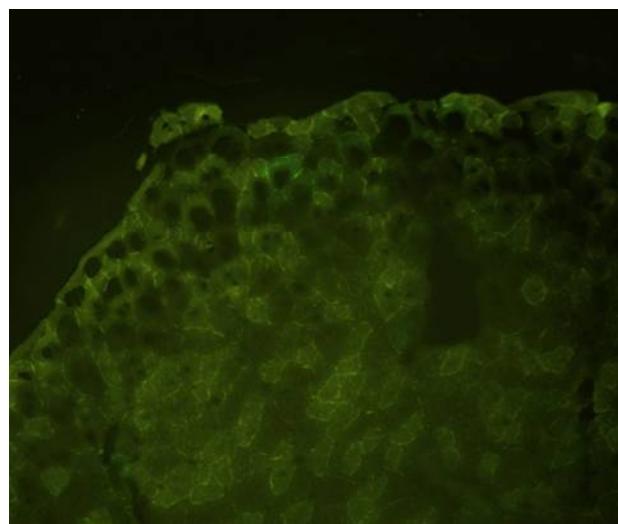
ii) histological muscle examination (absolute control);



Control group



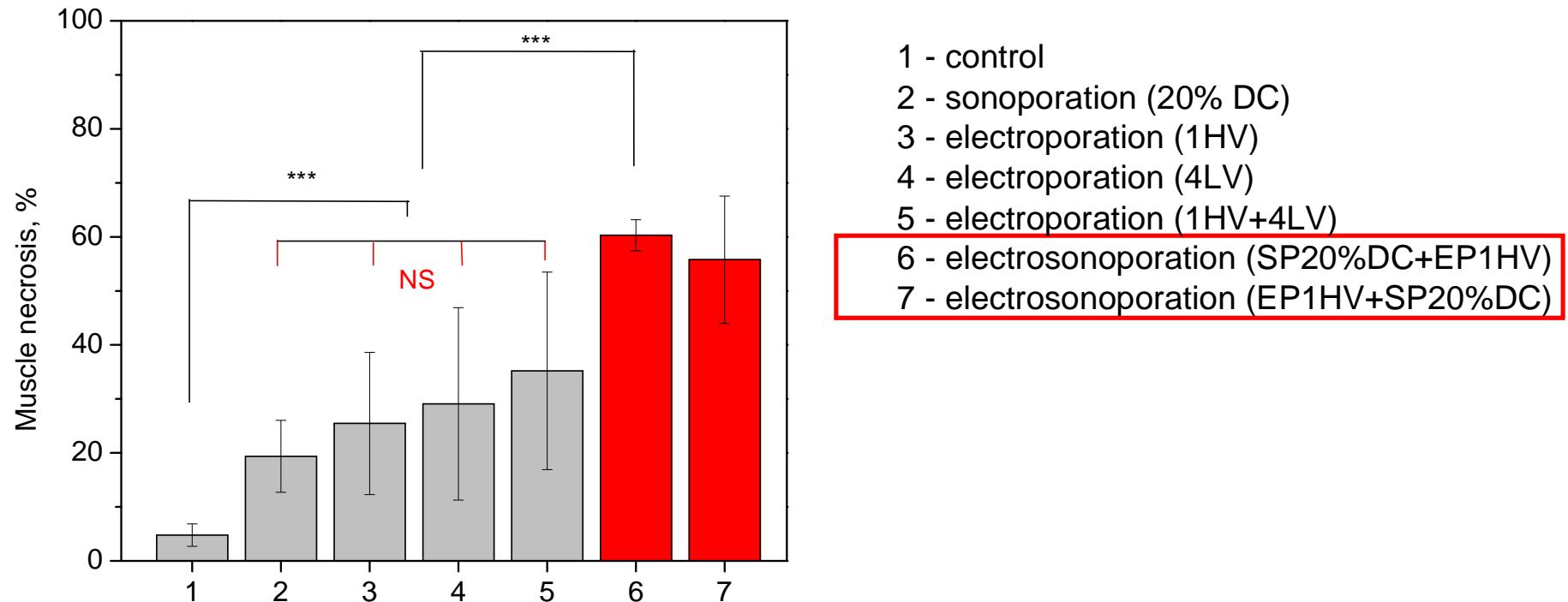
Electrosonoporation group:
EP(1HV)+SP(20% DC)



Electroporation group:
EP(1HV)+4LV

Evaluation of EP, SP and EP+SP damage to the muscle fibers

Previously, electrosonoporation has been proposed as the solution to decrease the cell survival (Rollan Haro et al., 2005) and to reduce the volume of solid tumours (Larkin et al., 2005). **However, for the gene delivery, the reversible electrosonoporation of cells is required.**



Using fluorescence spectroscopy point measurements and multispectral imaging, we provide further recommendations for gene transfection protocol by applying electrosonoporation:

In conclusion, in this study we revealed that:

- I) GFP expression in muscle was not enhanced by electrosonoporation when using the optimal electric field and US parameters;
- II) Instead, EP and SP used simultaneously affect the muscle in a way leading to the high muscle fiber damage.
- III) Muscle treatment by electrosonoporation induced the summation effect for the percentage of damaged muscle fibers;
- IV) Simultaneous application EP and SP aiming to enhance the percentage of reversibly porated cells should be applied not at the optimal but at the reduced electric field and US parameters; however it is not clear if the efficient reporter gene transfection can be achieved in this way.

Thank you for your attention



Acknowledgements

This work was supported by European Social Fund project “Innovative technologies for acquisition and processing of biomedical images (InBit)” No. 2013/0009/1DP/1.1.1.2.0/ 13/APIA/VIAA/014.



EIROPAS SOCIĀLAIS
FONDS



EIROPAS SAVIENĪBA

ELEKTRONIKAS UN
DATORZINĀTU
INSTITŪTS



INSTITUTE OF
ELECTRONICS AND
COMPUTER SCIENCE

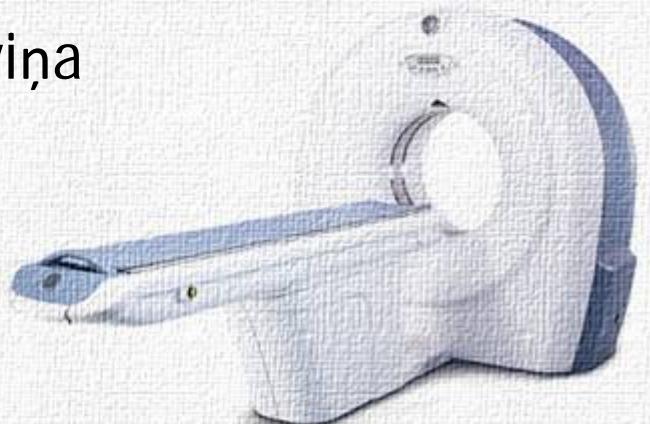
ESF projekts "Inovatīvas biomedicīnisko attēlu iegūšanas un apstrādes tehnoloģijas"

Nr.2013/0009/1DP/1.1.1.2.0/APIA/VIAA/014

Abdominālo un nieru sīnusu taukaudu segmentēšana datortomogrāfijas attēlos

Zinātniskā asistente MSc. Biol. Gita Krieviņa

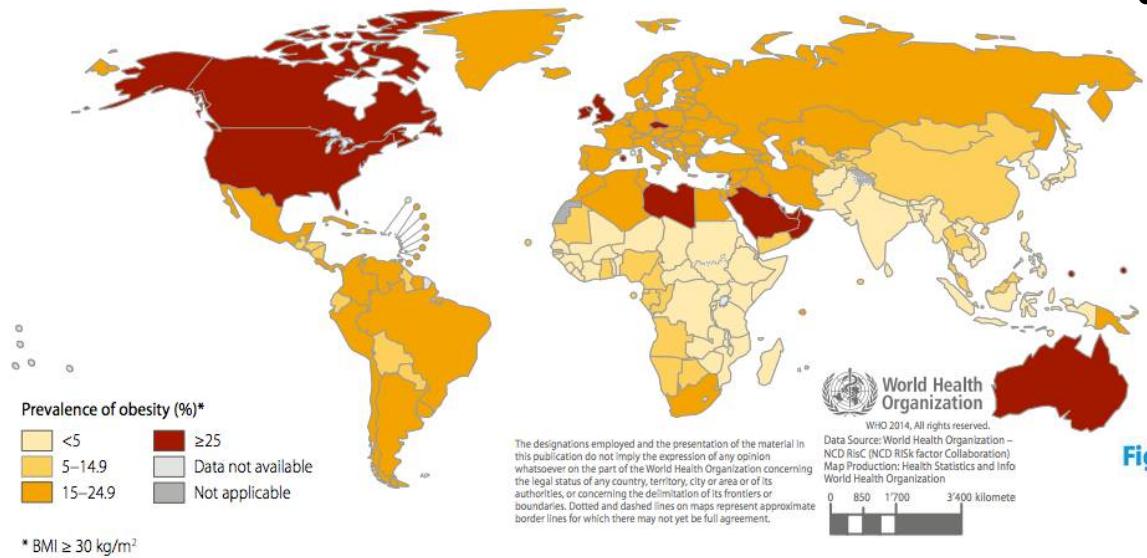
Rīga, 2015. gada 27. augusts



AKTUALITĀTE



Fig. 7.1 Age-standardized prevalence of obesity in men aged 18 years and over ($BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$), 2014



- Aptaukošanās problemātika saistās ar tās eksponenciālo pieaugumu pēdējās desmitgadēs :

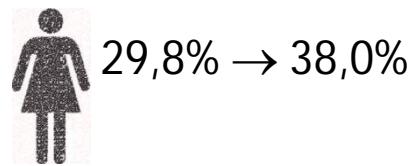
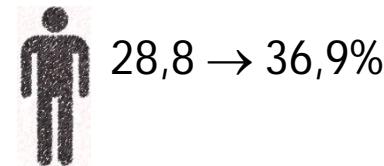
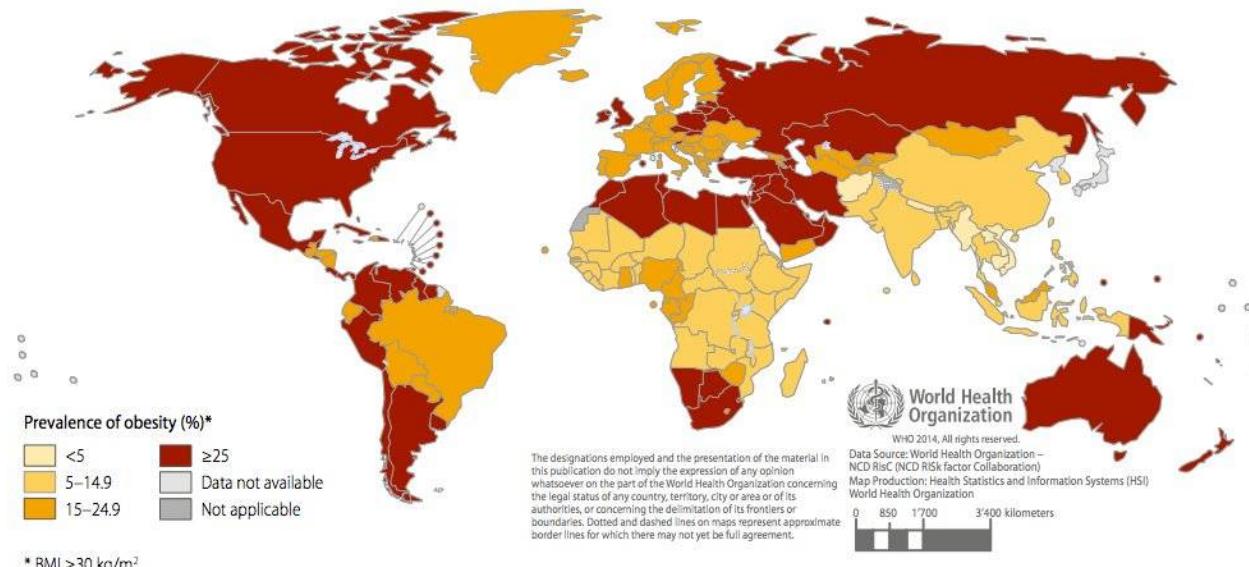


Fig. 7.2 Age-standardized prevalence of obesity in women aged 18 years and over ($BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$), 2014



«Globesity»



AKTUALITĀTE



Kāpēc aptaukošanās ir slikta?

Hronisks, zemas pakāpes iekaisuma stāvoklis organismā ([Catalan, et al. 2015](#)).

Pasaules Veselības organizācija un Nacionālais Veselības institūts (ASV) aptaukošanos definē kā sarežģītu multifaktoriālu hronisku metabolisma traucējumu, kas rodas ģenētisku un vides faktoru mijiedarbības ietekmē un asociējas ar dažādu saslimšanu riskiem ([Kaplan, et al. 2003](#); [Taghizadeh, et al. 2015](#)).

2 tipa cukura diabēts

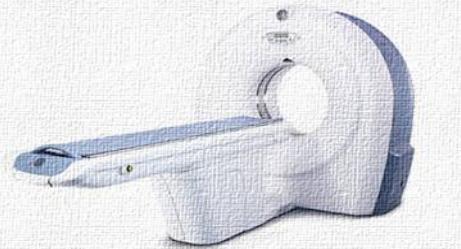
Osteoartrīts

Kardiovaskulārās saslimšanas (hipertensijas, aterosklerozes, u.c.)

Cerebrovaskulārās saslimšanas (insults u.c.)

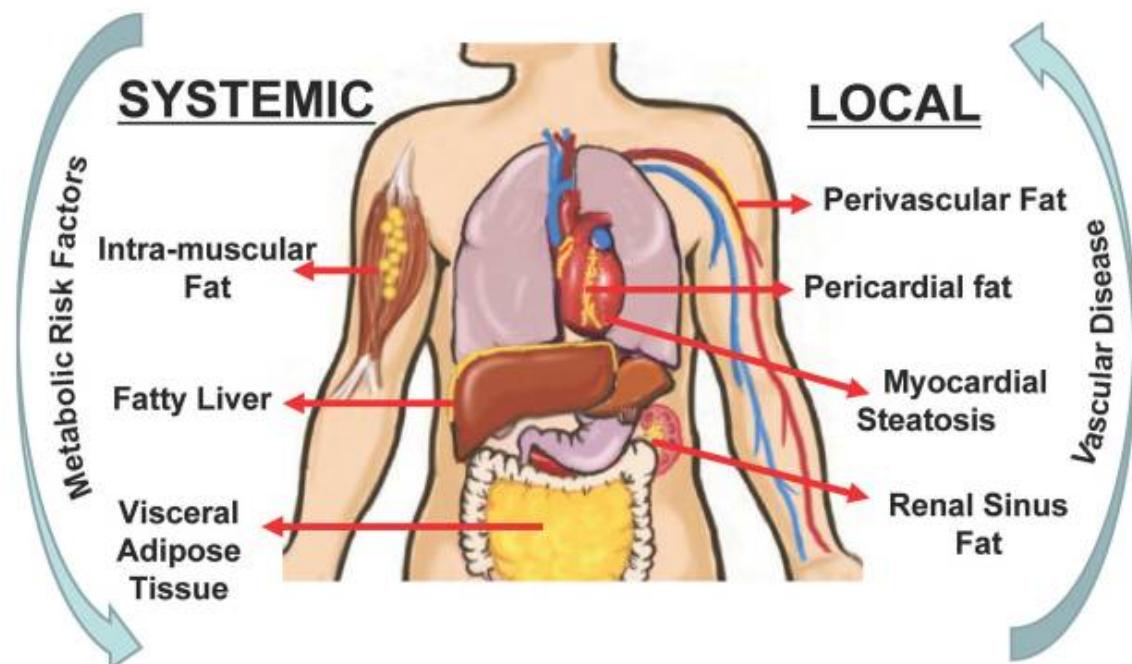
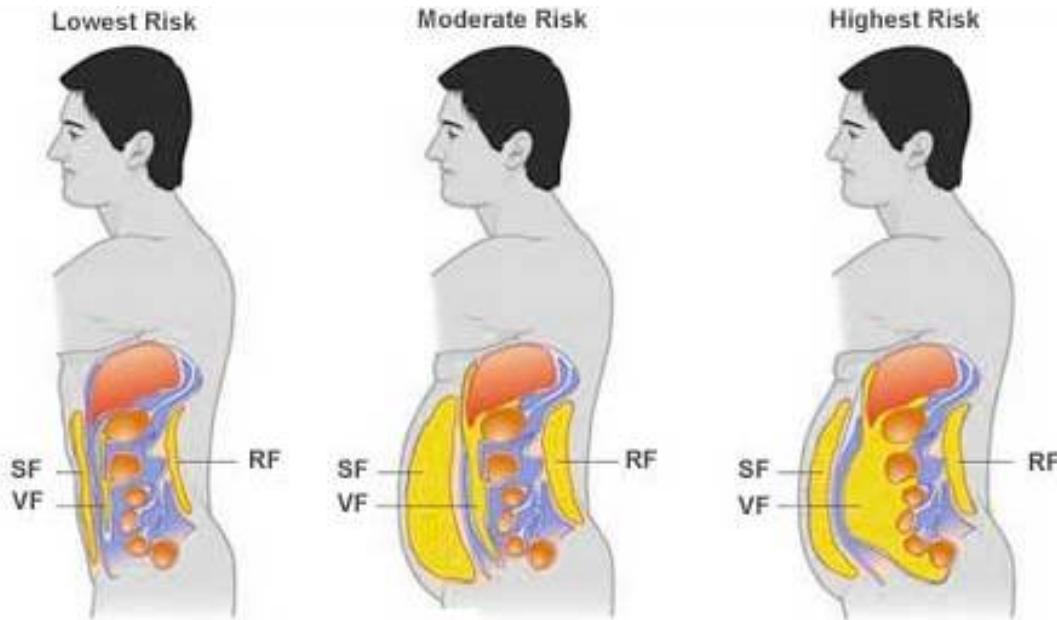
Onkoloģiskās saslimšanas

AKTUALITĀTE



Kāpēc visiem cilvēkiem ar lieko svaru nav novērojamas aptaukošanās izraisītās saslimšanas?

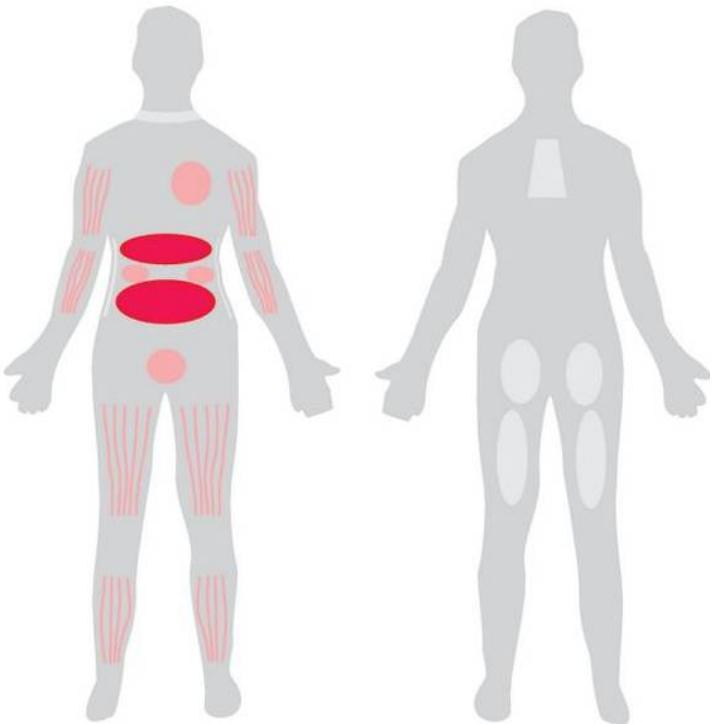
Triglicerīdu depozīcija adipocītos evolucionāri nepieciešamajos taukaudu depo



Journal of Obesity; Bjorndal et al, 2011

⇒ Taukaudu depo pārmērīga veidošanās vietās, kur klasiski nav saistīta ar taukaudu uzglabāšanu

AKTUALITĀTE

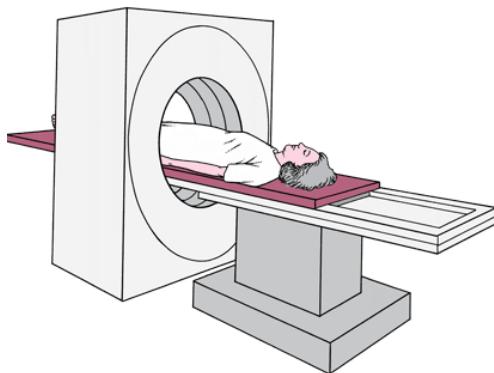


Lai precīzāk izprastu un raksturotu taukaudu saistību ar dažādām saslimšanām, nepieciešama to segmentāra analīze

AKTUALITĀTE

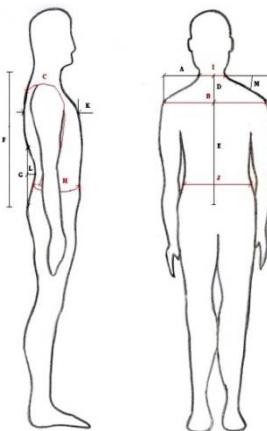


Svarīgi izstrādāt izmeklēšanas metodes, ar kuru palīdzību pētnieks vai medicīnas persona varētu noteikt taukaudu lokalizācijas vietu vēdera rajonā

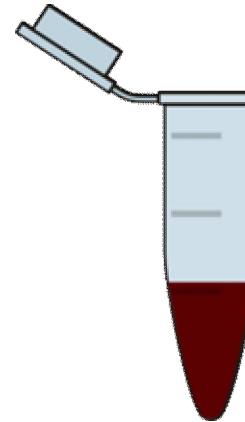


DT

VS.

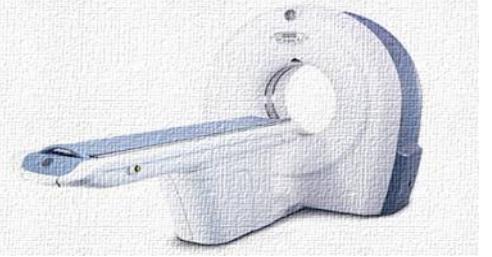


Antropometriskie
mērījumi

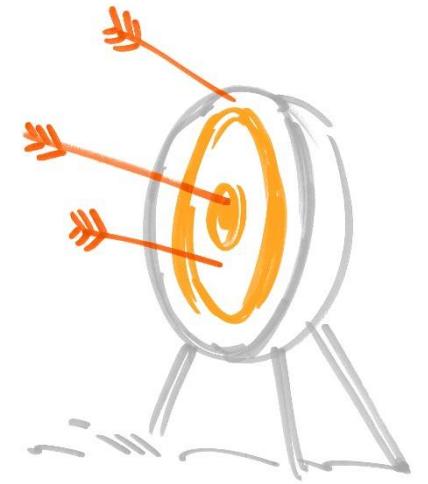


Bioķīmiskie
rādītāji

DARBA MĒRKIS



Izmantojot vēdera dobuma spirāliskās datortomogrāfijas (DT) attēlus, izstrādāt dažādu taukaudu depo segmentācijas metodi



GALVENĀ DARBA PROBLEMĀTIKA



Taukaudi ir difūzs orgāns

Dažādi taukaudu depo bieži vien savā starpā nav anatomisko norobežoti

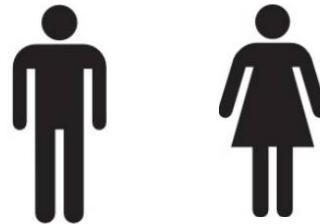
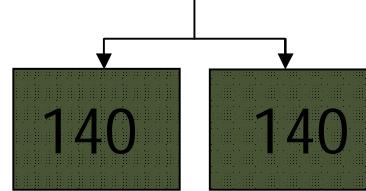


MATERIĀLI UN METODES

Pētījuma dalībnieki



280 dalībnieki
 37.8 ± 8.2 gadi



Klīniski veseli (asimptomātiski)

Nav diagnosticētas: sirds-asinsvadu saslimšanas un
cukura diabēts

smagas nieru slimības

vairogdziedzera slimības

hroniskas iekaisīgas slimības

akūtas infekciju slimības (pēdējā mēneša laikā) u.c.

Vienmērīgs sadalījums pēc ĶMI indeksa ($18 - 35 \text{ kg/m}^2$)

MATERIĀLI UN METODES

DT attēldiagnostika



Pētījuma dalībniekiem tika veikts spirāles datortomogrāfa (DT) (*Siemens Somatom Definition AS*) izmeklējums. DT izmeklējumus veiks SIA „Veselības Centrs - 4” medicīnas radioloģijas nodaļas sertificētu speciālistu uzraudzībā.

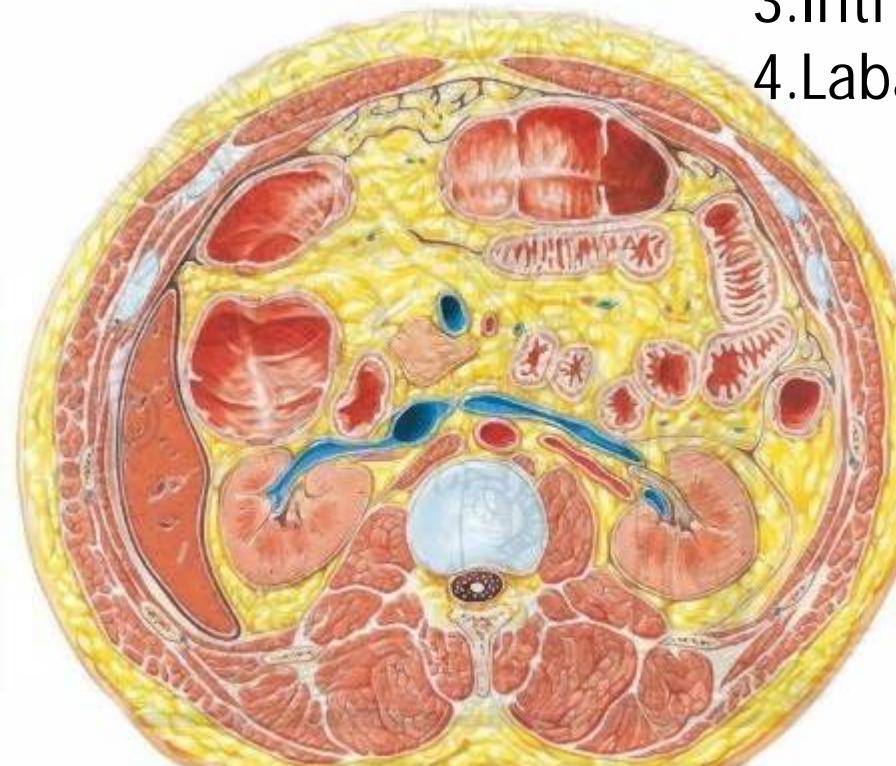
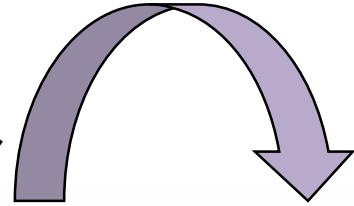
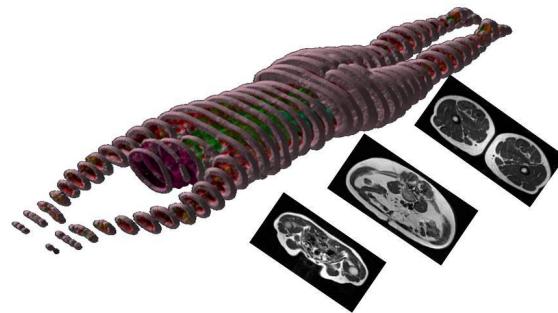
!!! Siemens DT iekārtā ir atsevišķa programma *Care Dose*, kura nodrošina vismazāko starojumu pacientam (atkarībā no ķermeņa svara iekārtas topogramma aprēķina nepieciešamo starojumu optimāla attēla iegūšanai)



VESELĪBAS CENTRS 4

MATERIĀLI UN METODES

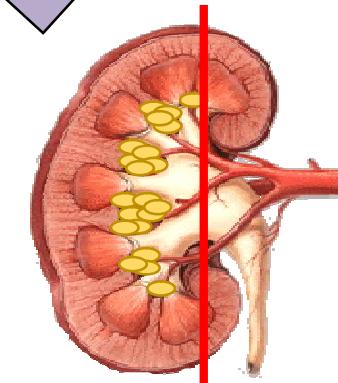
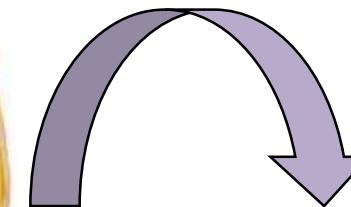
Segmentējamo taukaudu objektu definēšana, izmantojot anatomiskos markierus



Taukaudu objekti:

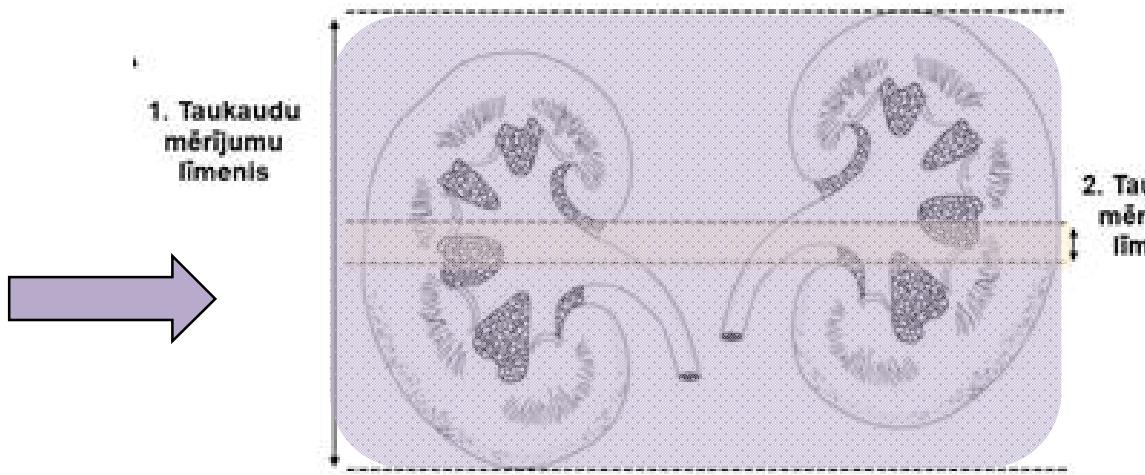
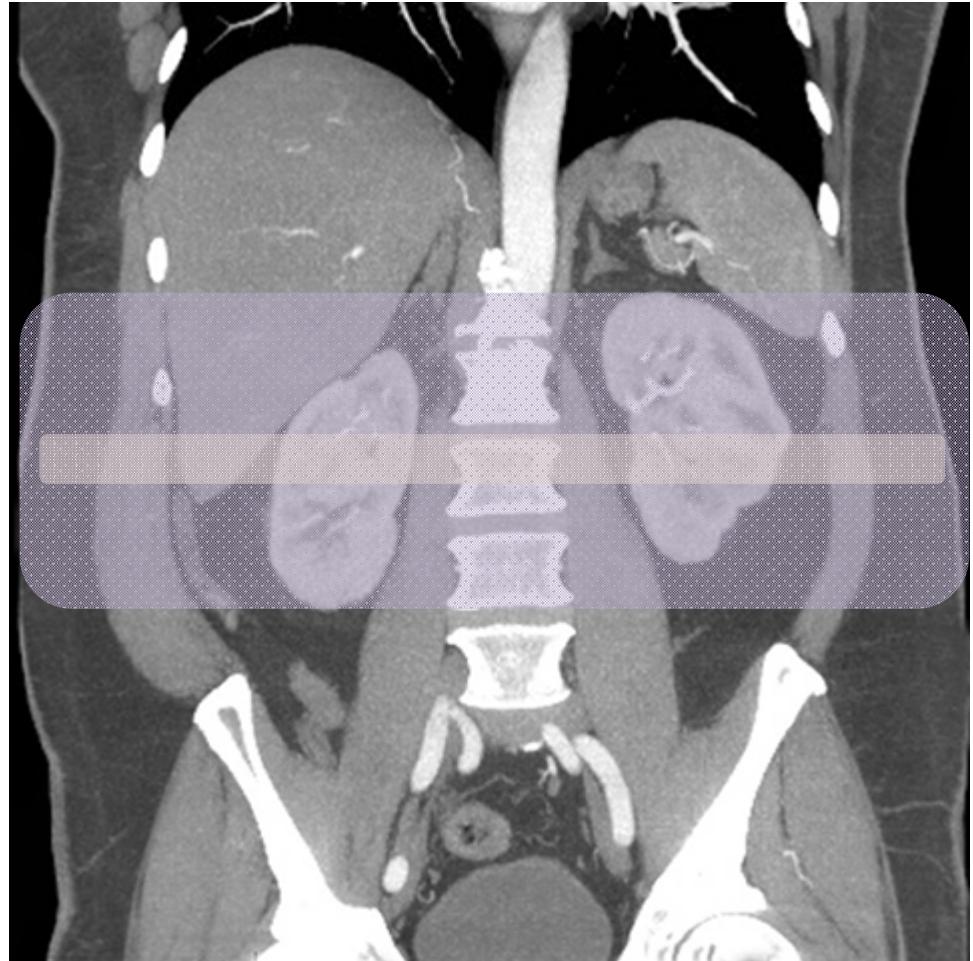
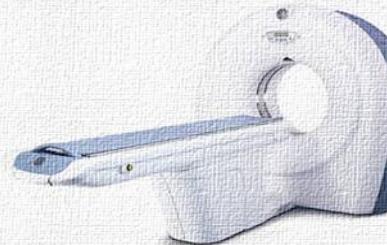
- 1.Zemādas jeb subkutānie taukaudi
- 2.Retroperitoneālie taukaudi
- 3.Intrapерitoneālie taukaudi
- 4.Labās un kreisās nieres sīnusa taukaudi

- Taukaudi tiek segmentēti izmantojot HV (taukaudu pikseļu blīvums (-45 līdz - 195 HV))
- Ar 3D DOCTOR programmnodrošinājumu segmentēti abdominālie taukaudi



MATERIĀLI UN METODES

Segmentēšanas protokola optimizēšana



Mērijumi tiek veikti:

1,5 cm (3 DT griezumos) biezā griezumā nieru vārtu līmenī
12-14 cm (24-28 DT griezumos) biezā slānī abu nieru līmenī

MATERIĀLI UN METODES

Segmentēšanas protokola precizitātes pārbaude

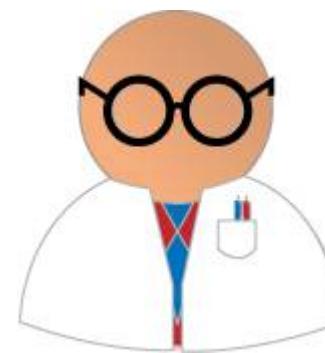


Taukaudu objektu segmentācijas precizitāte tiek pārbaudīta:

- **Viena pētnieka ietvaros** (randomizēti un anonīmi viena un tā paša pētījuma dalībnieka DT izmeklējumu segmentē viens un tas pats pētnieks)
- **Divu pētnieku ietvaros** (viена un tā paša pētījuma dalībnieka DT segmentē divi neatkarīgi pētnieki)



VS.

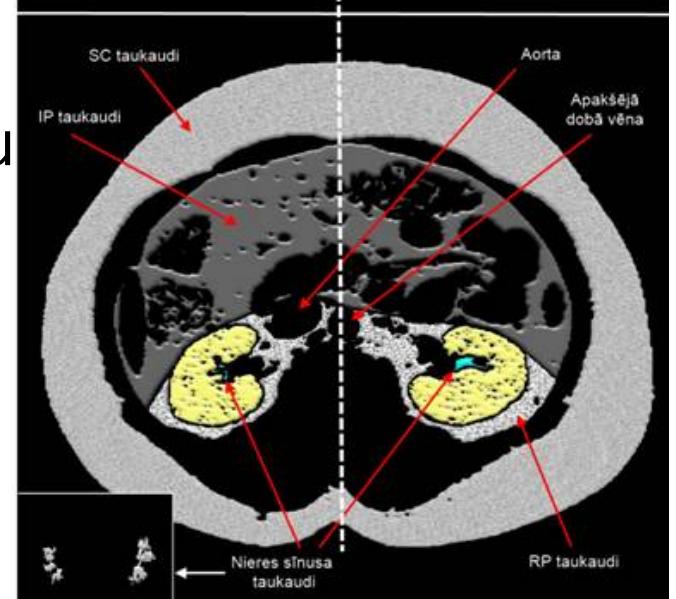
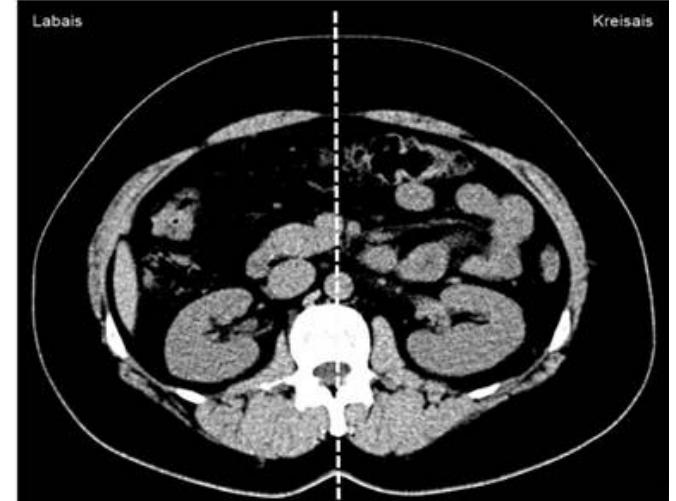


REZULTĀTI

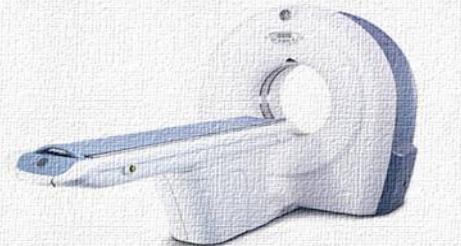
DT attēlu
segmentēšana
, izmantojot
anatomiskos
markierus



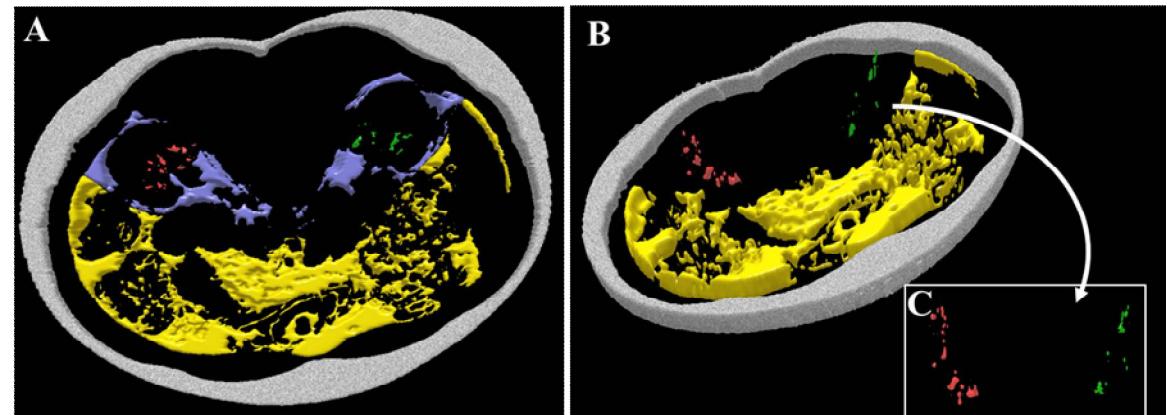
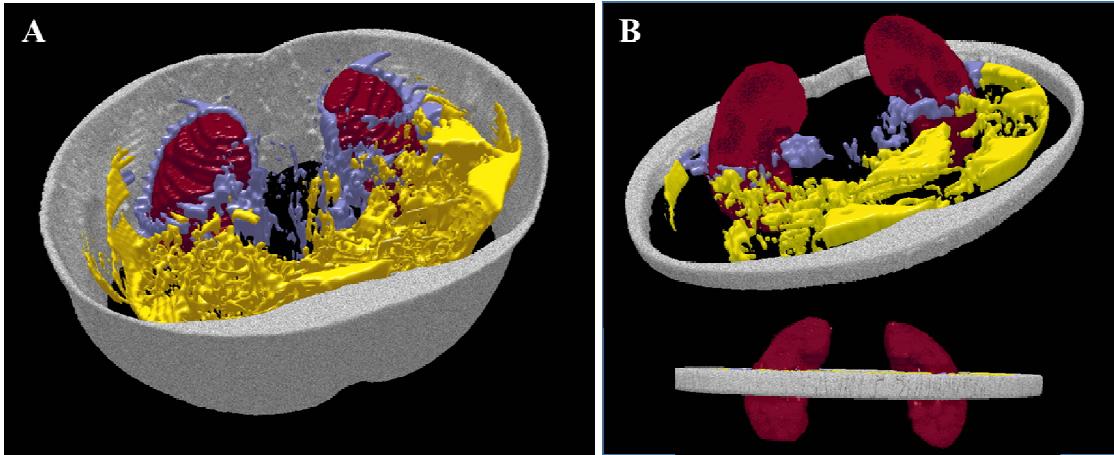
Taukaudu
izdalīšana DT
attēlos,
izmantojot
audiem
specifisko
pikseļu blīvumu



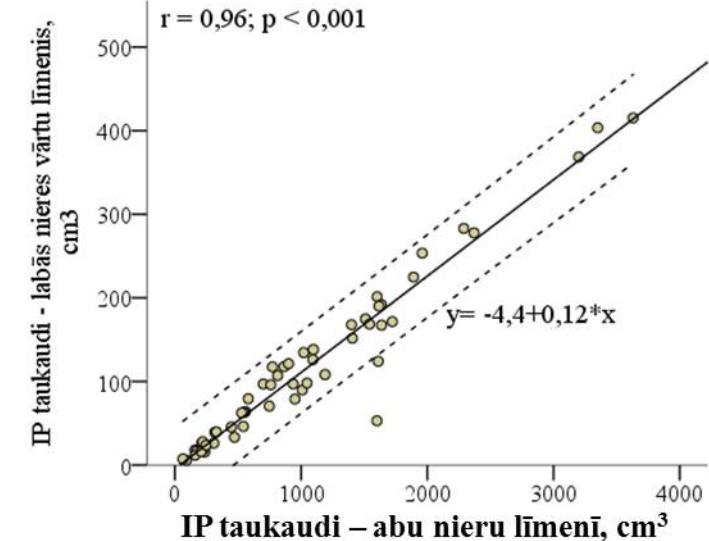
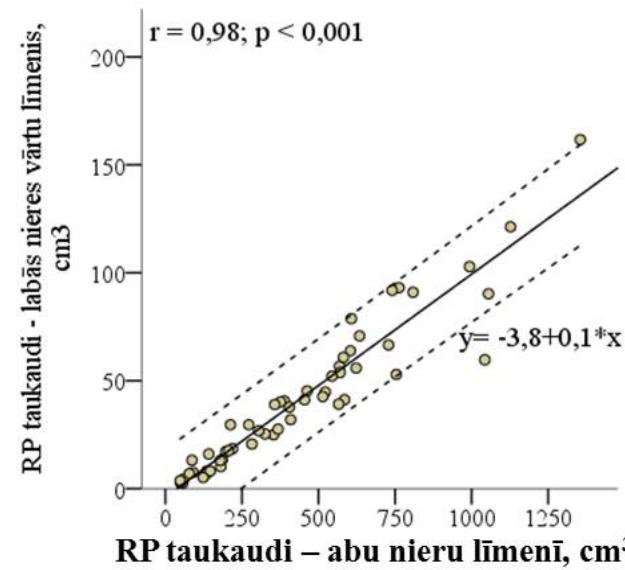
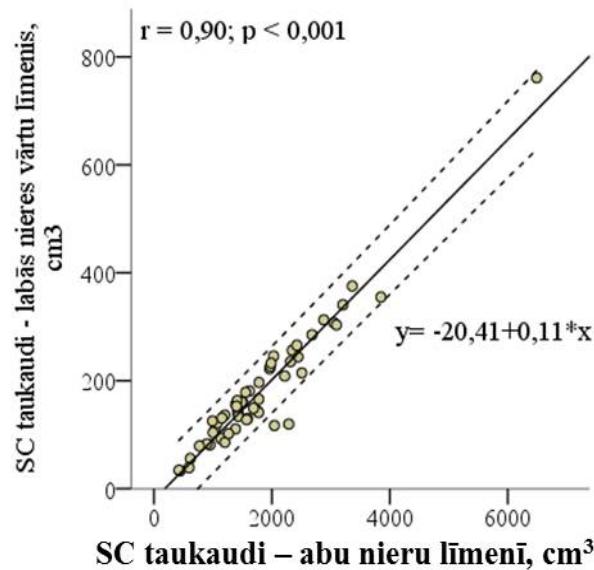
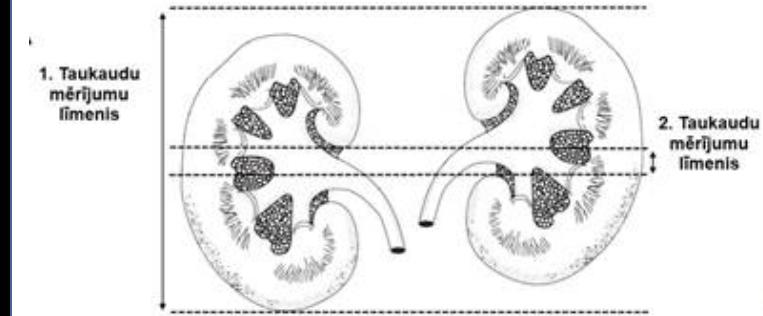
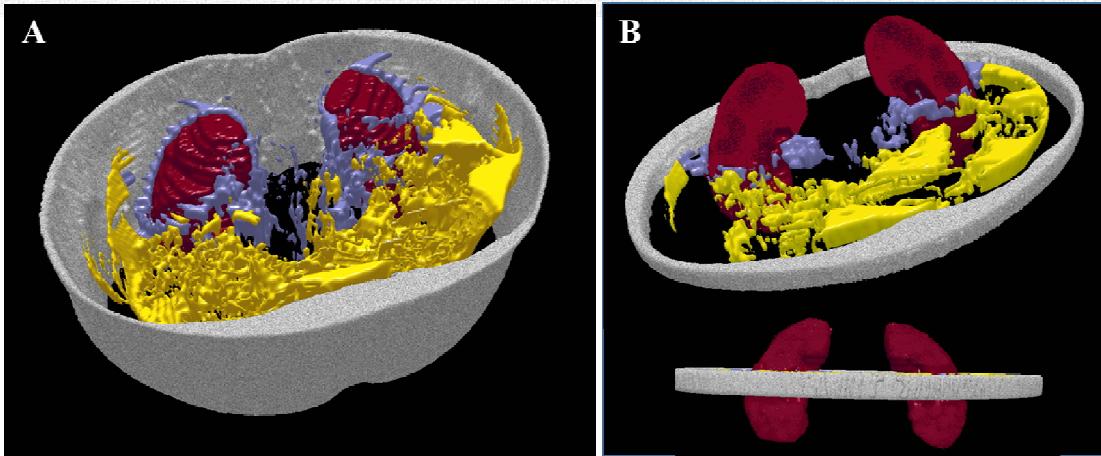
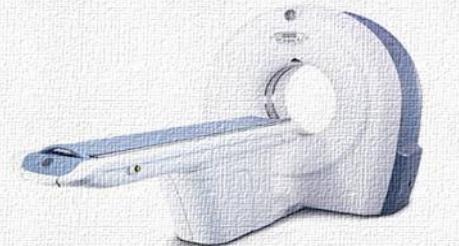
REZULTĀTI



3D modeļu veidošana un taukaudu tilpuma noteikšana



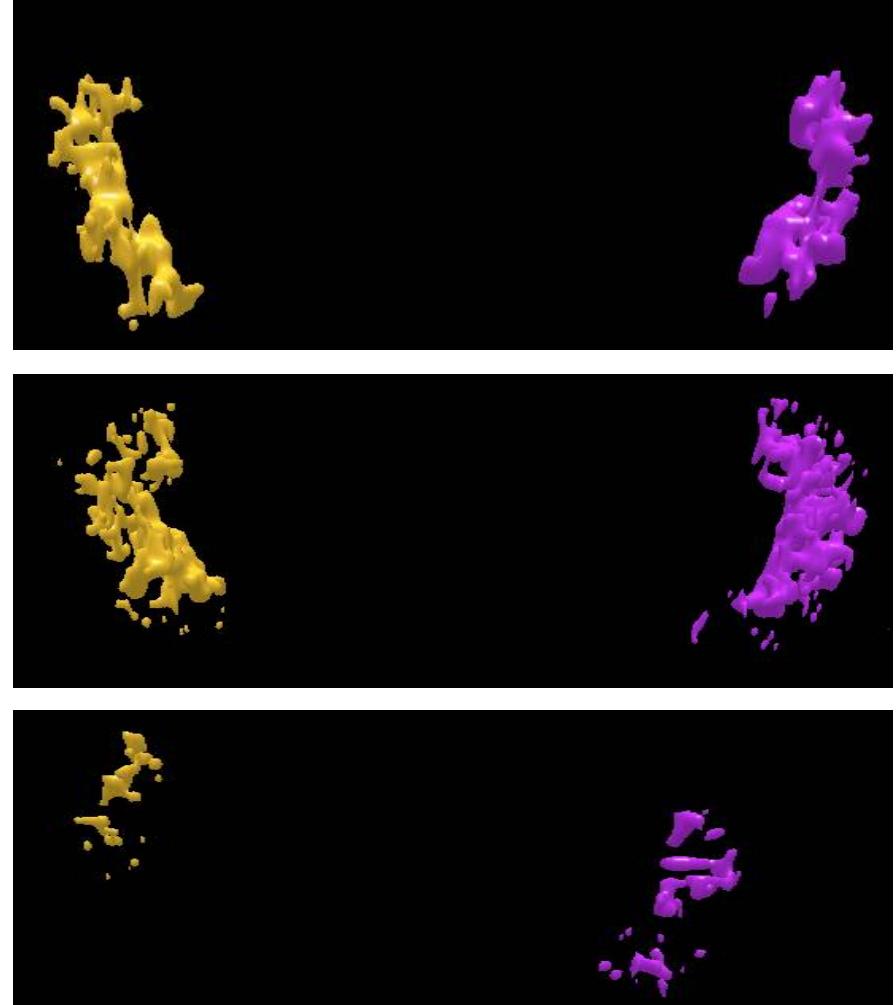
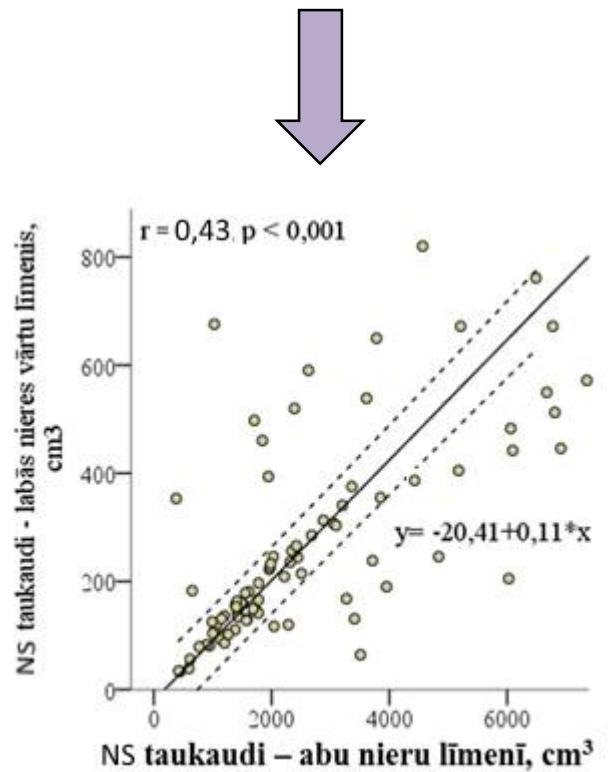
REZULTĀTI



REZULTĀTI

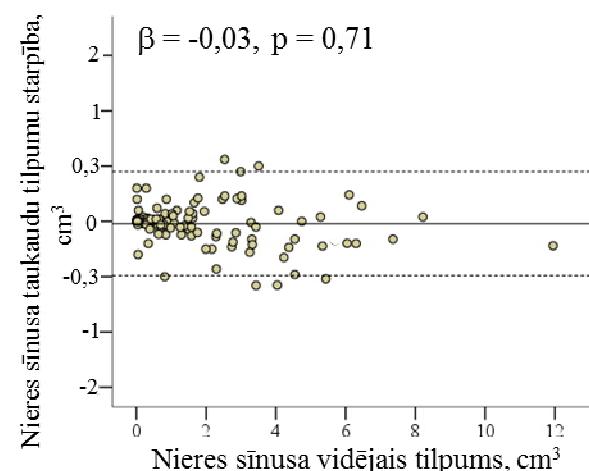
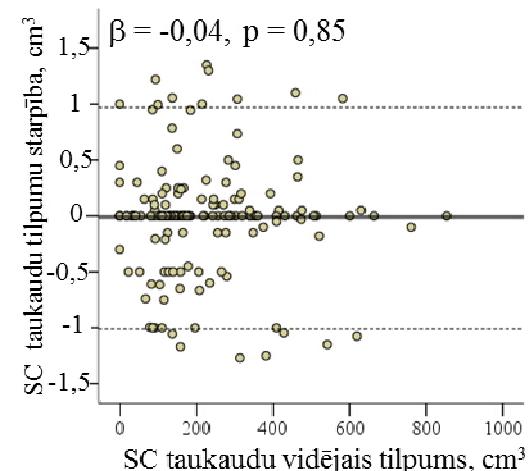
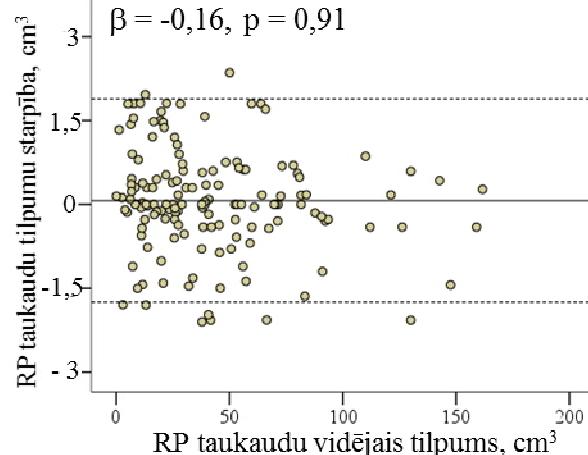
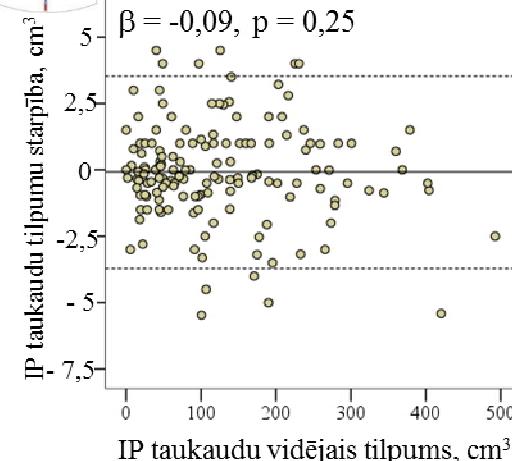
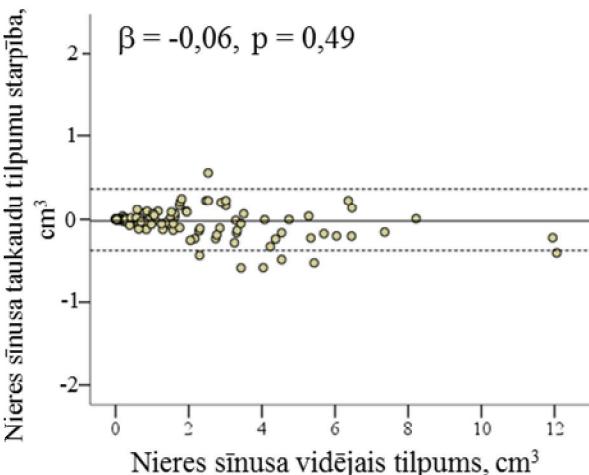
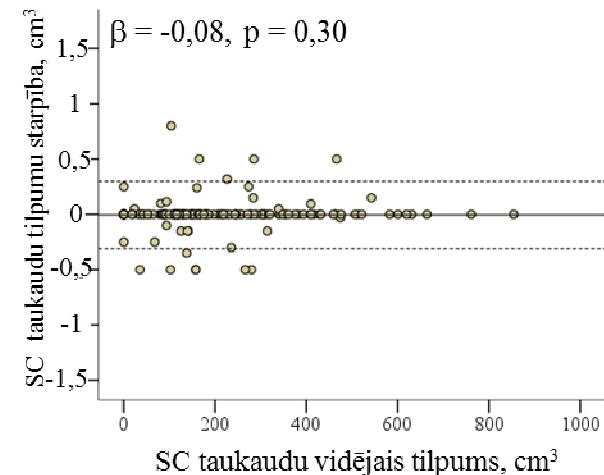
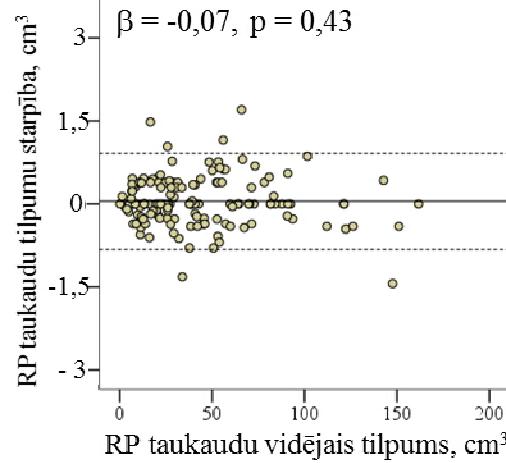
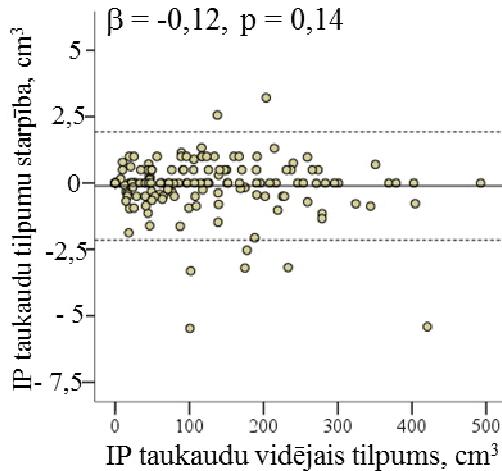


Nieru sīnusos taukaudi izvietojas pilienveidā
Nieres sīnusa taukaudu apjoms salīdzinoši neliels



REZULTĀTI

Segmentācijas protokola atkārtojamība



SECINĀJUMI



1. Izstrādāts piecu dažādu taukaudu depo segmentācijas protokols, izmatojot anatominiskos markierus un audu rentgenblīvumu.
2. Taukaudu mērījumi niero vārtu līmenī (1,5 cm biezā slānī) pilnībā atspoguļo kopējo taukaudu daudzumu visas nieres līmenī (23-24 cm).
3. Nieres sīnusa taukaudi nieres sīnusā izvietojas «pilienveidā», tāpēc šo taukaudu depo ieteicams mērīt pilnā apjomā.

LITERATŪRAS ATSAUCES



1. Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, Mullany EC, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet.* 2014;384(9945):766-81.
2. Finucane MM, Stevens GA, Cowan MJ, Danaei G, Lin JK, Paciorek CJ, et al. National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet.* 2011;377(9765):557- 67.
3. Alicic RZ, Patakoti R, Tuttle KR. Direct and indirect effects of obesity on the kidney. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2013;20(2):121-7.
4. Catalan V, Gomez-Ambrosi J, Rodriguez A, Ramirez B, Valenti V, Moncada R, et al. Peripheral mononuclear blood cells contribute to the obesity-associated inflammatory state independently of glycemic status: involvement of the novel proinflammatory adipokines chemerin, chitinase-3-like protein 1, lipocalin-2 and osteopontin. *Genes & nutrition.* 2015;10(3):460.
5. Taghizadeh N, Boezen HM, Schouten JP, Schroder CP, Vries EG, Vonk JM. BMI and Lifetime Changes in BMI and Cancer Mortality Risk. *PLoS One.* 2015;10(4):e0125261.
6. Kaplan MS, Huguet N, Newsom JT, McFarland BH, Lindsay J. Prevalence and correlates of overweight and obesity among older adults: findings from the Canadian National Population Health Survey. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2003;58(11):1018-30.
7. Fox CS, Massaro JM, Hoffmann U, Pou KM, Maurovich-Horvat P, Liu CY, et al. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation.* 2007;116(1):39-48.
8. Tran TT, Yamamoto Y, Gesta S, Kahn CR. Beneficial effects of subcutaneous fat transplantation on metabolism. *Cell metabolism.* 2008;7(5):410-20.
9. Britton KA, Fox CS. Ectopic fat depots and cardiovascular disease. *Circulation.* 2011;124(24):e837- 41.
10. Balagopal PB, de Ferranti SD, Cook S, Daniels SR, Gidding SS, Hayman LL, et al. Nontraditional risk factors and biomarkers for cardiovascular disease: mechanistic, research, and clinical considerations for youth: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2011;123(23):2749-69.
11. Terrier F, Grossholz M, Becker CD. *Spiral CT of the Abdomen.* Switzerland: Springer Science & Business Media; 2000. 554 p.

BLOOD PRESSURE ASSOCIATION WITH SEGMENTED ABDOMINAL FAT

Gita Krievina¹, Ilze Skuja², Vija Silina², Peteris Tretjakovs²

¹ Institute of electronics and computer science; ² Riga Stradiņš University

I MAIN FINDINGS OF THE STUDY

- Adipose tissue accumulation in renal sinus has asymmetric gender-independent nature.
- RS adipose tissue accumulation does not have effect on systolic and diastolic BP in middle-aged subjects.
- IP fat accumulation show positive association with systolic and diastolic BP increase possible due to adipocyte secreted ANG or aldosterone.

II AIM

Aim of the study was to evaluate whether abdominal fat segments (RP, SC or RS) are associated with increase of serum renin and/or blood pressure (BP)

IV METHODS

1. Observational study with a cross-sectional design

220 volunteers (110/110 F/M)
age of 37.30 ± 4.10

Exclusion criteria:
 - recorded diagnosis of chronic kidney diseases
 - cardiovascular diseases
 - diabetes
 - malignancy
 - use of tobacco and alcohol (men > 140 g ethanol per week; women > 70 g ethanol per week, etc.)

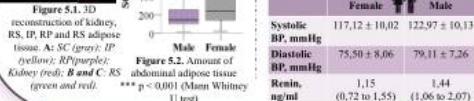
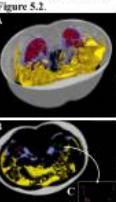
2. Blood pressure measurements

Blood pressure (Systolic / Diastolic) measurements were performed by professional medical assistant,

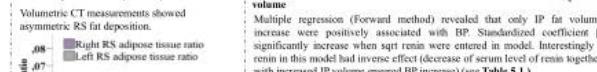
V RESULTS AND DISCUSSION

1. Abdominal adipose tissue measurements at the level of kidneys

3D reconstruction of visceral and SC adipose tissue in relation to kidney is shown in Figure 5.1.
Adipose tissue deposition is determined by gender Figure 5.2.



2. RS adipose tissue asymmetry



4. Blood pressure association with renin and IP adipose tissue volume

Multiple regression (Forward method) revealed that only IP fat volume increase were positively associated with BP. Standardized coefficient β significantly increase when spt renin were entered in model. Interestingly - renin in this model had inverse effect (decrease of serum level of renin together with increased IP volume ensured BP increase) (see Table 5.1.)

Table 5.1. Blood pressure association with renin and IP adipose tissue volume

Dependent variable	Independent variable	β ; p; 95% CI;	R^2	β ; p; 95% CI;	R^2
Systolic BP, mmHg (Model A)	IP, cm ³	0.62 *** (1.33 to 2.74)	0.46 *** (0.56 to 1.59)		
	+	37%	26%		
	Renin, ng/ml (Model B)	-0.59 *** (0.03 to 0.72)	-0.30 * (-0.57 to 0.47)	32%	
Diastolic BP, mmHg (Model A)	IP, cm ³	0.62 *** (0.90 to 1.88)	0.49 **** (0.51-1.21)	23%	
	+	33%			
	Renin, ng/ml (Model B)	-0.75 *** (-0.84 to 1.38)	-0.53 *** (-0.03 to 0.08)	31%	
	-	-0.21* (-0.79 to 0.02)	-0.30** (-0.62 to -0.09)		

Square root transformation was used for skewed data: Dependent variable: systolic/diastolic BP; Independent variables: all abdominal fat segments (RP, SC, RS) (Model A) and renin (Model B)

5. Discussion

It has been recently demonstrated that adipocyte angiotensin (ANG) plays a central role in the development of hypertension. Angiotensinogen in adipocytes are converted to ANGII by cathepsin instead of renin [3]. Additionally, adipocytes secrete aldosterone that can induce sodium retention and BP increase. BP increase due to previously mentioned mechanism possibly inhibit renal renin secretion.

References

- Dzogans HL, et al. 2010 Renal sinus fat and poor blood pressure control in middle-aged and elderly individuals at risk for cardiovascular events. Hypertension 56:991-996.
- Skarpaus E, et al. 2012 Adipose tissue in the kidney and chronic kidney disease. the Framingham Heart Study. J Am Soc Nephrol 23:1430-1436.
- Di Pellegrino ME, et al. 2013 The renin-angiotensin system in adipose tissue and its metabolic consequences during obesity. J Physiol Biochem 14:203-215.



Ectopic adipose tissue storage in the left and the right renal sinus is asymmetric and associated with serum kidney injury molecule-1 level increase. G. Krievina, I.Skuja, V. Silina, G. Bahs, P. Tretjakovs.

Journal of Anatomy. In press

Acknowledgements: Research were funded by the "Innovative technologies for acquisition and processing of biomedical images". The project is supported by the European Social Fund within the ESF grant No.2013/0090/DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/014*





EIROPAS SOCIĀLAIS
FONDS



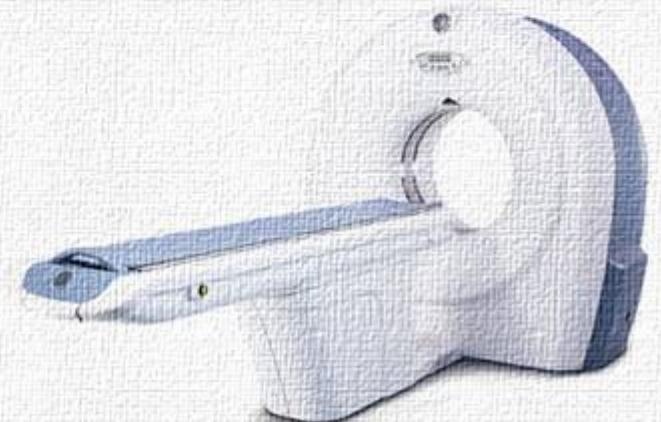
EIROPAS SAVIENĪBA

ELEKTRONIKAS UN
DATORZINĀTU
INSTITŪTS



INSTITUTE OF
ELECTRONICS AND
COMPUTER SCIENCE

*Paldies par
uzmanību!!*





IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



Multimodālas neinvazīvas ādas diagnostikas maketierīces izveidošana

ESF projekts Nr. 2013/0009/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/014
“Inovatīvas biomedicīnisko attēlu iegūšanas un apstrādes
tehnoloģijas(InBiT)”

Dmitrijs Blīzņuks
LU ASI pētnieks

Iekārtas izveidošanas motivācija

Apgrūtināti ieviest izmaiņas esošās tipveida maketierīcēs

- 1) Ideja,
- 2) Uzdevums elektronikas un mehānikas inženieriem,
- 3) Jaunu elektronisko un mehānisko komponenšu ražošana,
- 4) Jaunu komponenšu integrēšana,
- 5) Testēšana,
- 6) Iekārtas nodošana gala lietotājām (pētniekam, ārstam).

Iekārtas izveidošanas motivācija

Apgrūtināti ieviest izmaiņas esošās tipveida maketierīcēs

- 1) Jauno mezglu pielietošanas ideja,
- ~~2) Uzdevums elektronikas un mehānikas inženieriem,~~
- ~~3) Jaunu elektronisko un mehānisko komponenšu ražošana,~~
- 4) Jaunu komponenšu integrēšana,
- 5) Testēšana,
- 6) Iekārtas nodošana gala lietotājam (pētniekam, ārstam).

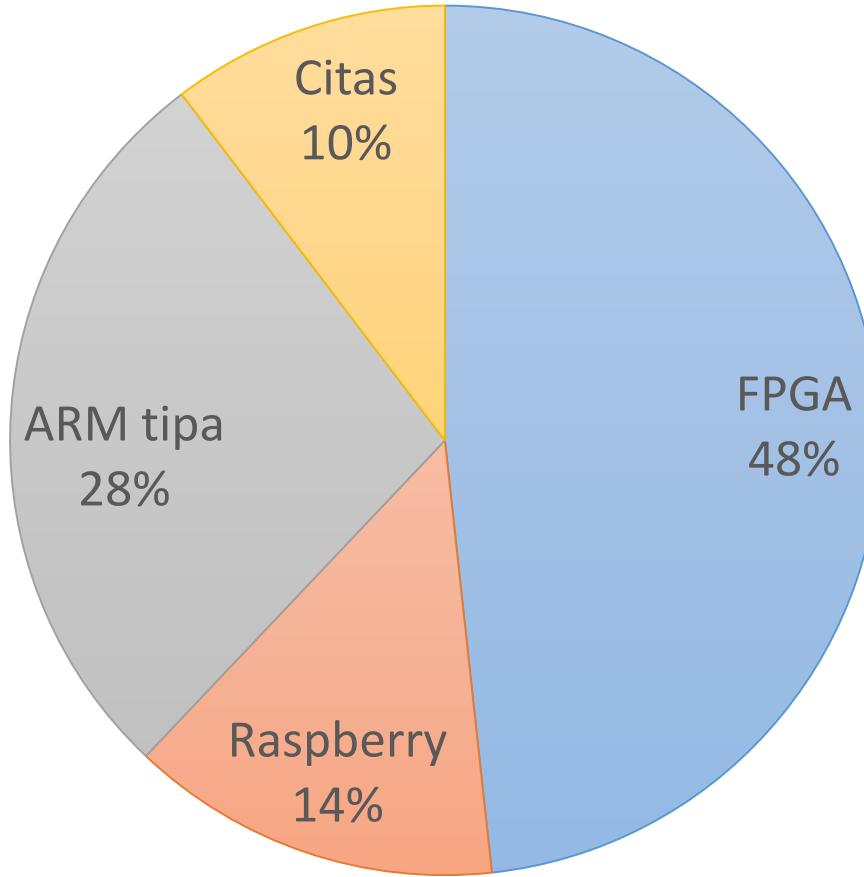
Iekārtas izveidošanas motivācija

Apgrūtināti ieviest izmaiņas esošās tipveida maketierīcēs

- 1) Jauno algoritmu izveidošanas ideja,
- 2) Algoritmu izstrāde datorā (Matlab),
~~3) Algoritmu adaptācija maketierīcei,~~
~~4) Jaunu algoritmu integrēšana maketierīcē,~~
- 5) Iekārtas nodošana gala lietotājam (pētniekam, ārstam).

Esošo iekārtu arhitektūras analīze

2010.-2015.gg. rakstos sastopamas vadības platformas

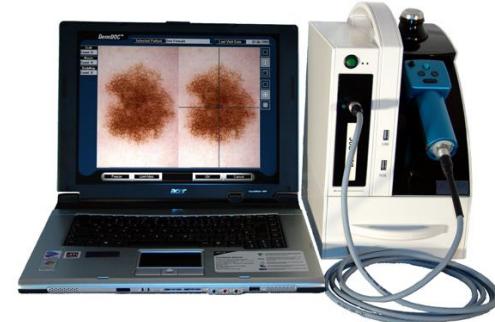


Lielākā daļa izmanto specializētus risinājumus ar iegultiem kontrolleriem

Esošo iekārtu arhitektūras analīze

Iekārtas apvieno pilnu analīzes ciklu:

- attēlu iegūšana,
- attēlu apstrāde,
- rezultātu vizualizācija.



DermDOC ©

Trūkumi:

- Attēlu apstrādes algoritmi ir stipri ierobežoti vai nav paredzēti izmaiņai,
- Rezultātu vizualizēšana notiek relatīvi mazā ekrānā vai iekārtai ir apgrūtināta mobilitāte.



SkImager

Piedāvātā pieeja

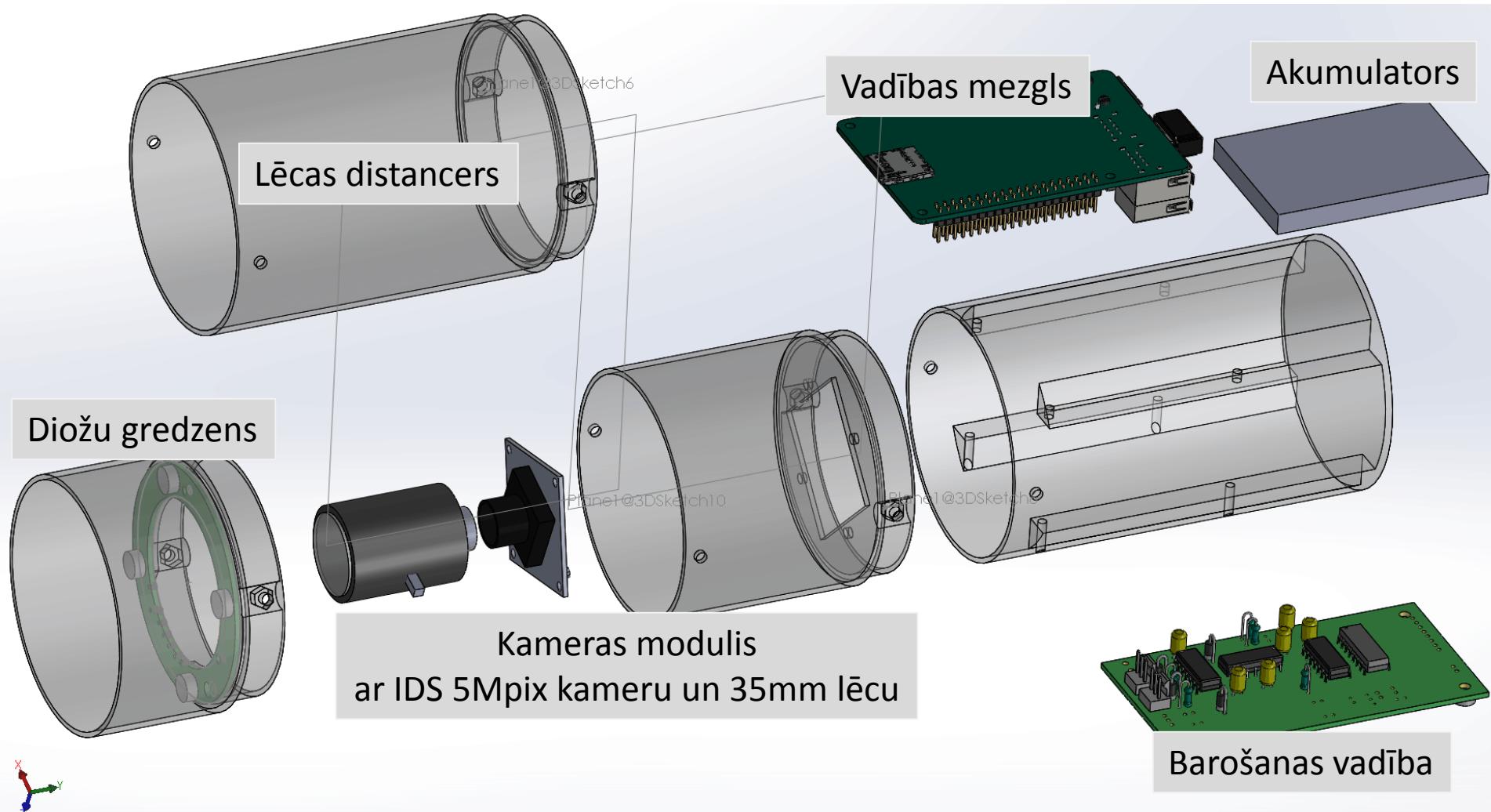
Modulārā struktūra ar standartizētām saskarnēm
ieguvumi:

- Komponenšu neatkarība (USB, GPIO),
- Ātra komponenšu maiņa,
- Paātrināta jauno mezglu ieviešana.

Attēlu apstrāde un vizuālizācija notiek attālināti
ieguvumi:

- Attēlu apstrādes algoritmi nav ierobežoti ar prototipa skaitļošanas spēju,
- Attēlu apstrādes algoritmus nav nepieciešams pielāgot prototipam,
- Attēlu vizualizācija notiek lietotājam ērtā veidā (datorā, mobilā telefonā).

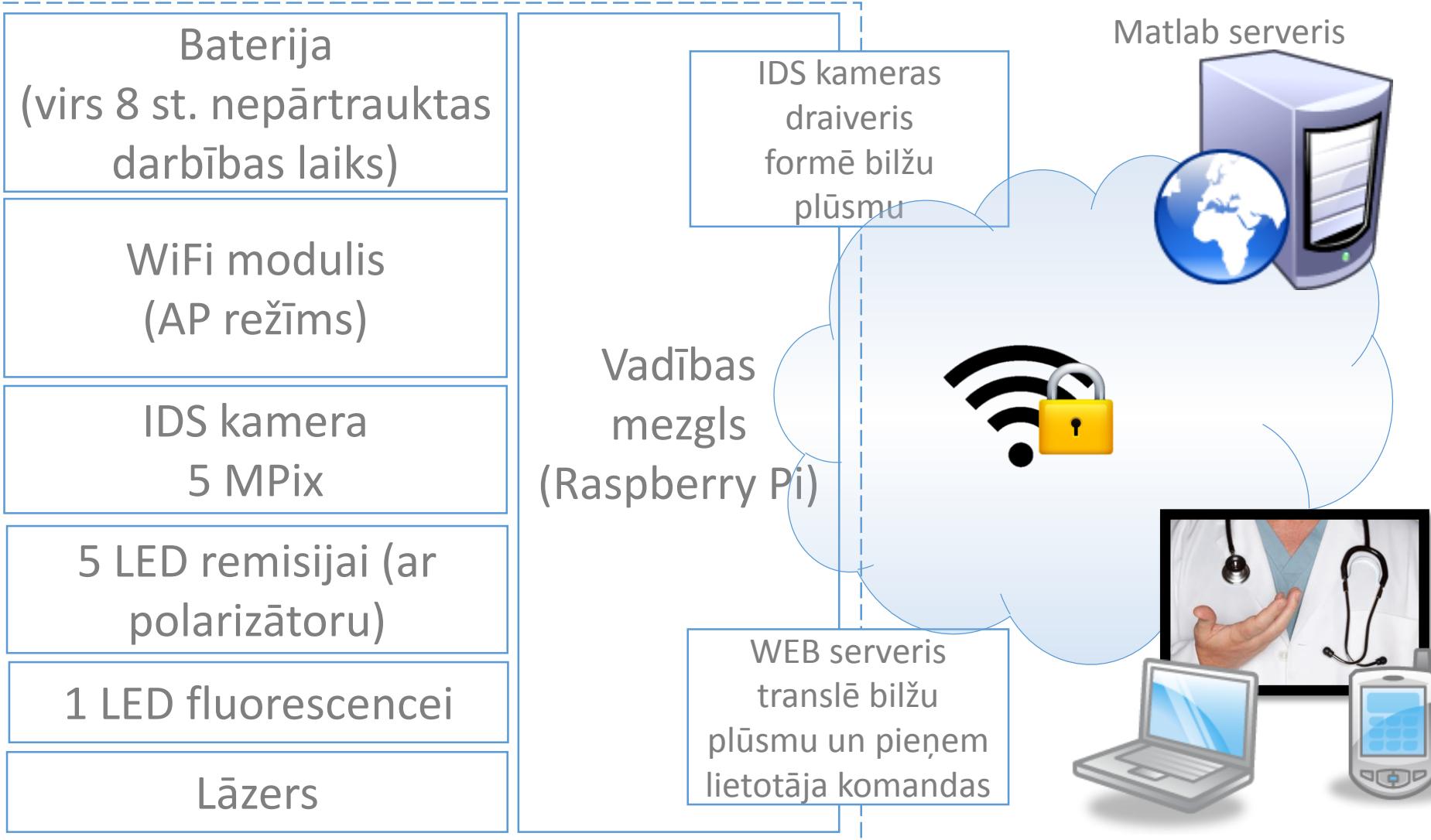
Piedāvātā prototipa sastāvdaļas



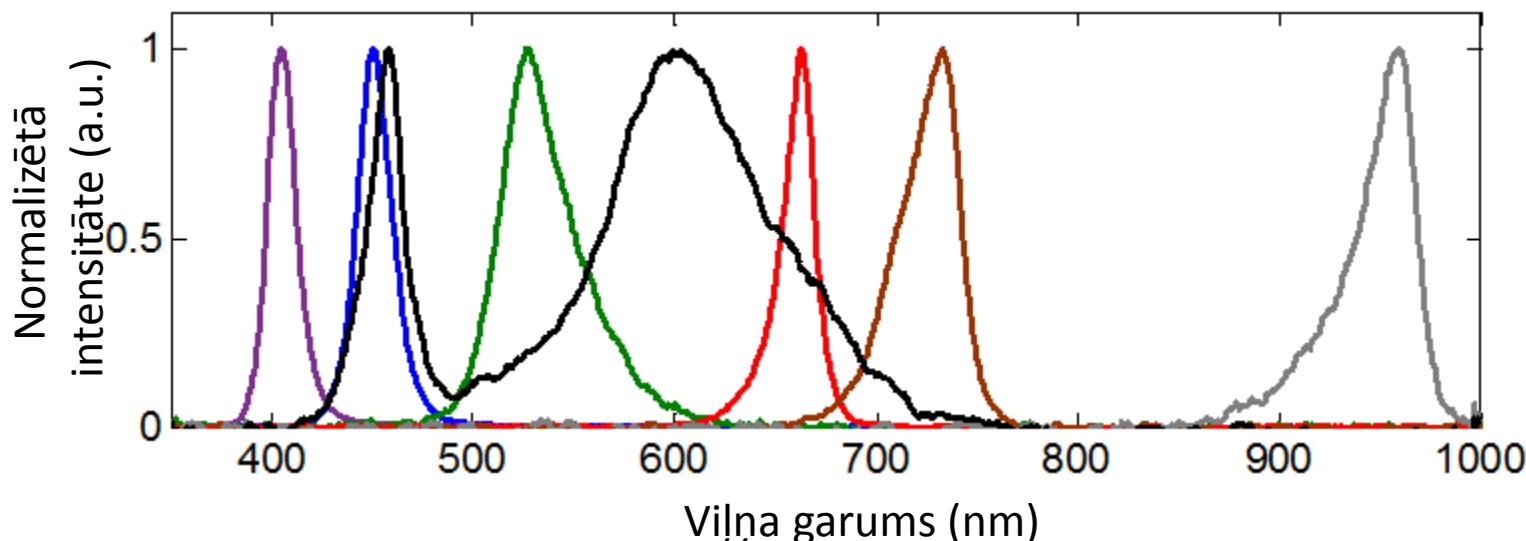
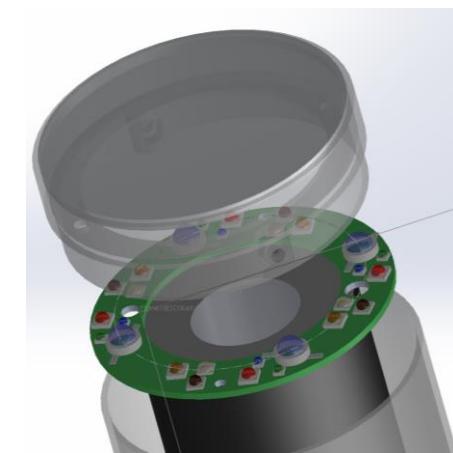
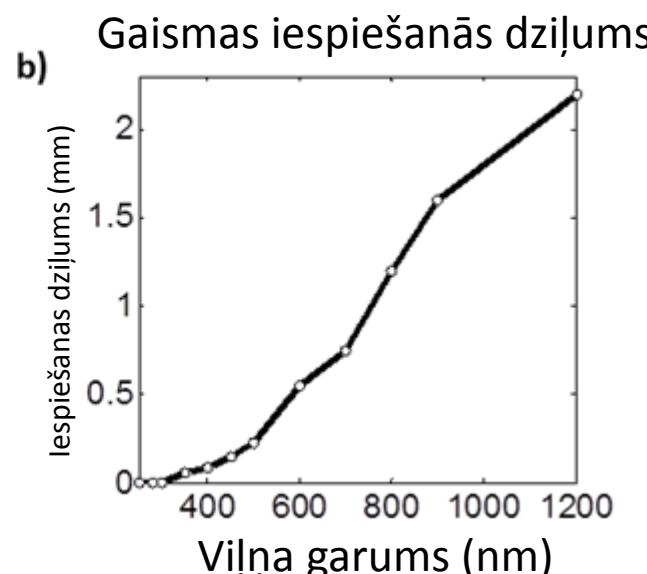
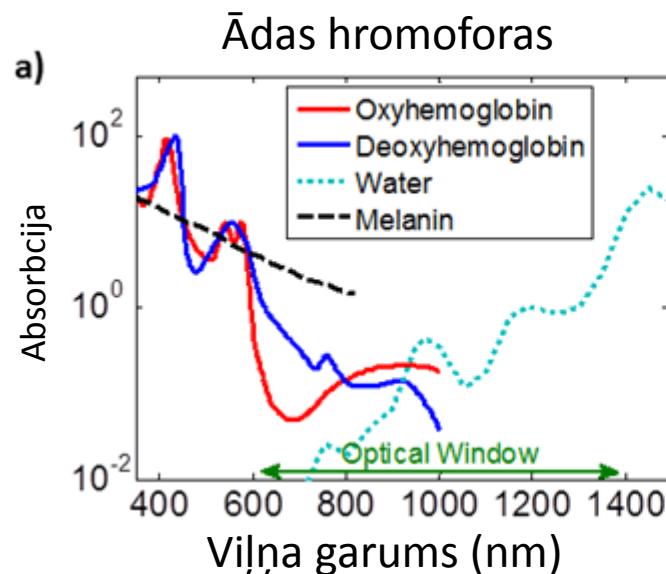
Prezentēta konferencē „3rd International Conference on BioPhotonics 2015”

D.Bļizņuks, D.Jakovels, I.Saknīte, J.Spigulis “Mobile platform for online processing of multimodal skin optical images”

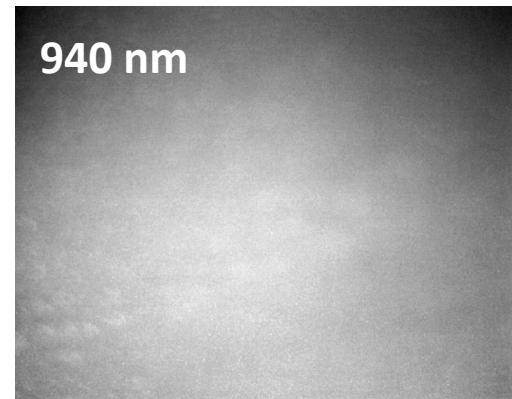
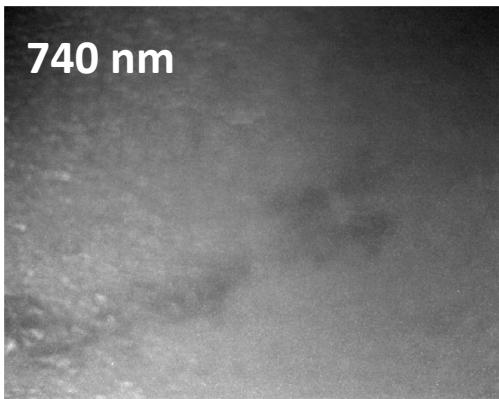
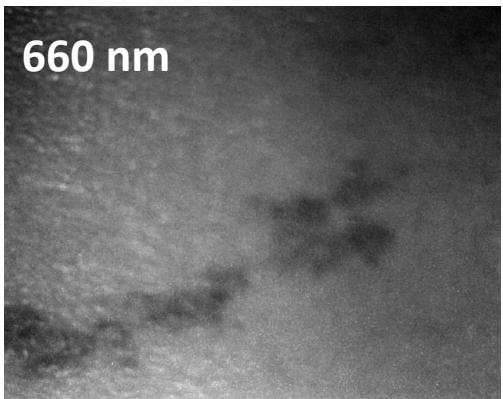
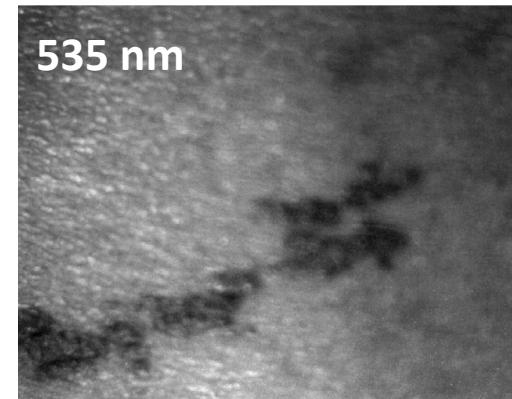
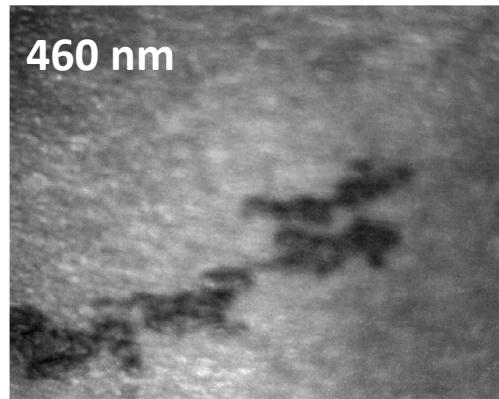
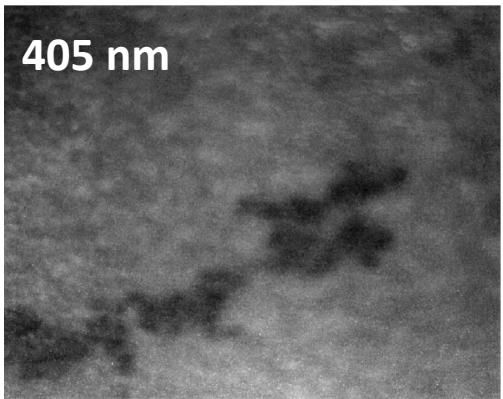
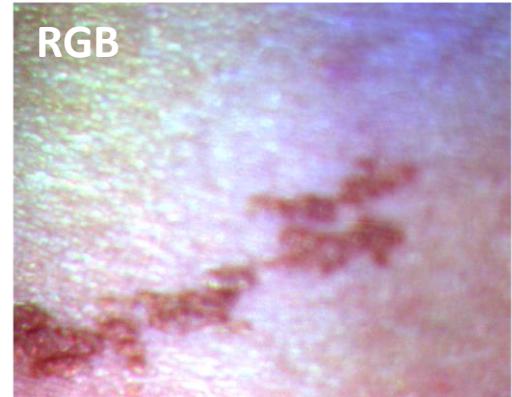
InBit maketierīces struktūra



Apgaismojuma gredzena diožu izvēle

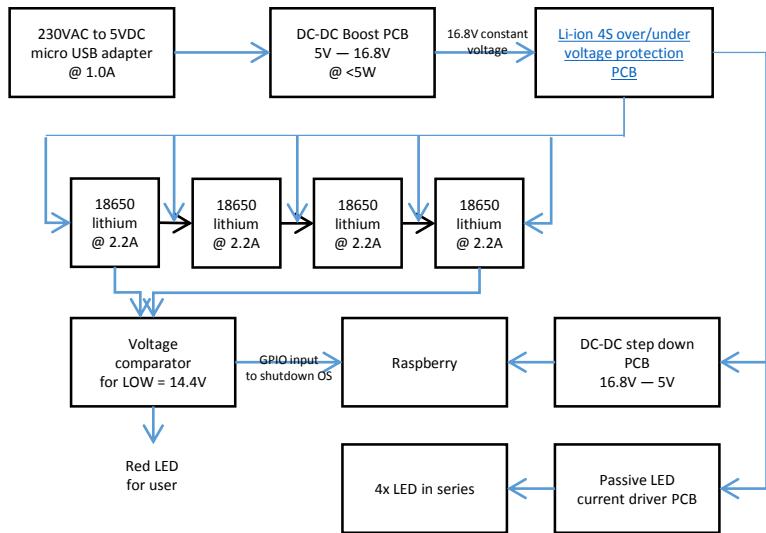


Piemērs pigmentētam ādas veidojumam

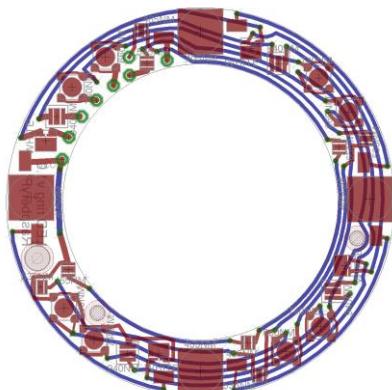
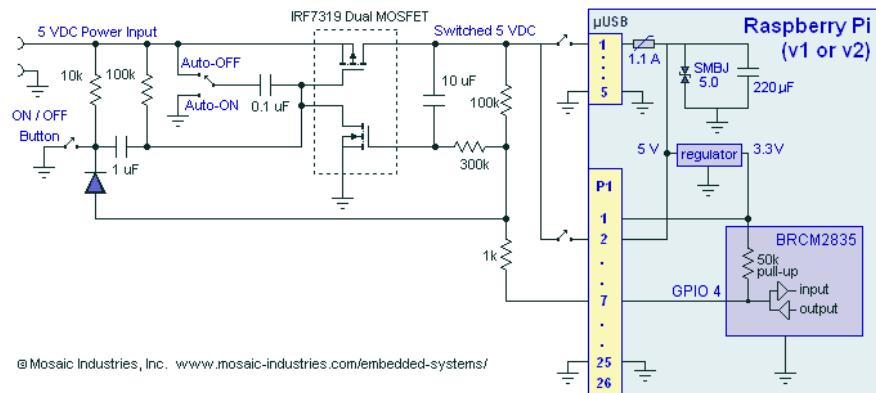


InBit maketierīces mezglu shēmas

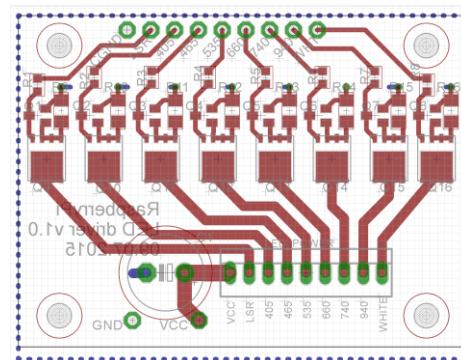
Barošanas shēma



Vadības mezgla kontrolēta stavokļa shēma



Diožu gredzena spiedplate

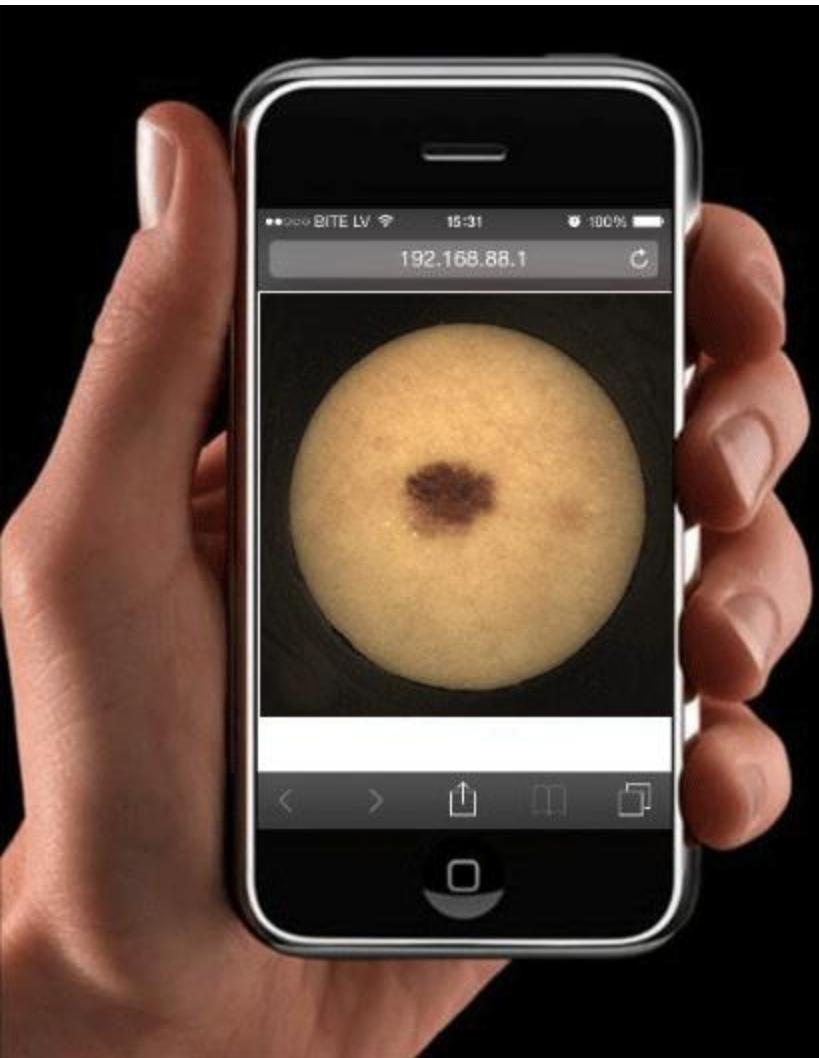


Diožu strāvas kontroles spiedplate

Iekārtas lietošanas princips



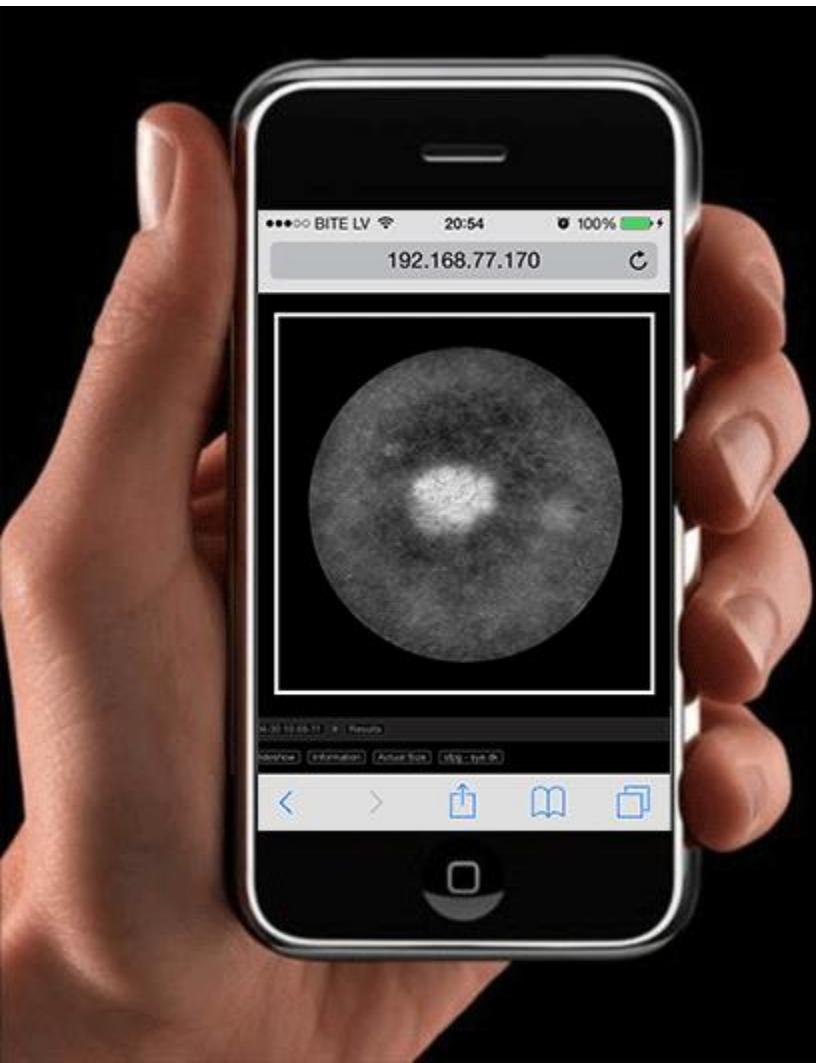
Iekārtas lietošanas princips



Reāllaika video
straumēšana pozīcijas
atrašanai un
fokusēšanai

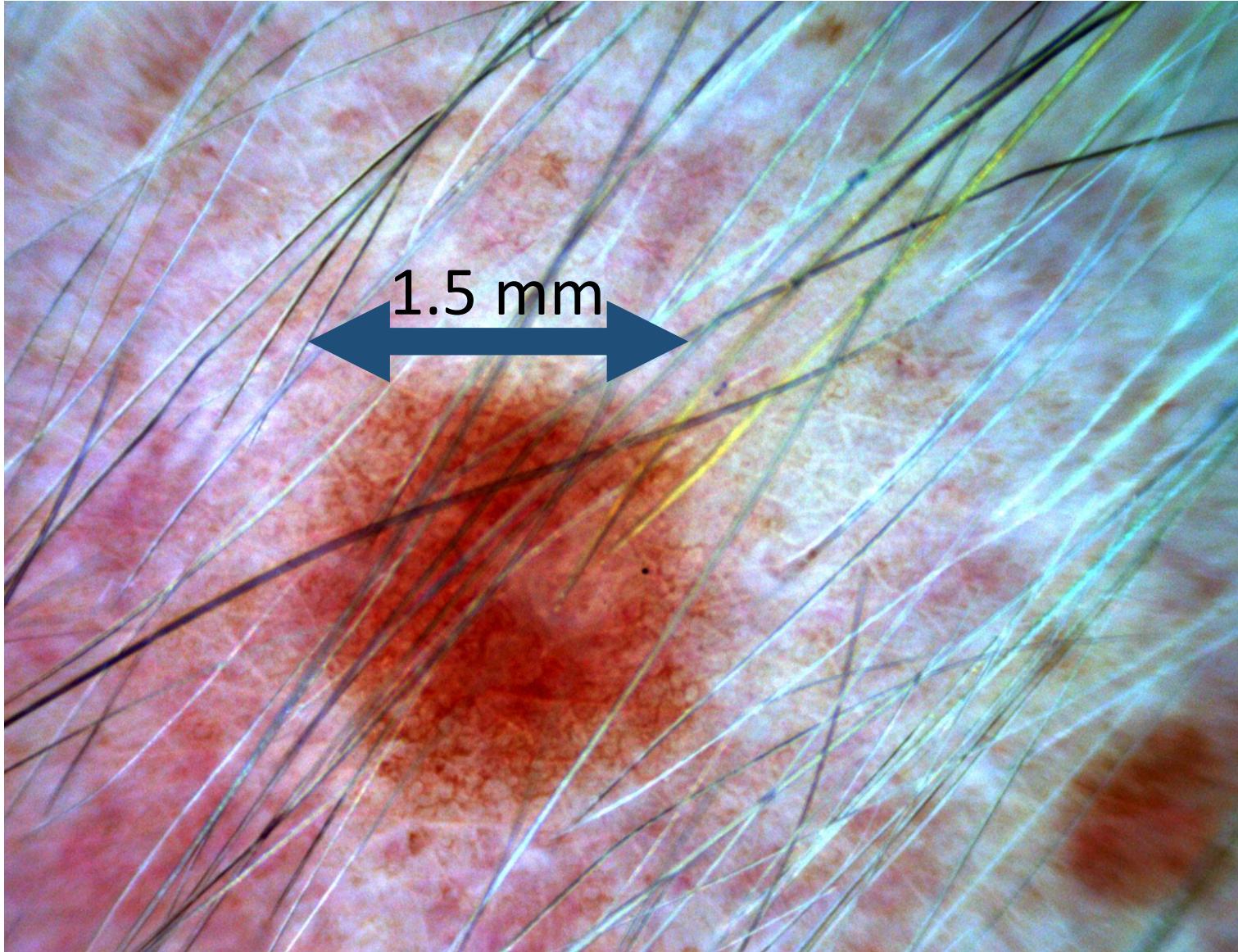
Video kodēšana ar
MJPEG algoritmu un
straumēšana pārlūkā ar
JavaScript

Iekārtas lietošanas princips

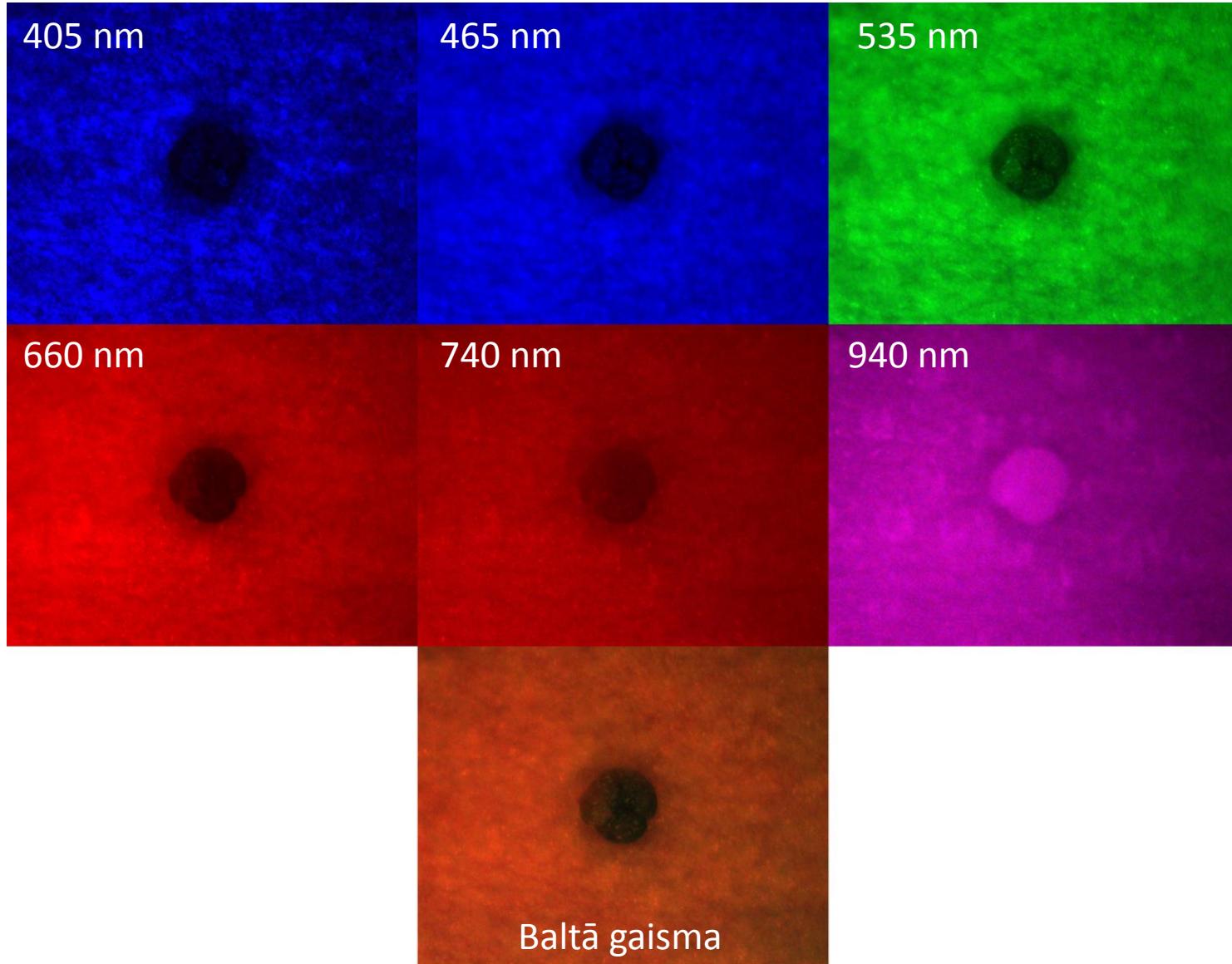


Rezultātu aplūkošana

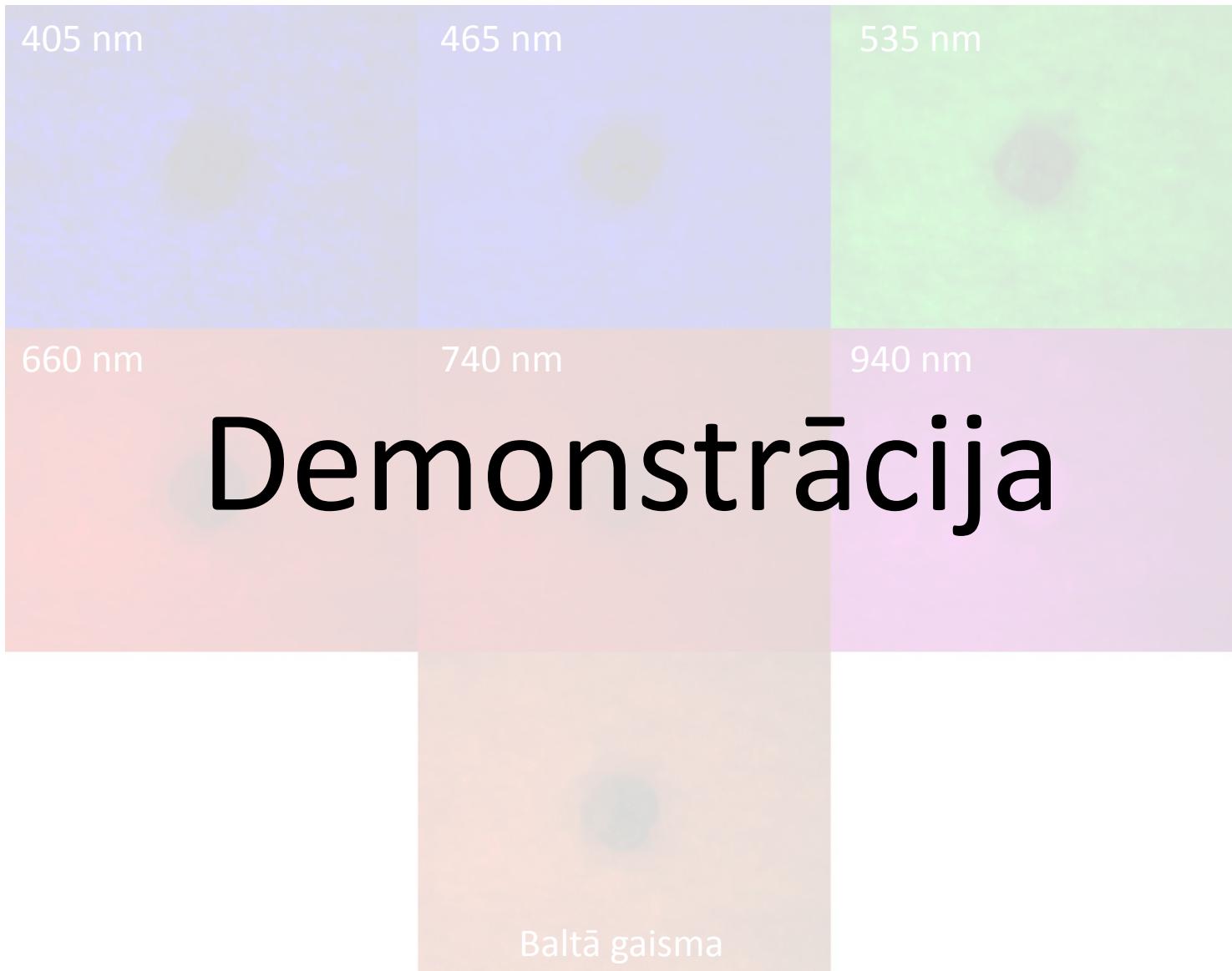
Rezultējošās bildes



Rezultējošās bildes



Rezultējošās bildes

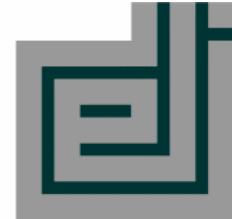




IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



ELEKTRONIKAS UN
DATORZINĀTNU
INSTITŪTS



Ar projektā izstrādātās iekārtas palīdzību iegūto attēlu apstrādes programmatūra

Roberts Kadikis
Juris Siņica-Siņavskis

Projekts

Inovatīvas biomedicīnisko attēlu iegūšanas un apstrādes tehnoloģijas
(InBiT)

Nr. 2013/0009/1DP/1.1.1.2.0/13/APIA/VIAA/014



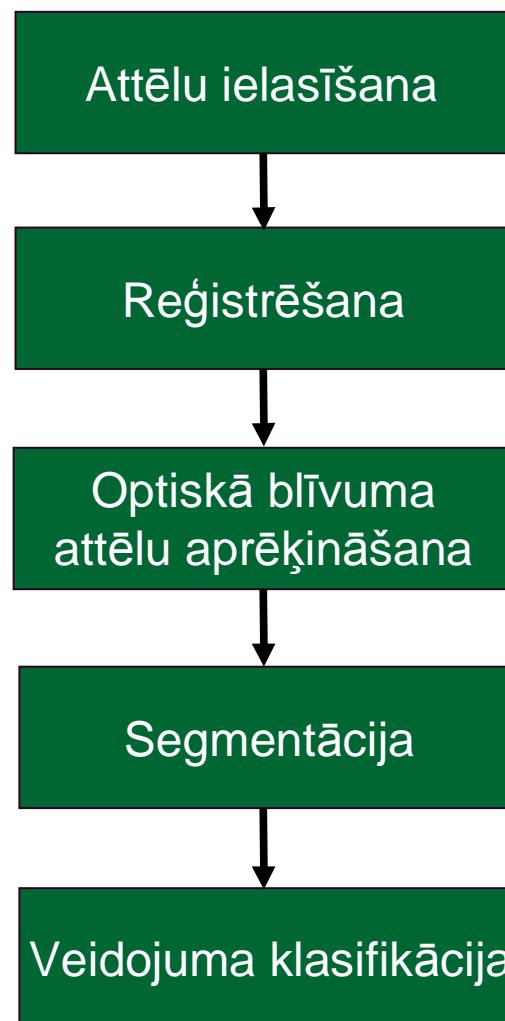
INSTITUTE OF
ELECTRONICS AND
COMPUTER SCIENCE

InBiT

27/08/2015

1

MATLAB funkcija InBiT()



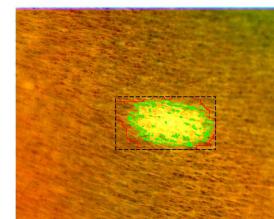
```
>> InBiT('http://192.168.88.1/Images/')
```

```
>> InBiT('C:/Images/')
```

R. Kadiķis, "Registration Method for Multispectral Skin Images," In Radioelektronika, Proc. 25th International Conference, IEEE, 2015, pp.232-235.

$$OD = -\log \frac{I}{I_0}$$

OD – optiskā blīvuma attēls
I – uzņemtais ādas attēls
 I_0 – atskaites attēls (ar iekārtu uzņemts etalons)



A. Lorencs, J. Sinica-Sinavskis, D. Jakovels, I. Mednieks, "Melanoma-Nevus Discrimination Based on Image Statistics in Few Spectral Channels," Elektronika Ir Elektronika, iesniegts publicēšanai.

