



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



EIROPAS SAVIENĪBA

Eiropas Sociālais fonds

Prioritāte: 1.1. Augstākā izglītība un zinātne

Pasākums: 1.1.1. Zinātnes un pētniecības potenciāla attīstība

Aktivitāte: 1.1.1.2. Cilvēkresursu piesaiste zinātnei

Projekts: "Inovatīvas biomedicīnisko attēlu iegūšanas un apstrādes tehnoloģijas" (InBiT)

Projekta sākuma datums: 01.09.2013.g.

Projekta beigu datums: 31.08.2015.g.

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

ESF finansējuma saņēmējs: Elektronikas un datorzinātņu institūts (EDI)

Sadarbības partneris: Latvijas Universitātes Atomfizikas un spektroskopijas institūts (ASI)

Projekta aktivitātes Nr.2 "Pētījumi" progresu pārskats

Pārskata numurs Nr.5. par periodu no 01.11.2014.g līdz 28.02.2015.g.

Projekta zinātniskais vadītājs: Aivars Lorencs, Dr.hab.math.

Projekta zinātniskie darbinieki: Kristīne Azarjana, Dr.med.

Jekaterina Bule, Dr.sc.ing.

Gita Krieviņa, doktorante

Inga Saknīte, doktorante

Dainis Jakovels, Dr.phys.

Juris Siņica-Siņavskis, Mag.math.

Mindaugas Tamošiunas, Dr.phys.

Roberts Kadiķis, Mag. sc. ing..

SATURS

1	Kopsavilkums	3
2	Ievads.....	4
3	Ādas veidojumu attēlu iegūšanas un straumēšanas iekārtas izstrāde	5
3.1	Iekārtas moduļu apraksts	7
3.1.1	Barošanas mezgls	7
3.1.2	Apgaismojuma modulis.....	8
3.1.3	Kamera	8
3.1.4	Bezvadu pārraides modulis	9
3.1.5	Vadības mezgls.....	9
4	Patenta pieteikuma gatavošana par iekārtu ādas veidojumu atšķiršanai	12
5	Ādas veidojumu reģistrācijas metožu pārbaude un uzlabošana	13
5.1	Testa attēlu sagatavošana.....	13
5.2	Reģistrācijas metožu salīdzināšana.....	14
6	Sasitumu attēlu reģistrācija.....	16
7	Ādas mitruma noteikšanas metodes izstrāde	18
7.1	Ādas mitrums un mitrinošo krēmu iedarbība. Literatūras izpēte.....	18
7.2	Tuvā infrasarkanā spektra diapazona difūzi atstarotās gaismas spektroskopijas izmantošana ādas mitruma noteikšanā. Literatūras izpēte	19
7.3	Mērījumi ar spektrometru un optisko šķiedru.....	20
7.4	Mērījumi ar NIR kameru	21
7.5	Rezultāti	22
7.5.1	Mērījumi ar spektrometru.....	22
7.5.2	Krēmu iedarbība laikā	23
7.5.3	Mērījumi ar kameru	25
8	Elektro- un sonoforēzes efektivitātes novērtēšana ar neinvazīvām optiskām metodēm	27
9	Publiska semināra organizēšana	28
10	Secinājumi	29
11	Literatūras saraksts	30
	Pielikumi	31

1 Kopsavilkums

Periodā no **1.11.2014.** – **28.02.2015.** projekta InBiT aktivitātes "Pētījumi" ietvaros veikti šādi darbi:

1. Projektā iesaistīts Dmitrijs Bļizņuks, kurš ir elektroniskās aparatūras izstrādes speciālists. Viņš iesaistīts multimodālas iekārtas projektēšanā, kura ļauj iegūt remisijas, fluorescences un lāzerspeklu attēlus un realizēt izstrādāto melanomas detektēšanas metodi. Izstrādāts šādas iekārtas prototips ādas veidojumu attēlu iegūšanai un pārsūtīšanai pa bezvadu tīklu uz datoru vai viedtālruni tālākai apstrādei. Iekārta domāta ādas veidojumu analīzei laboratorijas apstākļos vai primārās aprūpes ietvaros, piemēram, melanomas atšķiršanai no dzimumzīmes, lai sniegtu ārstam padomu par pacienta tālākas izmeklēšanas nepieciešamību specializētā klīnikā (aktivitāte 2.3).
2. Zinātnisks raksts par metodi melanomu atšķiršanai no dzimumzīmēm, balstoties uz ādas veidojumu attēliem 3 spektra joslās pārstrādāts iesniegšanai žurnālā IEEE Transactions on Biomedical Engineering (aktivitāte 2.4).
3. Sagatavots un iesniegts patenta pieteikums par iekārtu melanomas atšķiršanai no dzimumzīmes, kura balstās uz ādas veidojuma attēla iegūšanu un apstrādi (aktivitāte 2.4).
4. Turpināti eksperimenti ar pelēm šūnu apvalka elektroporozes un sonoporozes efektivitātes izpētei zāļu ievadīšanai. Sagatavots raksts iesniegšanai zinātniskā žurnālā (aktivitāte 2.4).
5. Multispektrālā attēla reģistrācijas algoritms pārbaudīts un uzlabots, balstoties uz attēlu kopas apstrādi, kuri iegūti ar projektā izstrādātā multimodālas iekārtas maketa palīdzību (aktivitāte 2.2).
6. Iesniegtas tēzes konferencei MAREW 2015 par multispektrālu attēlu reģistrācijas jautājumiem (aktivitāte 2.4).
7. Turpināti eksperimentāli pētījumi ādas mitruma noteikšanai, izmantojot spektrometru diapazonā 900-1700 nm. Eksperimentu rezultāti prezentēti zinātniskā konferencē „Photonics West 2015”, kas norisinājās laikā no 7.-12. februārim Sanfrancisko, ASV (aktivitāte 2.2).
8. Turpināti pētījumi bilirubīna satura noteikšanai ādā sasitumu vecuma noteikšanai. Veikta zilumu attēlu reģistrācija, hromoforu kartēšana zilumu attēlos spektra diapazonā no 450 nm līdz 650 nm bilirubīna koncentrācijas noteikšanai (aktivitāte 2.2).
9. Sagatavots publicēšanai raksts "SPIE Proceedings" (aktivitāte 2.4):
 - a. I.Saknite, J.Spigulis. "Determination of in vivo skin moisture level by near-infrared reflectance spectroscopy".
10. Noorganizēts publiskais projekta seminārs, kurā visi interesenti iepazīstināti ar projektā risinātajām problēmām un iegūtajiem rezultātiem.
11. Projekta pētnieciskā darbība apspriesta 3 zinātnisko dalībnieku semināros.

2 Ievads

Šis pārskats veltīts projekta piektā posma laikā veiktajiem pētījumiem. Šajā laikā tika turpināti uzsāktie pētījumi, izgatavots jaunas iekārtas prototips, par iegūtajiem rezultātiem ziņots zinātniskā konferencē, sagatavots patenta pieteikums un gatavotas zinātniskās publikācijas.

Perioda laikā izstrādāta multimodāla iekārta ādas attēlu iegūšanai un izgatavots šādas iekārtas prototips, kurš ļauj iegūt remisijas, fluorescences un lāzerspeklu attēlus un pārsūtīt tos pa bezvadu tīklu uz datoru vai viedtālruni tālākai apstrādei, piemēram, lai realizētu izstrādāto melanomas detektēšanas metodi. Iekārta demonstrēta Lāzerplastikas klīnikā un iegūtas rekomendācijas tās funkcionalitātes uzlabošanai un nepieciešamās attēlu kvalitātes nodrošināšanai.

Sagatavots un iesniegts patenta pieteikums par iekārtu melanomas atšķiršanai no dzimumzīmes. Salīdzinājumā ar tuvāko analogu, patentējamā iekārta nodrošina augstāku melanomas detektēšanas precizitāti, balstoties uz ādas veidojuma optiskā blīvuma attēlu iegūšanu vairākās spektra joslās, šo attēlu pikseļu statistisku parametru noteikšanu un salīdzināšanu ar sagatavošanas periodā aprēķinātām sliekšņu vērtībām, un melanomas detektēšanu, balstoties uz nosvarotā vairākuma principu, izmantojot dažādus svāra koeficientus dažādiem statistiskajiem parametriem.

Turpināts darbs publikācijas sagatavošanā par ādas veidojumu klasifikācijas metodi melanomu atšķiršanai no dzimumzīmēm. Publikācijas materiāls korigēts, balstoties uz recenzentu ieteikumiem.

Perioda laikā veikta attēlu reģistrācijas algoritma pārbaude un uzlabošana, balstoties uz projekta ietvaros iegūto attēlu apstrādi. Sagatavotas un iesniegtas tēzes konferencei MAREW 2015 par šo tēmu.

Turpināti eksperimenti ādas mitruma novērtēšanai, izmantojot spektrometru diapazonā 900-1700 nm. Eksperimentu rezultāti prezentēti zinātniskā konferencē „Photonics West 2015”, kas norisinājās laikā no 7.-12. februārim Sanfrancisko, ASV.

Turpināti pētījumi bilirubīna satura noteikšanai ādā sasitumu vecuma noteikšanai. Veikta sasitumu multispektrālo attēlu reģistrācija. Tiek turpināta bilirubīna kartēšanas algoritma izstrāde sasitumu vecuma noteikšanai.

3 Ādas veidojumu attēlu iegūšanas un straumēšanas iekārtas izstrāde

Iepriekšējos ASI pētījumos ādas veidojumu analīzei tika pielietota SkImager iekārta, kura ļauj iegūt remisijas un fluorescences attēlus, un veikt lokālu attēlu apstrādi. Lai veicinātu ādas analīzes metožu attīstību, tika izlemts veidot jaunu multimodālu iekārtu, kura dos iespēju attīstīt gan ādas attēlu iegūšanu, gan to analīzi. Kopā ar jaunas iekārtas veidošanu tika uzsākti pētījumi par kritērijiem lēcu un kameras kvalitātes novērtēšanai ādas veidojumu analīzei.

Jaunas multimodālas iekārtas izstrādes galvenais mērķis ir izveidot pamatplatformu turpmāko jauninājumu ieviešanai. To var panākt, atdalot attēlu iegūšanas procesu no to apstrādes, izmantojot standartizētus un plaši pielietotus attēlu pārraides interfeisus un protokolus. Šāda pieeja ļaus relatīvi viegli veikt gan pašas kameras, gan skaitļošanas moduļa, gan pārraides interfeisa nomaiņu.

Piedāvātas iekārtas lietošanas princips ir pietuvināts lietotāju pierastai videi – pārlūkprogrammai viedtālrunī vai klēpj datorā, kuri pieslēdzas iekārtai, izmantojot bezvadu interfeisu (WiFi vai Bluetooth).

Jaunās maketierīces izstrādi motivē divi faktori: nepieciešamība izmantot lāzerspeklu analīzi un atvieglot jaunu attēlu apstrādes metožu ieviešanu aprītē. Iepriekšējo periodu pētījumi par lāzerspeklu pielietojamību ādas analizē pierāda to lietošanas iespējas. Lai turpmākos pētījumos būtu iespējams ar minimālu piepūli mainīt starojuma avotus, tika nolemts izveidot plati ar universālu stiprinājumu. Pašreiz ir uzsākta plates projektēšana ar trim dažāda tipa starojuma avotiem: piecas gaismas diodes remisijas attēlu iegūšanai, atsevišķas diodes fluorescences attēliem un viena lāzera diode lāzerspeklu attēliem.

Jaunu attēlu apstrādes algoritmu ieviešanas atvieglošanas nepieciešamība ir saistīta ar mobilo iekārtu skaitļošanas jaudas ierobežojumiem un tajās darbināto algoritmu maiņas apgrūtinājumiem. Esošajā SkImager iekārtā attēli tiek apstrādāti lokāli. Tas ierobežo algoritmu iespējas vairākos aspektos. Pirmkārt, iegulto sistēmu skaitļošanas jauda ir ievērojami mazāka nekā standarta datoram. Papildus tam, pastāv grūtības algoritmu atjaunošanai. Apstrādes algoritmi tiek nepārtraukti attīstīti un, lai ieviestu uzlaboto algoritmu mobilajā iekārtā, ir nepieciešama to adaptācija un optimizācija, kas prasa papildus laiku. Algoritma maiņai mobilo iekārtu ir jānodod speciālistam; lietotājs nevar to izdarīt patstāvīgi. Tas viss kopumā noved pie nepieciešamības apstrādāt iegūtos attēlus tādā pat veidā, kā to dara algoritma izstrādātāji, t.i. standarta datorā ar MATLAB programmatūru.

Piedāvātas mobilās iekārtas un esošās SkImager iekārtas funkcionalitātes salīdzinājums ir redzams zemāk.

SkImager

Funkcijas	• Ādas apgaismošana • Attēlu iegūšana • Attēlu apstrāde • Rezultātu attēlošana
„+”	„—”
• Viss vienā • Nav nepieciešams papildus aprīkojums	• Ierobežojums apstrādē, • Elementi cieši sasaistīti, grūti mainīt sistēmas aparatūru, • Atkarība no konkrētā izstrādātāja.

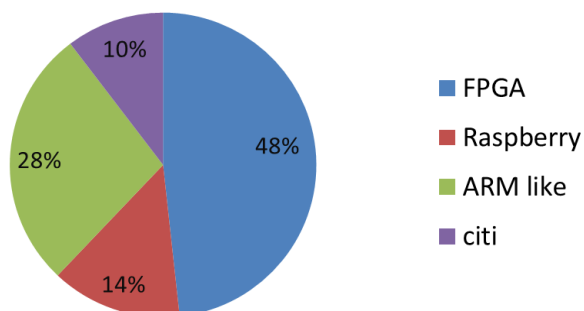
InBiT maketierīce

Funkcijas	• Ādas apgaismošana, • Attēlu iegūšana, • Attēlu apstrāde, • Rezultātu attēlošana, • Attēlu pārraide.
„+”	„—”
• Iespēja ātri nomainīt un uzlabot atsevišķus mezglus • Ērtāk izmantot ar savu datoru/telefonu	• Ir nepieciešams dators vai viedtālrunis attēlu apskatei un apstrādei

Lai izvēlētos jaunās ierīces vadības platformu un kameras tipu, tika izpētīta pašreizējā situācija attēlu apstrādes platformu ziņā. Tika apskatīti 32 raksti no IEEEExplore krājuma par 2010.g.-2014.g., no tiem izdalīts kameras pielietojuma veids, kameras tips, datu pārraides interfeiss un attēlu iegūšanas platformas tips.

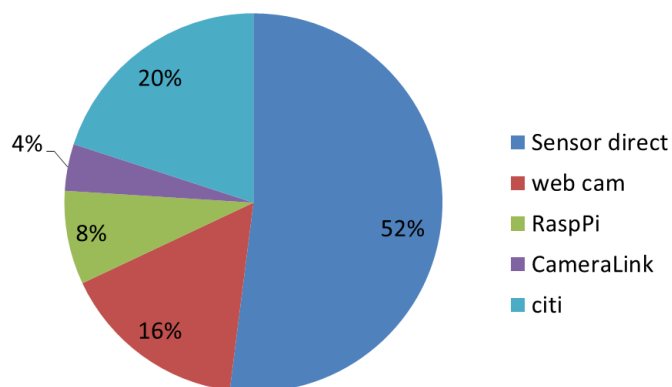
No apskatītajām sistēmām var izdalīt divus populārākos pielietojuma scenārijus:

- Uzdevumi ar reālā laika video plūsmas apstrādi un/vai bilžu iegūšanu ar augstu frekvenci;
- Uzdevumi, kas vērsti uz vienkāršotu attēlu apstrādi, kur nav nepieciešama augsta kvalitāte.

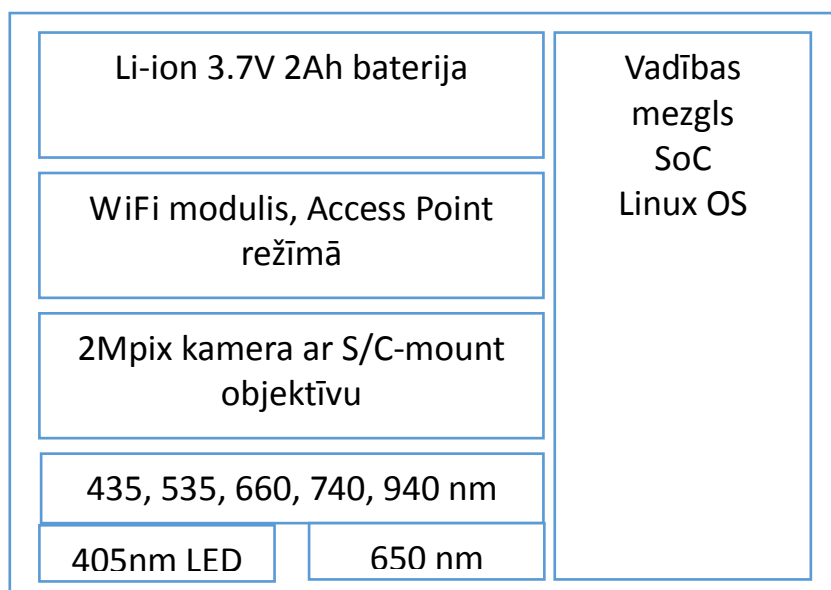


Att. 3.1. 2010.-2014.gadu rakstos sastopamās vadības platformas.

Pirmajā gadījumā tiek lietots FPGA vadības bloks, jo tas ļauj veidot apstrādes sistēmu ar apstrādes laiku, kas ir pietiekami mazs video plūsmas apstrādei reālā laikā. Šajā gadījumā lieto tiešo pieslēgumu kameras sensoram, lai neveidotos papildus aizture.



Att. 3.2. 2010.-2014.gadu rakstos sastopamo kameru tipi/ interfeisi.



Att. 3.3. Jaunās InBiT ierīces struktūra.

Apkopojot rakstos pieejamo informāciju, tika secināts, ka plānotais pielietojums neprasa veikt video datu plūsmas apstrādi reālā laikā. Līdz ar to izmantot kameras sensora tiešu vadību ar FPGA mezglā palīdzību nav nepieciešams. Tas arī apgrūtinātu turpmāko iekārtas attīstību. Tāpēc tika izvēlēts standartizēts veids, kurš ļauj veikt visas ieplānotas darbības, izmantojot pasaulē zināmas un plaši pieejamas tehnoloģijas. Par iekārtas centrālo vadības mezglu tika izvēlēts Raspberry Pi kontrolieris ar Linux OS. Tas turpmāk ļaus ieviest izmaiņas standartizētā veidā. Iekārtas moduļu (piem. WiFi sakaru bloks, kamera, u.c.) maiņas gadījumā lielākoties būs nepieciešama tikai vienkārša draiveru instalēšanas procedūra. Tā kā izvēlētajā vadības platformā satur iebūvētu USB interfeisu, tika izvēlēta kamera ar USB datu pārraides iespēju un Linux vidē pieejamiem draiveriem — “IDS uEye”.

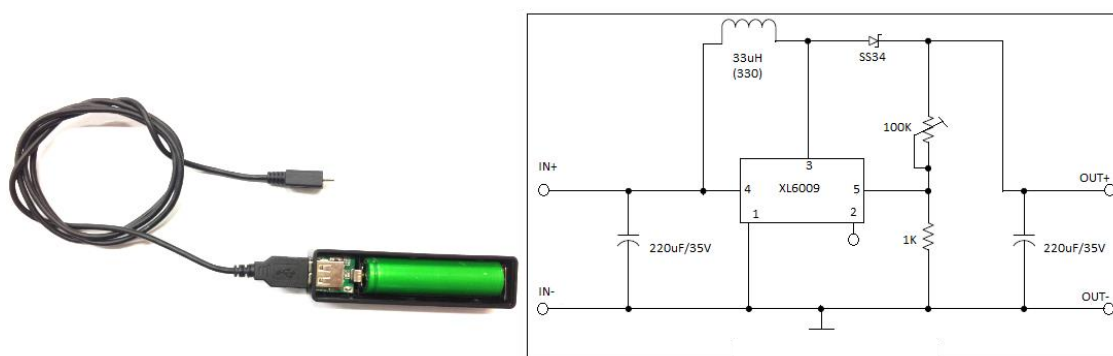
InBiT maketierīces struktūra ir redzama att.3.3. Vadības mezgls- Raspberry Pi iegultā sistēma- apvieno un vada visus tai pakārtotos mezglus. Raspbian operētājsistēma ir Linux v3.18 bāzēta sistēma un ļauj bez aizkavēm lietot WiFi moduļus, USB kameru, realizēt Web servera, FTP funkcijas, u.c.

3.1 Iekārtas moduļu apraksts

3.1.1 Barošanas mezgls

Sistēmas barošanai tiek izmantota Li-ion 18650 tipa baterija 2500 mAh, kura ļauj nepārtraukti darbināt iekārtu 4 stundas. Ārstu prakse rāda, ka iekārta tiks lietota tikai epizodiski, tāpēc to varēs izmantot pilnu darba dienu.

Tā kā pārējie sistēmas mezgli darbojas ar 5V spriegumu, bet baterijas darba spriegums ir 3.7V, tiek izmantots DC-DC pārveidotājs. Tā kopskatu un barošanas mezgla shēmu var redzēt aAtt. 3.4.



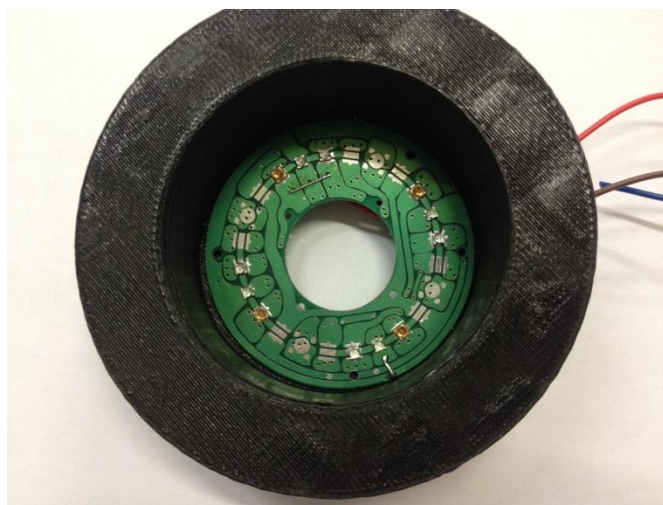
Att. 3.4. Barošanas modulis ar sprieguma pārveidotāju.

3.1.2 Apgaismojuma modulis

Apgaismojuma moduļa pirmajam prototipam tika izveidota plate gredzena formā ar triju tipu diodēm. Apgaismojuma moduļa vadība notiek no vadības mezgla izejām, kas saslēdz atbilstošo gaismas diodi ar barošanas avotu, izmantojot MOSFET slēdžus.

Sistēmas bāzes funkciju testēšanai pietiek ar esošām diodēm, nākošajā versijā tiks izmantotas visas iplānotās diodes, kā arī lāzers.

Apgaismojuma moduļa kopskatu var redzēt Att. 3.5.

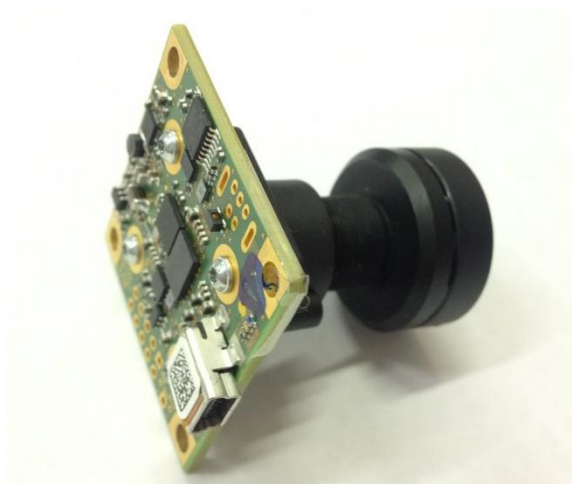


Att. 3.5. Apgaismojuma moduļa prototips.

3.1.3 Kamera

Kā jau paskaidrots iepriekš, kameras datu pārraides interfeisa izvēlei priekšroka tika dota USB interfeisam. Tas turpmāk ļaus bez grūtībām kameru uzlabot vai nomainīt. Izmantota IDS kamera, kuras ražotāji ir izveidojuši vienotu vadības interfeisu, kas ļauj izmantot vienu un to pašu programmas kodu jebkuras IDS kameras vadībai. Tādējādi nākotnē pastāv iespēja izvēlēties labāku kameru no plaša izvēles loka un bez koda izmaiņām sākt to lietot. Citu kameru izmantošana ir arī atvieglota salīdzinājumā ar tiešu kameras datu lasīšanu. Linux sistēmas lielās popularitātes dēļ

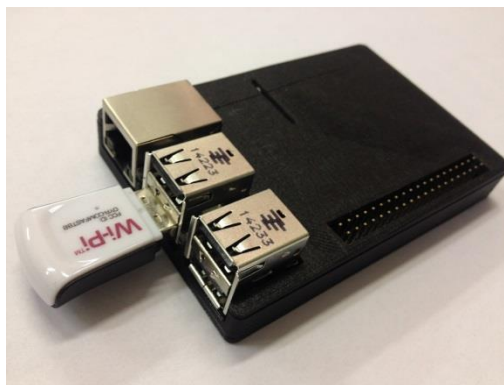
ievērojamai daļai no pieejamām kamerām eksistē draiveri Linux videi. Līdz ar to var pilnībā nomainīt sistēmas kameru, instalējot jaunu draiveri. Tā kā kameru datu iegūšanas principi parasti ir līdzīgi, tad pieskaņot programmu citas kameras izmantošanai nebūs grūti.



Att. 3.6. IDS uEye kamera ar USB interfeisu.

3.1.4 Bezvadu pārraides modulis

Lai maketierīces lietotāji nebūtu atkarīgi no viedtālruna un klēpjatora tipa, izvēlējamies izmantot bezvadu datu pārraidi. Tādējādi faktiski jebkurš mūsdienu viedtālrunis un klēpjators spēj strādāt ar maketierīci. Bezvadu sakaru izmantošana ļauj arī atvieglot iekārtas testēšanu, jo tā nav saistīta ar īpašu kabeļu pieslēgšanu.



Att. 3.7. Raspberry Pi vadības mezgls ar Wi-Fi bezvadu sakaru moduli.

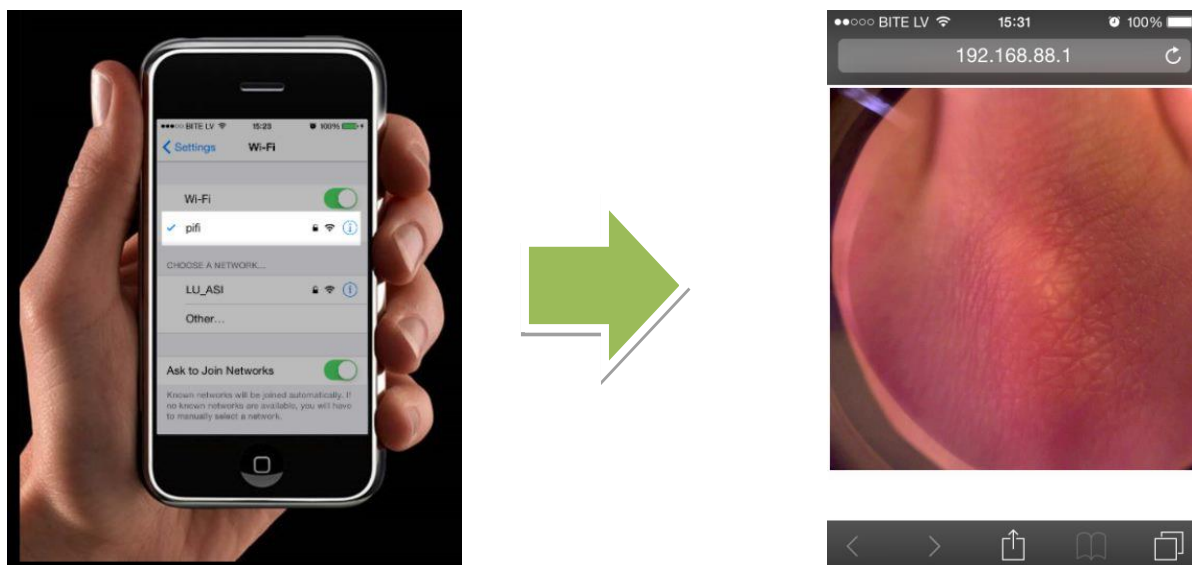
Pārskata perioda laikā ir pārbaudīta datu pārraide ar Wi-Fi moduļa palīdzību (USB Wi-Fi modulis redzams Att. 3.7); nākotnē ir ieplānots notestēt arī Bluetooth moduli.

3.1.5 Vadības mezgls

Vadības mezgla izvēle tika aprakstīta jau iepriekš, un jāatzīmē, ka visus iepriekš aprakstītos moduļus var ātri un ērti saslēgt, lai izveidojot kopīgu sistēmu. Šobrīd tiek lietots Raspberry Pi pirmās paaudzes B+ modelis (sk. Att. 3.7). Tā izvēle ir pamatota ar iespēju atvieglot izstrādi, izmantojot visus pieejamos četrus USB portus. Nākotnē ir plānots lietot A+ modeli, lai samazinātu iekārtas kopējos izmērus.

Vadības mezgls realizē šādas funkcijas:

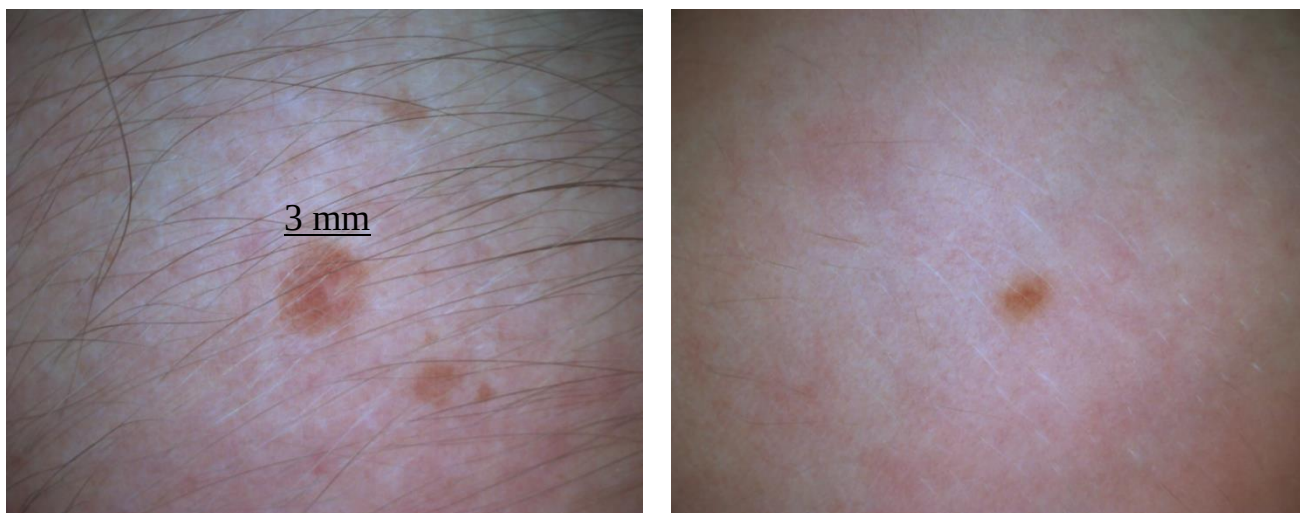
- 1) video datu plūsmas saņemšanu no IDS kameras;
- 2) MJPEG video plūsmas kodēšanu pārsūtāmā datu apjoma samazināšanai;
- 3) WEB servera funkcijas video plūsmas straumēšanai;
- 4) WiFi piekļuves punkta funkcijas;
- 5) Ieeju un izeju vadību, lai reaģētu uz lietotāja nospiesto pogu un ieslēgtu atbilstošo gaismas avotu.



Att. 3.8. Darba uzsākšana ar InBiT maketierīci.

Lai uzsāktu darbu ar maketierīci, lietotājam ir jāizdara tikai divi soļi: jāpieslēdzas ierīces WiFi tīklam (att.3.8 pa kreisi) un jāatver sev tīkamo pārlūkprogrammu ar iepriekšdefinēto adresi (att. 3.8 pa labi). Pašlaik ir realizētas tikai attēlu iegūšanas funkcijas, to apstrādei nepieciešamā programmatūra tiks izstrādāta turpmākajos periodos. Attēlu analīzes princips būs atkarīgs no lietotāja iekārtas tipa: klēpj datorā tiks palaista Matlab programma, kura apstrādās iegūtos attēlus, kuri atrodas maketierīces FTP serverī; gadījumā, ja lietotājs izmanto viedtālruni, tad attēli tiks apstrādāti, izmantojot attālinātu serveri ar Matlab programmu, un lietotājs atpakaļ saņems gatavus rezultātus.

Zemāk att.3.9 var redzēt ar maketierīces palīdzību iegūtu attēlu piemērus.



Att. 3.9. Ar maketierīces palīdzību iegūti ādas veidojumu attēli.

Sazinoties ar ārstu-dermatologu secinājām, ka bilžu izšķirtspēja nav pietiekama. Turpmāk tiks veikta kameru un lēcu parametru analīze, lai izveidotu sistēmu ar pietiekamo izšķirtspēju. Par kvalitātes kritēriju tika izvēlēta kameras spēja attēlot sīkos ādas veidojumus. Sākotnēji orientējamies uz pikseļa izmēru 10 μm , kas pēc ārsta-dermatologa pieredzes ir pietiekams.

4 Patenta pieteikuma gatavošana par iekārtu ādas veidojumu atšķiršanai

Pārskata periodā tika sagatavots plānotās publikācijas- patenta- pieteikums un iesniegts izskatīšanai Latvijas Republikas Patentu valdei. Pieteikumā piedāvāta iekārta, kas realizē ādas veidojuma attēlu iegūšanu un apstrādi iespējamās melanomas detektēšanai saskaņā ar projekta ietvaros izstrādāto metodi.

Salīdzinājumā ar tuvāko analogu, patentējamā iekārta nodrošina augstāku melanomas detektēšanas precizitāti, balstoties uz ādas veidojuma optiskā blīvuma attēlu iegūšanu vairākās spektra joslās, šo attēlu pikseļu statistisku parametru noteikšanu un salīdzināšanu ar sagatavošanas periodā aprēķinātām sliekšņu vērtībām, un melanomas detektēšanu, balstoties uz nosvarotā vairākuma principu, izmantojot dažādus svāra koeficientus dažādiem statistiskajiem parametriem

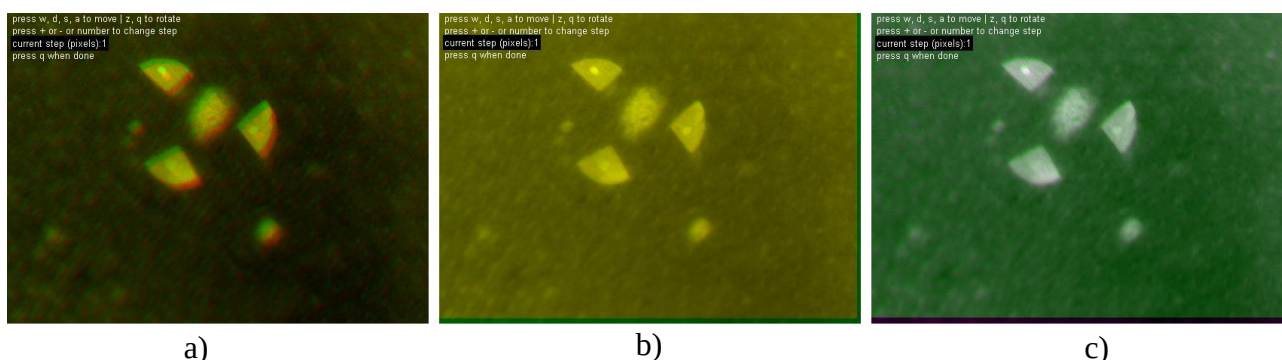
Patenta pieteikuma materiāli pievienoti Pielikumā Nr.1.

5 Ādas veidojumu reģistrācijas metožu pārbaude un uzlabošana

Iepriekšējos pārskata periodos tika īstenotas trīs automātiskas multispektrālo attēlu reģistrēšanas metodes. Tika modificētas literatūrā sastopamas apgabalu bīdīšanas un salīdzināšanas, kā arī raksturīgo punktu atrašanas, aprakstīšanas un salīdzināšanas metodes. Papildus tika izveidota arī jauna, uz lokālo ekstrēmu atrašanu un salīdzināšanu balstīta metode, kas neietver punktu aprakstīšanas soli. Šajā pārskata periodā īstenotās metodes tika salīdzinātas testos ar projektā iegūtajiem multispektrālajiem ādas attēliem.

5.1 Testa attēlu sagatavošana

Lai varētu skaitliski novērtēt reģistrācijas metožu precizitāti, testa attēlus nepieciešams reģistrēt manuāli, pierakstot starp šiem attēliem atrastās reģistrācijas transformācijas parametrus (piemēram, nobīdi pikseļos pa X un Y asi). Jau 3. pārskata periodā tika izveidota programma, kas ļauj veikt manuālu divu attēlu reģistrāciju. Programma izvada vienu virs otra uzzīmētus puscaurspīdīgus attēlus (att. 5.1a viena josla ir zaļa, otra - sarkana) un ļauj lietotājam pa soļiem bīdīt un rotēt vienu no šiem attēliem. Ar tastatūras komandu lietotājs pārtrauc attēlu bīdīšanu, kad viņu apmierina uz ekrāna izvadītā attēlu savstarpējā nobīde (att. 5.1b).



Att. 5.1. Manuāla attēlu reģistrācija: a) blakus joslu uzklāšana vienai uz otras; b) blakus joslu salīdzinājums pēc manuālas bīdīšanas; c) jau transformētās joslas salīdzinājums ar pirmo joslu.

Ērtai multispektrālā attēla joslu reģistrācijai tika izveidota programma, kas sāk manuālas reģistrēšanas procesu ar 450 nm un 460 nm attēliem. Kad lietotājs ir sabīdījis šos attēlus, programma izvada nākamo attēlu pāri, kas ir jau transformētais 460nm attēls un pēc viļņa garuma nākamais reģistrējams attēls. Pēc 460 nm un 470 nm attēlu reģistrācijas, programma izvada arī bildi, kurā transformētais 470 nm attēls tiek uzklāts virsū pirmajam (450nm) attēlam (att. 5.1.c). Šāda salīdzināšana ar pirmo joslu notiek visu turpmāko joslu reģistrēšanā. Tādējādi lietotājs var pamanīt un novērtēt reģistrācijas kļūdu uzkrāšanos, kad mazas neprecizitātes secīgu attēlu reģistrācijā var summēties par būtiskām nobīdēm starp, piemēram, 450 nm un 900 nm attēliem. Manuāli reģistrēt visas joslas pret pirmo izrādījās nederīgs risinājums, jo savstarpēji tālas joslas vizuāli būtiski atšķiras un ir grūti precīzi reģistrējamas pat manuāli. Tomēr, lielākas reģistrācijas kļūdas var pamanīt arī starp spektrā tālām joslām.

Testiem tika manuāli reģistrēti 60 projekta laikā uzņemti multispektrālie ādas attēli. Katrs attēls satur 51 spektra joslas, katras joslas dati ir 1392x1024 pikseļus liels 2D attēls. Tātad kopumā manuāli tika veiktas 3000 joslu reģistrācijas. Manuālās reģistrācijas posmā noderīgi izrādījās attēlu iegūšanas laikā uz ādas izvietotie marķieri, kādi novērojami attēlā 5.1, jo šie marķieri nemaina savu formu vai izmēru dažādās spektra joslās. Papildus tika secināts, ka vienīgā nepieciešamā

transformācija, lai reģistrētu projekta laikā iegūtos ādas attēlus, ir nobīde. Tas nozīmē, ka izveidotais, pret skaitļošanas jaudām efektīvais, uz lokālo ekstrēmu salīdzināšanu balstītais reģistrācijas algoritms ir potenciāli derīgs projektā izstrādājama multispektrālo attēlu iegūšanas un apstrādes iekārtai.

5.2 Reģistrācijas metožu salīdzināšana

Testa dati tika reģistrēti ar pieciem dažādiem reģistrācijas algoritmiem. Manuālās reģistrācijas rezultāts tika izmantots, lai noteiktu, cik liela daļa no automātiski reģistrētajām multispektrālo attēlu joslām ir reģistrētas veiksmīgi. Manuālo reģistrāciju nebija iespējas veikt ar pikseļa precizitāti, tādēļ, lai automātiski iegūtie transformācijas koeficienti tiktu atzīti par veiksmīgiem, tika pieļauta to atšķirība no manuāli iegūtajiem par 10 pikseļiem. Metožu salīdzinājums parādīts tabulā 5.1.

Tabula 5.1

Metode			Veiksmīgi reģistrēti attēli
1.	<i>Uz apgabaliem</i>	Apgabalu bīdīšana	80.0%
2.	<i>balstītas metodes</i>	Apgabalu bīdīšana ar zīmes maiņas kritēriju	58.1%
3.	<i>Uz raksturīgiem</i>	SURF deskriptoru lietošana	74.7%
4.	<i>punktiem balstītas</i>	ORB deskriptoru lietošana	64.9%
5.	<i>metodes</i>	Lokālo ekstrēmu salīdzināšanas metode	84.5%

Pirmajā apgabalu bīdīšanas metodē tika izmantoti 20 apgabali ar izmēru $w \times h$ pikseļi. Reģistrējamā attēla I_{sens} apgabala pikseļi ar koordinātēm (i, j) tiek salīdzināti ar atskaites attēla I_{ref} pikseļiem iegūstot līdzības parametru:

$$c = \sum_{i=0}^w \sum_{j=0}^h |I_{sens}(i, j) - I_{ref}(i, j)|,$$

Testos izmantotais apgabalu izmērs ir 50×50 pikseļi. Katrs apgabals, slīdot uz aizvien mazāka c pusi, atrod kādu lokālu c minimumu, un, par globālu minimumu tiek pieņemts starp 20 apgabaliem biežāk atrastais lokālais minimums.

Šajā pārskata periodā īstenotā otrā metode no pirmās atšķiras tikai ar apgabalu līdzības kritēriju. Šeit arī tiek iegūta atbilstošo atskaites attēla pikseļu un bīdāmā apgabala pikseļu starpība. Iegūtajā starpību apgabalā tiek analizētas starpību vērtību zīmes (vai iegūtās starpības ir pozitīvas vai negatīvas). Sākot no starpību apgabala (att. 5.2) kreisā augšējā stūra un secīgi kustoties pa kolonnām un rindām, tiek noteikts zīmes izmaiņas biežums. Parādītajā piemērā tiek izskaitītas 10 zīmes maiņas. Ja bīdāmajā apgabalā ir lieli no atskaites attēla atšķirīgi laukumi, šajos laukumos ir liela iespējamība, ka starpību zīme nemainīsies. Savukārt, ja bīdāmais apgabals ir līdzīgs atskaites attēlam, to pikseļu starpības ir tuvas nullei, bet var bieži atšķirties no nulles trokšņa un nelielu salīdzināmo attēlu atšķirību dēļ. Tādēļ, jo biežāk izmainās zīme, jo par līdzīgākiem tiek uzskatīti bīdāmais apgabals un attiecīgais atskaites attēla apgabals. Šajā metodē meklētā nobīde starp reģistrējamo un atskaites attēlu atrodas pie maksimālās zīmes maiņas skaita vērtības.

+	+	¹ -	-	-	-
-	-	² +	+	+	+
³ -	⁴ +	+	+	⁵ -	⁶ +
⁷ -	-	-	-	⁸ +	+
⁹ -	-	-	-	-	¹⁰ +

Att. 5.2. Zīmes maiņas biežuma noteikšana reģistrējamā un atskaites attēlu starpības apgabalā.

Trešā un ceturtā metode tabulā 5.1 balstās uz raksturīgo punktu atrašanu un aprakstīšanu ar dažādiem deskriptoriem – šajā gadījumā ar SURF un ORB. Iepriekš veidotā lokālo ekstrēmu atrašanas un salīdzināšanas metode arī pieskaitāma pie reģistrācijas metodēm, kas balstās uz raksturīgo punktu atrašanu. Šajā metodē atrasto punktu apkārtnē gan netiek aprakstīti deskriptoru veidā.

Reģistrējot multispektrālā attēla joslas, pirmā (josla ar īsāko viļņa garumu) tiek uzskatīta par atskaites joslu reģistrējot nākamo joslu. Uz apgabaliem balstītajās reģistrācijas metodēs, par atskaites joslu katrai joslai numur n tiek izmantota jau reģistrētā josla $n-1$, kā arī, kur iespējams, josla numur $n-3$. Šāda pati pieeja ar diviem atskaites attēliem tiek izmantota arī uz lokālo ekstrēmu salīdzināšanu balstītajā metodē. SURF un ORB metožu gadījumā, kā atskaites punkti konkrētajai reģistrējamai joslai tiek saglabāti raksturīgie punkti no trīs iepriekšējām jau reģistrētajām joslām.

Lai gan uz deskriptoriem balstītās metodes ļauj iegūt sarežģītākas transformācijas matricas nekā testētās apgabalu un lokālo ekstrēmu metodes, šī īpašība izrādījās lieka konkrēto attēlu reģistrācijā. Labākos rezultātus testos uzrādīja lokālo ekstrēmu metode. Ņemot arī vērā metodes efektivitāti skaitļošanas resursu ziņā, tā no testētajām reģistrācijas metodēm ir perspektīvākā veidojamai ādas attēlu iegūšanas iekārtai.

No testiem arī secināms, ka joprojām ne visi attēli tiek pareizi reģistrēti. Galvenie kļūdu iemesli ir izplūduši attēli, kas var rasties pacientu kustību dēļ attēlu uzņemšanas laikā. Izplūduši attēli būtiski atšķiras no asiem attēliem gan apgabalu metodēm, gan raksturīgo punktu metodēm.

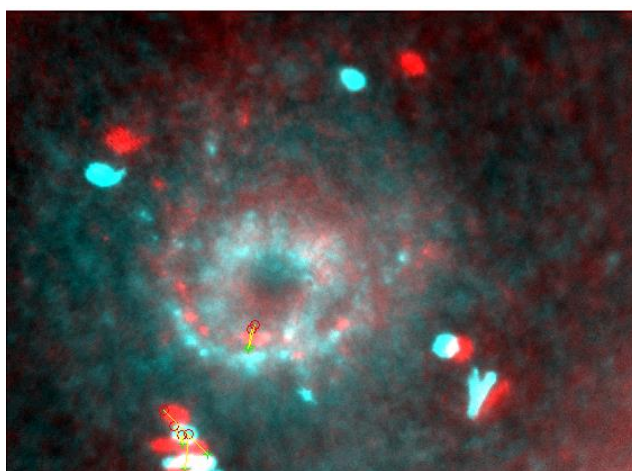
6 Sasitumu attēlu reģistrācija

Iepriekšējās nodaļās reģistrācijas algoritmi tika testēti pārsvarā uz tādiem ādas attēliem, kuros interesējošais objekts ir dzimumzīme. Projektā tika iegūti arī multispektrālie sasitumu attēli, kurus jāreģistrē pirms turpmākas analīzes. Multispektrālā sasitumu attēla joslu reģistrācija maz atšķiras no ādas veidojuma joslu reģistrācijas, jo lielā attēla daļā ir redzama āda, kas ir veiksmīgs fons uz lokālo ekstrēmu balstītai reģistrācijas metodei. Tādēļ, katra multispektrālā sasitumu attēla joslas tika reģistrētas ar jau iepriekš izveidoto metodi. Sasitumu attēlu gadījumā gan ir papildus reģistrācijas uzdevums, kāds nebija ādas veidojumu attēliem. Viens un tas pats sasitums ir ticis bildēts dažādos laika brīžos, un, turpmākai apstrādei ir nepieciešams savā starpā reģistrēt arī dažādos laikos uzņemtos multispektrālos attēlus.

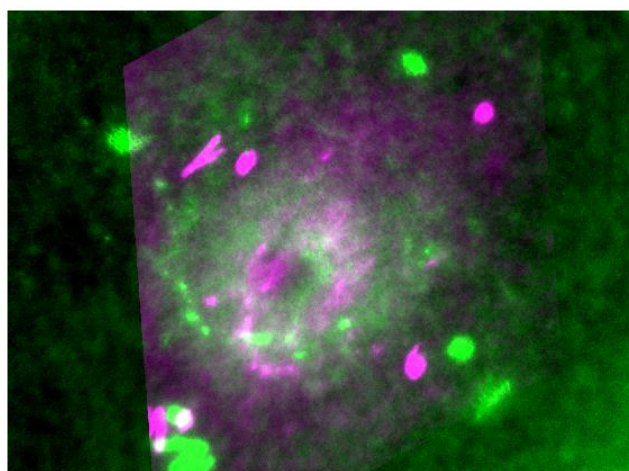
Dažādos laikos uzņemtie attēli var būt ne tikai nobīdījušies viens pret otru, bet var atšķirties arī pēc rotācijas leņķa, vai pat pēc pilnīgas projekcijas transformācijas. Tas liedz izmantot apgabalu bīdīšanas vai lokālo ekstrēmu salīdzināšanas metodes, kas tika apskatītas iepriekšējā nodaļā. Tādēļ, šim uzdevumam apskatītas raksturīgo punktu aprakstīšanas un salīdzināšanas metodes.

Tā kā katra multispektrālā attēla joslas jau ir reģistrētas savā starpā, tad, lai reģistrētu savā starpā dažādus multispektrālos attēlus, pietiek reģistrēt kādu no reģistrējamā attēla joslām pret kādu no atskaites attēla joslām. Attēlā 6.1a tiek salīdzināta 460nm josla no attēla, kas uzņemts 26 minūtes pēc sasituma izveidošanās ar 460nm joslu no attēla, kas uzņemts 14 stundas un 30 minūtes pēc sasituma izveidošanās. Reģistrācijai tiek izmantota SURF raksturīgo punktu metode – atrodot vismaz četrus atbilstošus punktus starp reģistrējamiem attēliem, iespējams noteikt pilnu projekcijas transformāciju starp tiem. Lai palielinātu atrasto raksturīgo punktu skaitu, pirms SURF pielietošanas attēliem tiek palielināts kontrasts.

Att. 6.1a gadījumā starp attēliem ir atrasti maz atbilstošie punkti, kuri attēloti kā ar līniju savienoti sarkani riņķi un zaļi krustiņi. Atrastais skaits nav pietiekams, jo ne visas atbilstības ir atrastas pareizi – daži savienotie raksturīgie punkti liecina par transformāciju, kas ir pretrunīga citiem savienotajiem punktiem. Neveiksmīgais reģistrācijas rezultāts, kad reģistrējamai joslai tiek pielietota no savienotajiem punktiem atrastā transformācija, parādīts attēlā 6.1b.



a)

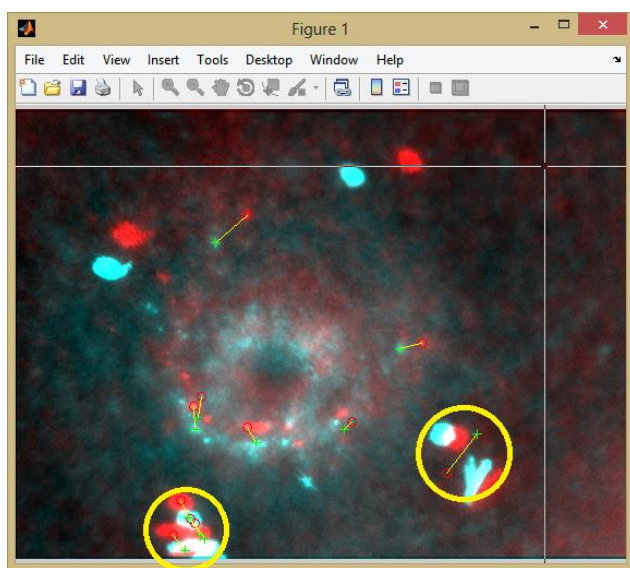


b)

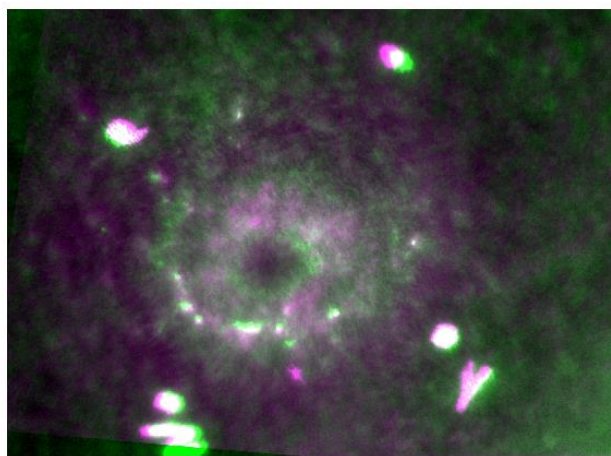
Att. 6.1. Dažādos laikos uzņemtu multispektrālo attēlu reģistrācija: a) atbilstošo raksturīgo punktu atrašana starp attēlu joslām; b) atrastās transformācijas pielietošana reģistrējamai joslai.

Lai uzlabotu reģistrācijas rezultātu, tika mēģināts salīdzināt dažādas multispektrālo attēlu joslas. Kā parādīts attēlā 6.2a, starp abu attēlu 520 nm joslām tiek atrastas vairākas raksturīgo punktu atbilstības. Dažādu multispektrālo attēlu reģistrācijā veiksmīgas izrādās dažādas spektra joslas, tādēļ šobrīd attēlu reģistrācija notiek manuāli, lietotājam izvēloties joslas un vizuāli novērtējot, vai izmantojot konkrētās joslas, ir tikuši atrasti pietiekami daudzi savā starpā nepretrunīgi atbilstošie punkti. Attēlā 6.2a atbilstošo punktu tāpat ir maz, ņemot vērā, ka ne visi punkti norāda uz vienu un to pašu transformāciju. Piemēram, attēla labajā apakšējā stūrī ar dzelteni apli apvilktie atbilstošie punkti ir pretrunīgi lielākajai daļai attēla vidus daļā atrastajiem punktiem.

Transformācijas noteikšanai tiek izmantota Matlab iestrādātā RANSAC (*Random sample consensus*) metode, kas ir spējīga noteikt un neņemt vērā vairākumam neatbilstošus punktus. Tomēr arī šīs metodes veiksmīgai izmantošanai aplūkojamā piemērā ir pārāk maz savstarpēji sakrītošu atbilstošo punktu. Tādēļ Matlab vidē tika izveidota programma, kas ļauj lietotājam ar kursoru dzēst acīmredzami neiederīgus punktus, pirms palikušie punkti tiek padoti uz RANSAC metodi. Attēlā 6.2a tika dzēsti ar dzelteni apli apvilktie atbilstošie punkti. Kreisajā apakšējā daļā atrastie punkti dzēsti, jo būtiski ir precīzi reģistrēt sasituma apgabalu attēlā. Dažādos laikos uzņemtajos attēlos iespējamās lokālas vai nelineāras transformācijas. Starp apakšējās daļas punktiem, kas atrasti starp uz ādas atzīmētiem marķieriem, transformācija var būt no attēla vidus daļas nedaudz atšķirīga. Šīs lokālās transformācijas atšķirības var ietekmēt kopējo atrasto attēla transformāciju, tādēļ konkrētajā gadījumā apakšējie punkti tika dzēsti. Reģistrācijas rezultāts, kas iegūts, atstājot attēla vidusdaļas atbilstošos punktus, parādīts attēlā 6.2b.



a)



b)

Att. 6.2. Sasitumu attēlu daļēji manuāla reģistrēšana: a) lieko atbilstošo punktu dzēšana; b) reģistrācijas rezultāts.

7 Ādas mitruma noteikšanas metodes izstrāde

Šajā pārskata periodā tika izveidots eksperimentālais stends ādas mitruma noteikšanas izpētei punkta mērījumos, izmantojot tuvā infrasarkanā spektra diapazona spektrometru un halogēna lampu. Tika izveidots otrs eksperimentālais stends ādas mitruma noteikšanai ar attēlošanu, izmantojot tuvā infrasarkanā spektra diapazona kameru, halogēna lampu un interferences filtrus. Pārskata periodā tika izstrādāta metode iegūto datu analīzei un ādas mitruma noteikšanai. Tika veikti mērījumi ādas mitruma izmaiņu noteikšanai pēc mitrinoša krēma uzklāšanas dažādiem cilvēkiem, kā arī novērtēta krēma iedarbība laikā – gan pirmajās minūtēs pēc krēma uzklāšanas, gan vairākas stundas pēc tā uzklāšanas. Šajā pārskata periodā tika iegūta arī padziļināta izpratne par ādas mitrumu un krēmu iedarbību cilvēka ādā.

Eksperimentālā stenda sastāvā izmantots LU ASI rīcībā esošais spektrometrs NirQuest 512 (firmas Ocean Optics ražojums), kas darbojas diapazonā no 900 nm līdz 1700 nm. Projekta ietvaros pētītas ādas mitruma noteikšanas iespējas uz šīs aparatūras bāzes, jo aparatūra mērījumiem 1920 nm diapazonā, kurā ūdens absorbcija novērojama vislabāk, ir daudz dārgāka un projekta dalībniekiem nav pieejama.

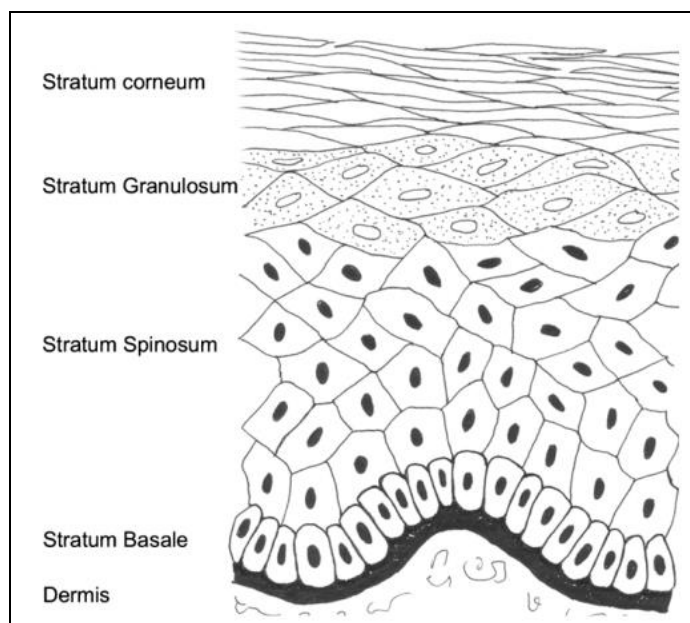
Iegūtie rezultāti tika prezentēti stenda referāta formā konferencē „Photonics West 2015”, kas norisinājās laikā no 7.-12. februārim Sanfrancisko, ASV (skat. Pielikumu Nr.2).

7.1 Ādas mitrums un mitrinošo krēmu iedarbība. Literatūras izpēte

Āda ir cilvēka ķermeņa lielākais orgāns, un tai piemīt daudzas svarīgas funkcijas, lai ķermeni pasargātu. Viena no šīm funkcijām ir pasargāšana no ūdens zuduma. Āda sastāv no diviem galvenajiem strukturālajiem slāņiem: epidermas un dermas. Epiderma sastāv no 5 apakšslāņiem (skatīt 7.1. attēlu), no kuriem ārējais raga slānis (*stratum corneum*) ir galvenā barjera, kas pasargā ķermeni no dehidratācijas, kā arī no dažādu molekulu (kairinātāju) iekļūšanas ādā. *Stratum lucidum* ir apakšslānis, kas atrodas starp *stratum corneum* (SC) un *stratum granulosum*, bet kas atrodams tikai ļoti biezā epidermā, piemēram, tādā, kas ir uz papēžiem [1].

Ādai ir savs dabiskais mitrināšanas mehānisms. *Stratum granulosum* (SG) ir otrs ārējais epidermas apakšslānis, un tajā notiek galvenās SC barjeras veidošanās transformācijas: SG apakšslānī keratinocīti tiek pārveidoti par korneocītiem, kas ir galvenā SC sastāvdaļa. Šajā procesā atbrīvojas dabiskie ķermeņa lipīdi, kas savukārt ir galvenā barjera, kas neļauj ūdenim tikt ārā no SC. Lielākoties SC sastāv no 12 līdz 16 šūnu slāņiem, bet šis slāņu skaits mainās no apmēram 9 slāņiem acu plakstiņos līdz vairāk kā 50 slāņiem papēžos [1].

Ir trīs galvenie mehānismi, kā iedarbojas ādas mitrinošie krēmi, lai palīdzētu ādai, kad tās dabiskā barjera ir sakairināta un nespēj pilnībā izpildīt savu funkciju: mitrinātāji (glicerīns, urīnviela, lecitīns, propilēnglikols u.c.) piesaista ūdeni no dermas un piesaista SC; okluzīvie aģenti (cinka oksīds, u.c.) dod fizisku barjeru, lai samazinātu ūdens zudumus; mīkstinošie līdzekļi (lanolīns, minerālā eļļa, u.c.) saglabā mitrumu un piešķir gludu ādas virsmu [2,3].



Att. 7.1. Epidermas pieci apakšslāņi [1].

7.2 Tuvā infrasarkanā spektra diapazona difūzi atstarotās gaismas spektroskopijas izmantošana ādas mitruma noteikšanā. Literatūras izpēte

Tuvā infrasarkanā spektra diapazona starojums iespiežas dziļāk ādas slāņos nekā redzamā gaisma. Spektra diapazonā no 900 līdz 1700 nm gaisma iespiežas 1 mm līdz pat 3 mm dziļi [4]. Tāpēc difūzi atstarotais starojums dod informāciju arī par dziļākiem ādas slāņiem, ne tikai epidermu, turklāt iespiešanās dziļums ir atkarīgs arī no ūdens daudzuma ādā.

Tika veikta literatūras izpēte par tuvā infrasarkanā spektra diapazona difūzi atstarotās gaismas spektroskopijas pielietojumiem ādas mitruma noteikšanā. Informācija par šādiem pētījumiem atrodama, sākot no 20. gadsimta 90. gadiem. 1993. gadā K.A.Martins ieteica šo metodi, lai kvantitatīvi noteiktu ūdens daudzumu un atšķirtu brīvu un saistītu ūdeni, kā arī papildus noteica ādas gluduma pakāpi, izmantojot izkliedi no ādas virsmas [5].

2005. gadā E.-J.Suh prezentēja eksperimenta rezultātus, kuros tika noteikts *in vitro* ādas mitrums bezspalvu pelēm, kā arī *in vivo* ādas mitrums cilvēka rokas ādai, izmantojot Furjē transformācijas tuvā infrasarkanā spektra diapazona spektrometru. Šie rezultāti tika salīdzināti ar rezultātiem, kuri tika iegūti ar tradicionālu metodi, nosakot ādas pretestību (vai kapacitāti) [6].

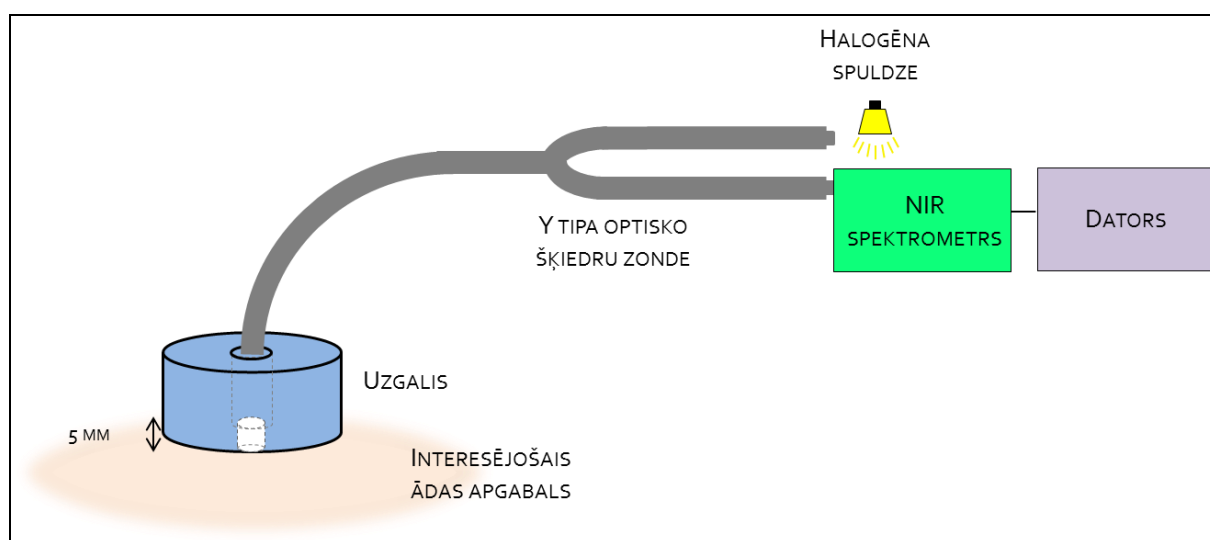
2006. gadā H. Ivasaki iepazīstināja ar tuvā infrasarkanā spektra apgabala attēlošanas sistēmu, kas sastāvēja no indija gallija arsenīda (*InGaAs*) detektora kameras, halogēna lampas un optiskajiem filtriem (1060 nm un 1450 nm), lai salīdzinātu normālu ādu ar ādu, kurai uzklāts mitrinošs krēms [7].

2011. gadā M. Egava iepazīstināja ar attēlošanas sistēmu, ar kuru iespējams izšķirt gan ūdens, gan lipīdu relatīvās koncentrācijas ādā, izmantojot ļoti jutīgu *InGaAs* detektora kameru spektra diapazonā no 1100 nm līdz 2200 nm. Tādējādi šai pētnieku grupai bija iespēja novērtēt absorbcijas izmaiņas pie 1920 nm, kur ūdens absorbcija ir daudzkārt reizu lielāka nekā absorbcijas izmaiņas pie

1450 nm un 1200 nm. Šī pētnieku grupa secina, ka pie šī viļņa garuma (1920 nm) ir iespējams detektēt pat ļoti mazas ūdens koncentrācijas izmaiņas ādā [8].

7.3 Mērījumi ar spektrometru un optisko šķiedru

Šajā mērījumu sērijā tika veikti punkta mērījumi, novērtējot no ādas virsmas difūzi atstarotā tuvā infrasarkanā starojuma spektru un tā izmaiņas laikā pēc mitrinoša krēma uzklāšanas. Šim nolūkam tika izveidots eksperimenta stends (7.2. attēls), kas sastāv no tuvā infrasarkanā spektra diapazona (NIR) spektrometra (Ocean Optics, NirQuest 512) ar jutību spektra diapazonā no 900 nm līdz 1700 nm, Y-tipa optisko šķiedru zonde, halogēna spuldze, kā arī ar trīsdimensionālo printeri izveidots īpaši šim nolūkam paredzēts uzgalis, kurā šķiedru zondes gals tiek novietots 5 mm attālumā no ādas virsmas, tādējādi izvairoties no zondes un virsmas saskaršanās un tajā pašā laikā vienmēr nodrošinot 5 mm attālumu starp virsmu un zondi.



7.2. attēls. Eksperimentālā stenda shēma mērījumiem ar spektrometru.

Tika veikti 3 veidu mērījumi: 1) mērījums sausas un mitras ādas salīdzināšanai; 2) mērījumu sērija, difūzi atstarotā starojuma spektru uzņemot ar dažu sekunžu intervālu pirmās 5 līdz 10 minūtes pēc krēma uzklāšanas, šajā laikā uzgali ar statīvu nostiprinot iespējami nekustīgi uz ādas virsmas; 3) mērījumu sērija, difūzi atstarotā starojuma spektru ar aptuveni 1 stundas intervālu uzņemot vairākas (līdz pat 8) stundas pēc krēma uzklāšanas.

Difūzi atstarotās gaismas intensitāte tika pārveidota absorbcijas vienībās, izmantojot formulu:

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

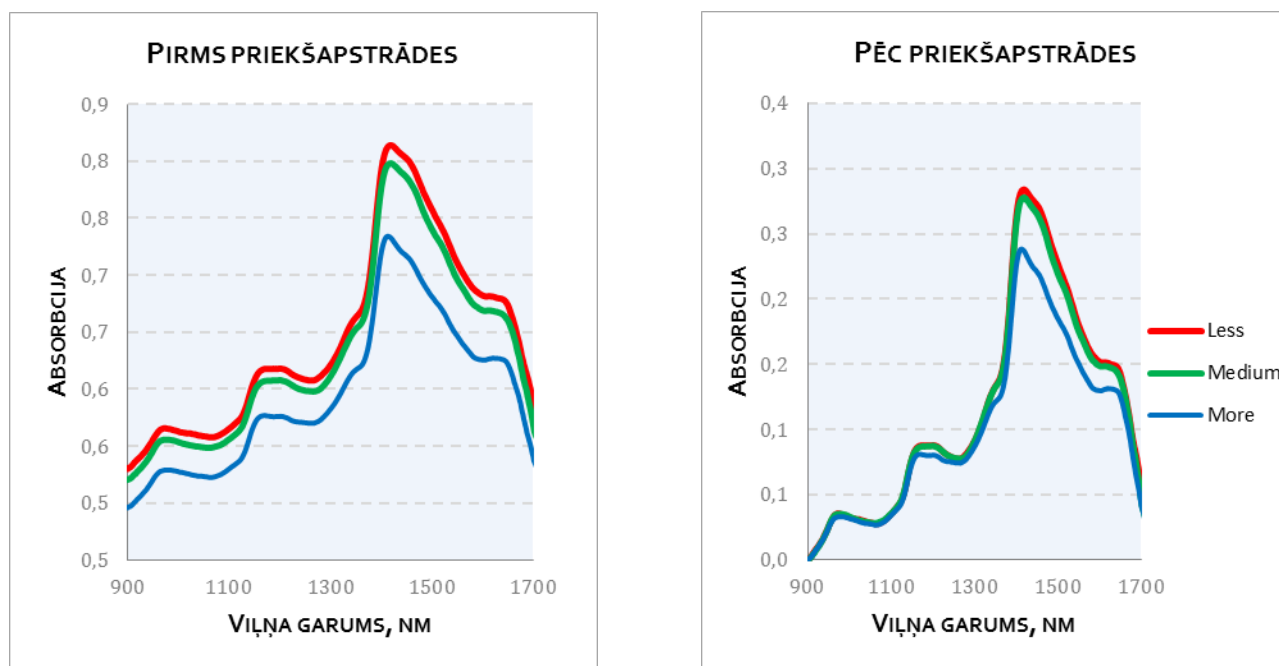
kur I_0 ir halogēna spuldzes atstarotās gaismas spektrs no Avantes WS-2 references atstarotāja, savukārt I ir difūzi atstarotais starojums no pētāmā objekta (šajā gadījumā ādas).

Tika ieviests absorbciju raksturojošs parametrs, kas norāda uz absorbcijas atšķirību starp diviem dažādiem viļņa garumiem, piemēram, 1420 nm un 1300 nm:

$$A_{1420-1300} = A_{1450} - A_{1300} = \log_{10} \frac{I_{1300}}{I_{1450}} ,$$

kur A_{1420} un A_{1300} ir absorbcijas vērtība pie attiecīgā viļņa garuma.

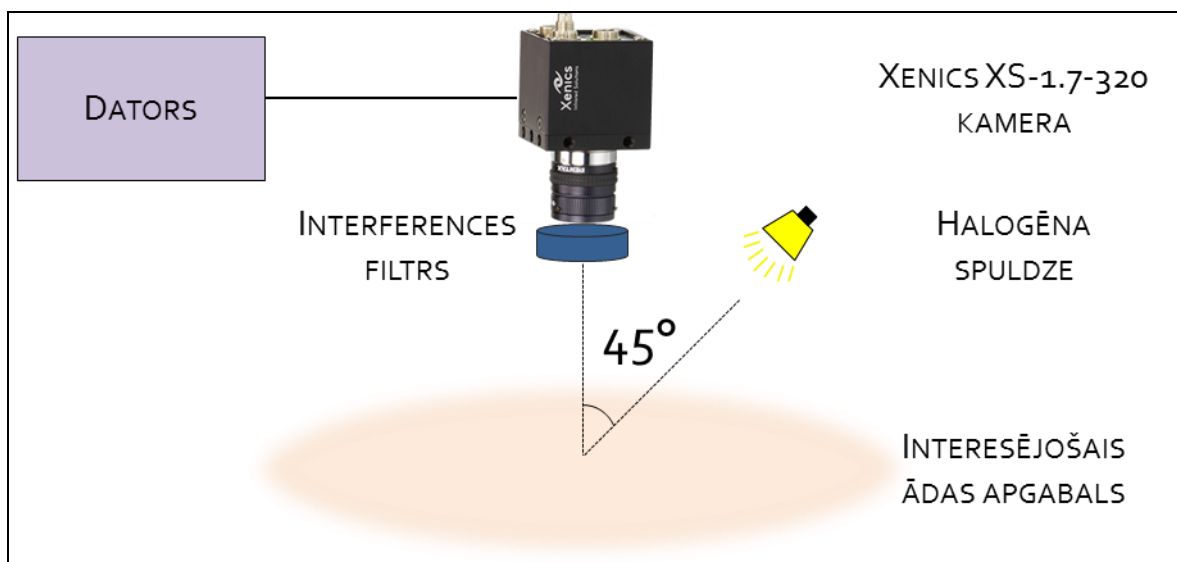
Mērījumu gaitā tika novērots, ka difūzi atstarotās gaismas spektrs ir ļoti jutīgs pat uz nelielām spiediena vai cita veida izmaiņām, kā tas redzams piemērā 7.3. attēlā (pa kreisi). Šī iemesla dēļ tika veikts sākotnējs testa mērījums, izmēģinot trīs dažādus spiedienus, ar kuriem uzgalis tiek piespiests ādas virsmai, lai pārliecinātos par to, kā tas ietekmē spektru. Šī iemesla dēļ arī tika veikta visu turpmāko mērījumu datu priekšapstrāde, visus absorbcijas spektrus normalizējot pret absorbcijas vērtību pie 900 nm (7.3. attēls pa labi). Kā redzams spektru salīdzinājumā pēc normalizēšanas, neliela un vidēja spiediena gadījumā absorbcijas spektri ir ļoti līdzīgi, savukārt gadījumā, kad uzgalis tiek ļoti spēcīgi piespiests ādas virsmai, absorbcijas spektrs ir atšķirīgs, un novērojama absorbcijas samazināšanās, jo īpaši pie 1450 nm viļņa garuma, kas varētu nozīmēt to, ka šajā gadījumā ādas virsējos slāņos esošais ūdens (tai skaitā asinis) tiek spiediena rezultātā izspiests no pētāmā apgabala, kā rezultātā šajā apgabalā ir mazāk ūdens un mazāka absorbcija šajā spektra diapazonā, kur lielā mērā kopējo absorbciju ietekmē tieši ūdens.



7.3. attēls. Absorbcijas spektru salīdzinājums pirms un pēc priekšapstrādes, kā arī absorbcijas spektra izmaiņas atkarībā no spiediena, ar kuru uzgalis tiek piespiests ādas virsmai (mazāk, vidēji, vairāk).

7.4 Mērījumi ar NIR kameru

Tika izveidots eksperimentālais stends attēlu iegūšanai tuvā infrasarkanā (NIR) spektra diapazonā (7.4. attēls), izmantojot kameru (Xenics XS-1.7-320), halogēna spuldzi, kā arī sešus interferences filtrus ar caurlaidību pie noteiktiem viļņa garumiem (980 nm, 1100 nm, 1200 nm, 1300 nm, 1450 nm un 1600 nm). Halogēna spuldzes novietojums tik izvēlēts tā, lai krītošie stari būtu apmēram 45° leņķī attiecībā pret interesējošo ādas apgabalu, tādējādi samazinot no ādas virsmas tūlītēji atstarotā starojuma nokļūšanu kamerā. Polarizatori šajā gadījumā netika izmantoti, jo šajā eksperimentālajā stendā tos bija grūti iekļaut, lai gan turpmākiem pētījumiem tos būtu vēlams izmantot, lai vēl vairāk samazinātu no ādas virsmas tūlītēji atstarotā starojuma ietekmi.

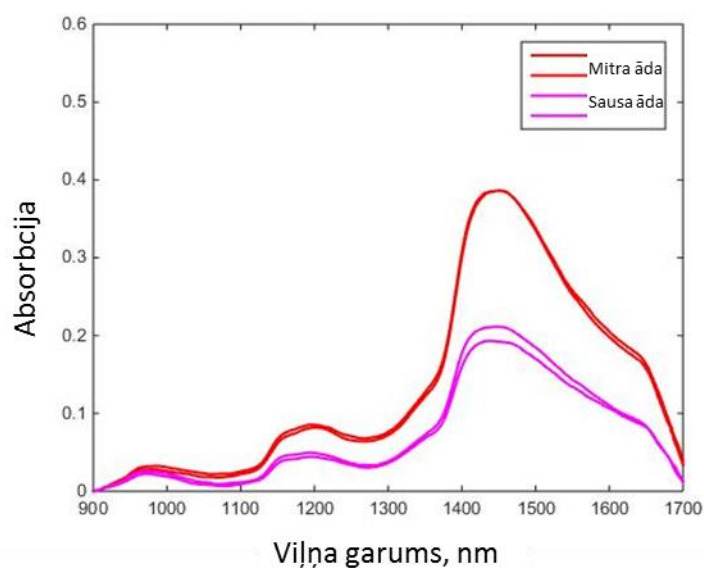


7.4. attēls. Eksperimentālā stenda shēma attēlu iegūšanai tuvajā infrasarkanajā spektra diapazonā.

7.5 Rezultāti

7.5.1 Mērījumi ar spektrometru

Sākotnēji tika uzņemti vairāki mērījumi dažādās ķermeņa vietās un dažādiem cilvēkiem, lai redzētu absorbcijas spektru atšķirības. Ādas absorbcijas spektru tuvajā infrasarkanajā spektra diapazonā (900 nm līdz 1700 nm) lielākoties ietekmē tieši ūdens absorbcija. Ūdens absorbcijas maksimumi (980 nm, 1200 nm un 1700 nm) ir izteikti redzami jebkurā cilvēka ādas spektrā, jo cilvēka ādā, jo sevišķi dziļākos slāņos (dermā, zemādas tauku slānī), ir daudz ūdens (dziļākos slāņos tas ir ap 70%). 7.5. attēlā redzams piemērs izteikti sausas un normālas (mitrinātas) ādas absorbcijas spektru salīdzinājumam. Sausa āda bija redzami sausa, ar raupju virsmu, savukārt mitrināta āda bija gluda un līdzena.

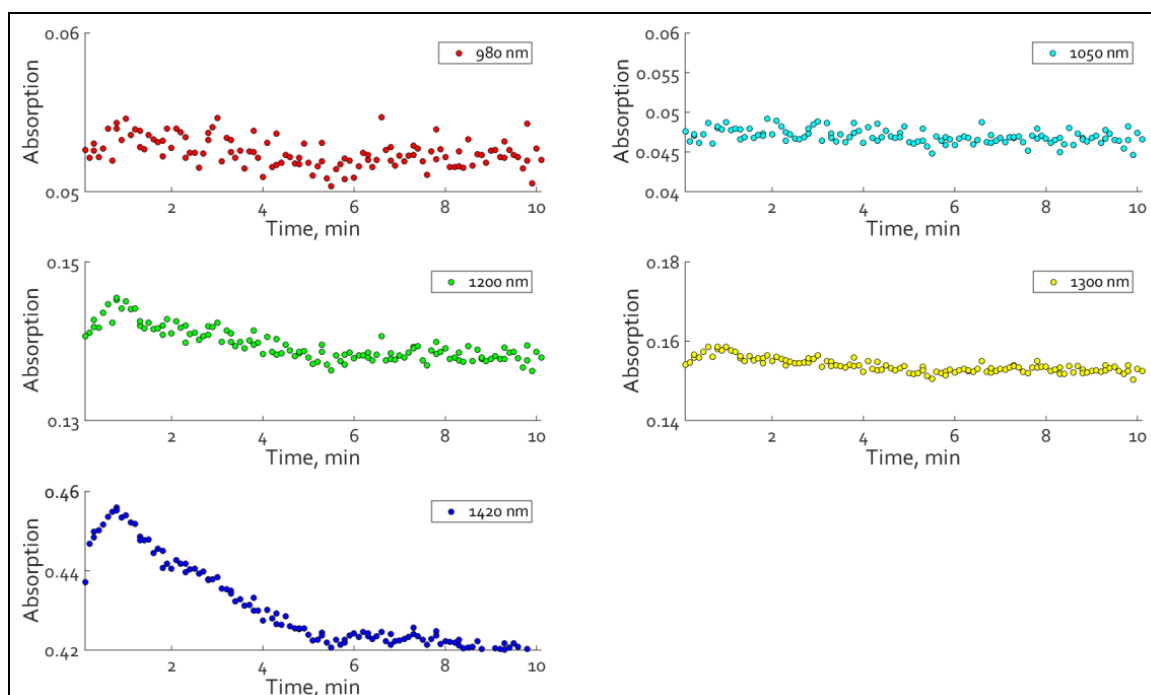


7.5. attēls. Mitras un sausas ādas absorbcijas spektru salīdzinājums

7.5.2 Krēmu iedarbība laikā

Tika veikti mērījumi ar spektrometru, uzņemot ādas absorbcijas spektru 10 minūtes, sākot no brīža, kad uz interesējošās ādas virsmas tiek uzklāts mitrinošs krēms, lai novērtētu krēma ietekmi. Viegļākai un uzskatāmākai datu interpretēšanai, pēc priekšapstrādes veikšanas tika aplūkota absorbcijas vērtības izmaiņa laikā pie noteiktiem viļņu garumiem: 980 nm, 1200 nm un 1420 nm, kas atbilst ūdens absorbcijas maksimumiem, kā arī pie 1050 nm un 1300 nm, kas atbilst absorbcijas minimumiem. Rezultāti vienam šādam mērījumam parādīti 7.6. attēlā.

Redzams, ka visizteiktākās absorbcijas izmaiņas laikā novērojamas pie 1200 nm un jo īpaši pie 1420 nm, kas arī bija sagaidāms, ņemot vērā, ka šie ir lielākie ūdens (un arī ādas) absorbcijas spektra maksimumi pētāmajā spektra diapazonā.



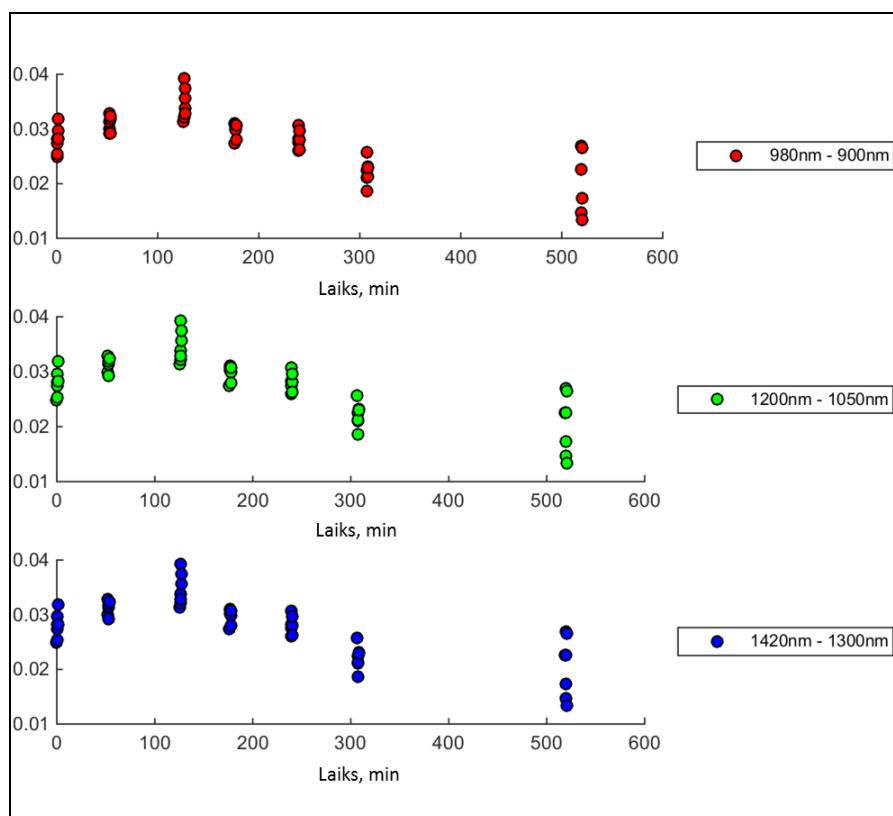
7.6. attēls. Absorbcijas izmaiņas pie dažādiem viļņa garumiem 10 minūšu laikā pēc krēma uzklāšanas.

Līdzīgi tika veikti mērījumi ar spektrometru ilgākā laika posmā (līdz 8 stundām), ik pa apmēram 1 stundai uzņemot ādas absorbcijas spektru pēc tam, kad uz ādas tika uzklāts mitrinošs krēms, lai novērtētu krēma iedarbību ilgākā laika periodā. Tika novērtēta krēma iedarbība vairākās ķermeņa vietās (seja, kakls, rokas, vēders, augšstilbi, apakšstilbi, pēdas, papēži). Šajā gadījumā tika laikā novērtēta absorbcijas parametra vērtība starp 2 dažādiem viļņu garumiem. Piemēri absorbcijas parametru izmaiņām laikā pēc krēma uzklāšanas uz apakšstilba un vēdera parādīti attiecīgi 7.7. un 7.8. attēlos.

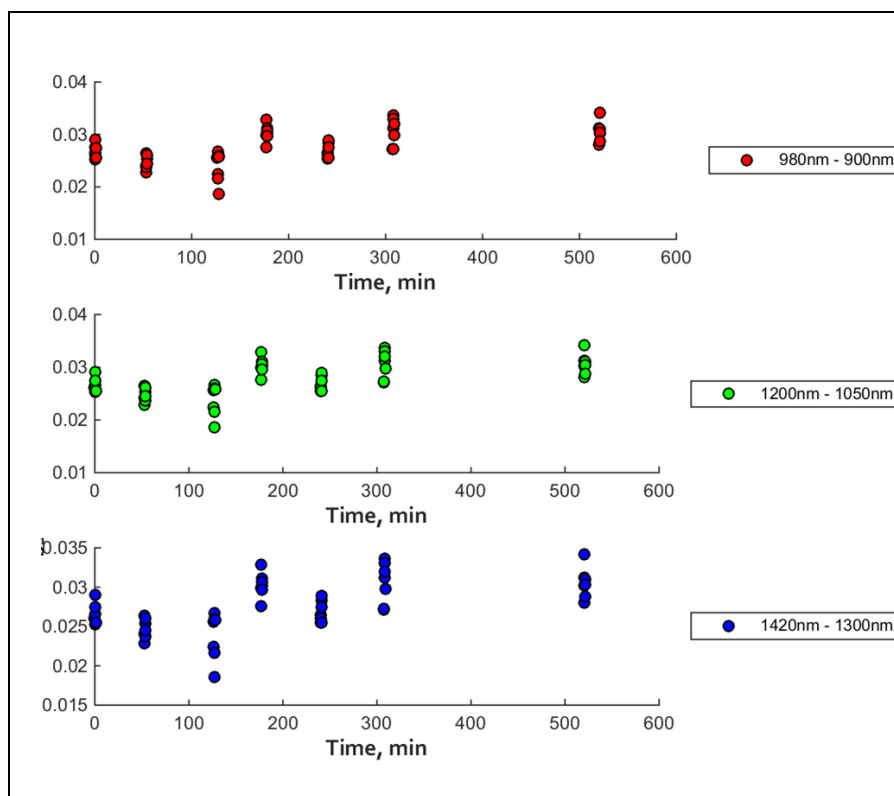
Šāda tipa mērījumos, kad absorbcijas spektrs tiek uzņemts ik pa apmēram stundai vairākas stundas pēc krēma uzklāšanas, ļoti būtiska nozīme ir tam, lai atkārtotos mērījumos šķiedru zondes uzgali novietotu iespējami precīzi vienā un tajā pašā vietā visu laiku. Šim nolūkam tika izmantoti marķieri uz ādas apla formā, iezīmējot vietu, kur novietot uzgali. Lai novērtētu mērījuma kļūdu, katrs atkārtotais mērījums tika uzņemts 7 reizes, katru no šīm reizēm uzgali noņemot nost un atkal uzliekot no jauna, lai novērtētu neprecizitāti, ar kādu atkārtots mērījums tiek uzņemts. Tādējādi

rezultātu grafikos pie katra laika momenta, kurā tika veikts atkārtotais mērījums, ir redzami vairāki punkti viens virs otra. Redzams, ka atkārtoto mērījumu punktu izkliede ir diezgan liela – dažos gadījumos pat pārāk liela, kas norāda uz to, ka mēriekārtas un izveidotais eksperimentālais stends ir ļoti jutīgi pret niecīgām spiediena, ar kādām zondes uzgalis tiek pielikts pie ādas virsmas, izmaiņām, pret izvēlēto mērāmā ādas laukuma nelielām izmaiņām utt.

Par spīti lielajai mērījumu punktu izklidei tomēr ir iespējams novērtēt krēma iedarbību ilgākā laika periodā. Apakšstilba mērījuma gadījumā redzams, ka ādas absorbcija pavisam nedaudz palielinās līdz apmēram 2 stundām, bet pēc tam nedaudz straujāk sāk kristies. Vēdera mērījuma gadījumā redzams, ka absorbcija samazinās līdz 2 stundām, bet pēc tam sāk palielināties, kas savukārt ir pilnīgi pretējs efekts. Visticamāk šīs atšķirības saistītas ar ķermeņa vietas izvēli.



7.7. attēls. Absorbcijas parametru izmaiņas laikā pēc krēma uzklāšanas uz apakšstilba.



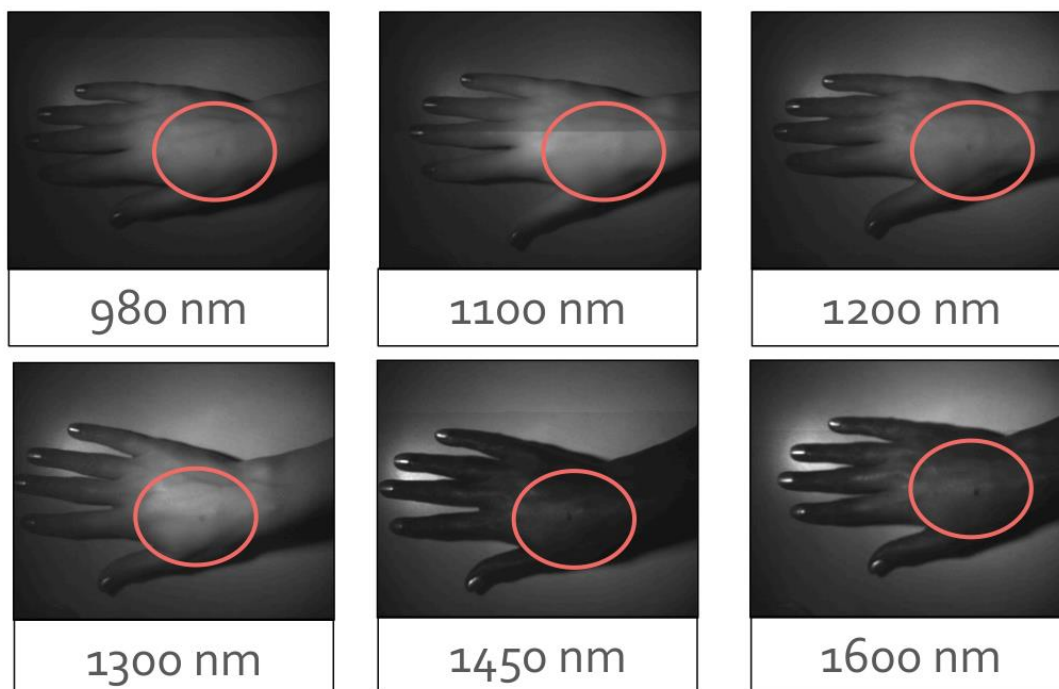
7.8. attēls. Absorbcijas parametru izmaiņas laikā pēc krēma uzklāšanas uz vēdera.

7.5.3 Mērījumi ar kameru

Tika uzņemti vairāki attēli, izmantojot tuvā infrasarkanā spektra diapazona kameru, kas uztver diapazonā no 900 nm līdz 1700 nm. Tika izmantoti interferences filtri, kas novietoti tieši priekšā kameras objektīvam, lai salīdzinātu attēlus pie dažādiem viļņa garumiem: 980 nm, 1100 nm, 1200 nm, 1300 nm, 1450 nm un 1600 nm. Tika uzņemti attēli plaukstai, uz kuras ir neliela čūla. Čūla ir veidojums, kurā ir paaugstināts ūdens daudzums, līdz ar to tuvā infrasarkanā apgaismojuma attēlos tiek sagaidīts, ka šo čūlu varētu izšķirt no apkārtējās ādas fona. 7.9. attēlā parādīti kameras attēli, izmantojot 6 dažādos interferences filtrus. Čūla atrodas iekrāsotā laukuma vidū.

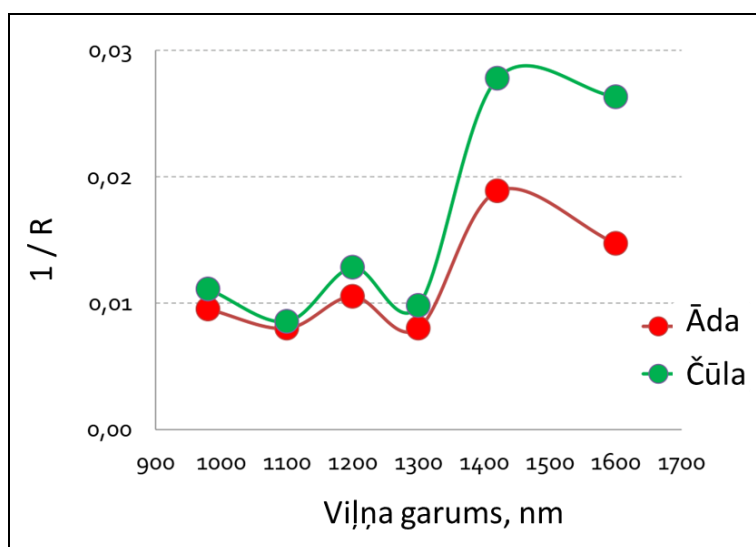
Šie ir melnbalti attēli, kuros gaišākās vietas raksturo niecīgu tuvā infrasarkanā starojuma absorbciju, savukārt tumšākie reģioni raksturo lielu tuvā infrasarkanā starojuma absorbciju. Redzams, ka vislielākā ādas absorbcija no šiem sešiem attēliem ir pie 1450 nm, kas arī bija sagaidāms, jo pētāmajā spektra diapazonā pie 1450 nm ir ūdens absorbcijas maksimums, un ādā ir daudz ūdens. Diezgan izteikti redzamas ādas absorbcijas izmaiņas pie dažādiem viļņa garumiem (izmantojot dažādus filtrus), un pie 1450 nm āda attēlā izskatās pavisam tumša, kā rezultātā ir grūtāk atšķirt apgabalus (piemēram, čūlu), kur ir vēl nedaudz vairāk ūdens, līdz ar to nedaudz lielāka absorbcija.

Diemžēl nebija iespējams novērot absorbcijas izmaiņas attēlos, uzklājot plānu kārtiņu mitrinošā krēma. Visticamāk tas saistīts ar to, ka absorbcijas izmaiņas šādā gadījumā ir ļoti nelielas, un kamera tik nelielas atšķirības neuztver. Čūlas gadījumā šo atšķirību ir iespējams redzēt, jo čūla bija apmēram 1 mm bieza. Plāna krēma kārtiņa ir daudz plānāka par to (ne vairāk kā 0,1 mm).



7.9. attēls. Tuvā infrasarkanā spektra diapazona attēli, izmantojot 6 dažādus interference filtrus.

7.9. attēlā parādītajos gadījumos iespējams noteikt difūzi atstarotā starojuma intensitāti katrā pikselī. Absorbciija ir apgriezti proporcionāla atstarotajai intensitātei; tika izvēlēti nelieli laukumi vidējās intensitātes aprēķinam pa visiem šī laukuma pikseļiem gan normālai ādai, gan čūlai, un šī vidējā intensitātes vērtība pēc tam pārrēķināta uz absorbciju raksturojoša parametra vērtībām saskaņā ar formulu $1/R$, kur R ir atstarotās gaismas intensitāte. 7.10. attēlā redzamas šī absorbciju raksturojošā parametra $1/R$ vērtības pie 6 dažādiem viļņa garumiem. Savienojot punktus, redzams, ka tiek iegūts ūdens absorbcijas spektram līdzīgs spektrs, kas arī tika sagaidīts, pie tam čūlas gadījumā absorbciija ir izteikti lielāka, kas arī tika sagaidīts.



7.10. attēls. Absorbciju raksturojošs parametra vērtības $1/R$ pie 6 dažādiem viļņa garumiem gan ādas, gan čūlas apgabalā.

8 Elektro- un sonoforēzes efektivitātes novērtēšana ar neinvazīvām optiskām metodēm

Zaļais fluorescējošais proteīns (GFP) ir izplatītākais marķieris ādas vai muskuļu terapijas rezultāta novērtēšanai, kur nepieciešams novērtēt zāļu ievadīšanas efektivitāti. Tā fluorescences intensitāte pozitīvi korelē ar terapijas efektivitāti, ko iespējams novērtēt ar optiskām metodēm. Peles ir vieni no izplatītākajiem dzīvniekiem, uz kuriem tiek veikti pētījumi dažādiem terapijas veidiem. Optiskās metodes (arī GFP transfekcijas novērtēšana) ļauj neinvazīvi novērtēt un monitorēt terapijas rezultātu, nenogalinot dzīvnieku, tādējādi samazinot pētījumam nepieciešamo dzīvnieku skaitu. Tomēr esošie risinājumi GFP transfekcijas novērtēšanai ir salīdzinoši dārgi, vienkāršākas un lētākas pieejas veicinātu šādu metožu plašāku izmantošanu.

Šī projekta ietvaros tika pētīta multispektrālās attēlošanas un punkta spektrometrijas izmantošana GFP transfekcijas efektivitātes novērtēšanai peļu *tibialis cranialis* muskuļos, meklējot vienkāršāko risinājumu, kā arī novērtējot metodes darbību in vivo mērījumu apstākļos. Elektro- un sonoforēze ar standarta iestatījumiem tika izmantotas, kā divas terapijas metodes zāļu (šajā gadījumā GFP) ievadīšanai muskuļu šūnās.

Abas metodes (multispektrālā attēlošana un punkta spektrometrija) var tikt izmantotas kvantitatīvai GFP transfekcijas efektivitātes novērtēšanai in vivo, jo ir novērojama korelācija starp in vivo un in vitro mērījumiem, kā arī GFP transfekcijai pakļauto muskuļa šķiedru skaitam. Mērījumu rezultāti rāda, ka procesa novērtēšanai var izmantot divus spektrālos kanālus vai viļņa garumus – viens tuvu GFP absorbcijas maksimumam, bet otrs referencei, kur GFP absorbcija ir minimāla. Mērījumu rezultāti rāda, ka ar optiskām metodēm var novērot GFP transfekciju arī 2 gadus pēc terapijas procedūras veikšanas, respektīvi, visā peles mūža garumā.

Mērierīces izmaksu samazināšanai multispektrālās attēlošanas ierīces vietā iespējams izmantot standarta krāsu kameru, tādējādi to padarot arī kompaktu. Komerciāli pieejamās mazo dzīvnieku attēlošanas sistēmas parasti ir samērā lielas un dārgas, piem., CSB Xenogen IVIS Imaging System 100, CRI Maestro system, Leica FCM 1000.

Elektro- un sonoforēzes salīdzinošie mērījumi parādīja, ka GFP transfekcijas rezultāts (terapijas efektivitāte) ir daudz izteiktāks elektroforēzes izmantošanas gadījumā.

Minētie rezultāti ir apkopoti raksta sagatavē, kas atrodama pārskata pielikumā nr.3. Raksta sagatave ir gan pētījuma rezultātu pārskats, gan arī tiks iesniegta publicēšanai zinātniskā žurnālā.

9 Publiska semināra organizēšana

2014. gada 5. decembrī viesnīcā "Days Hotel Riga" tika noorganizēts publisks seminārs, kurā visi interesenti tika iepazīstināti ar InBiT projekta mērķiem, gaitu un iegūtajiem rezultātiem. Informācija par semināru tika izplatīta ar aģentūras LETA preses relīzes palīdzību. Seminārā tika nolasīti šādi referāti:

- InBiT projekta mērķi, uzdevumi un organizācija (*Aivars Lorencs, Dainis Jakovels*)
- Ādas veidojumu diagnostika klīniskajā praksē: stāvoklis (*Kristīne Azarjana*)
- LU ASI izstrādātā aparatūra ādas veidojumu remisijas un fluorescences attēlu iegūšanai, laboratorijas izpētes rezultāti (*Inga Saknīte*)
- Algoritmi multispektrālo attēlu reģistrācijai un veidojumu segmentācijai (*Roberts Kadiķis*)
- Ādas hromoforu kartēšanas problēmu risinājumi un iegūtie rezultāti (*Juris Siņica-Siņavskis*)
- Lāzerspeklu izmantošana asins plūsmas novērtēšanai ādā (*Dainis Jakovels*)
- Fluorescences spektroskopijas izmantošana *in vivo* elektroforēzes un sonoforēzes efektivitātes novērtēšanai zāļu ievadīšanai šūnās (*Mindaugas Tamošiunas*)
- Melanomas / dzimumzīmes klasifikācijas metode, izmantojot neliela skaita spektrālo joslu informāciju (*Aivars Lorencs*)

10 Secinājumi

Pārskata periodā veiktā darba rezultātā izdarīti šādi secinājumi, kas ietekmē nākošo periodu darba saturu:

- Lai nodrošinātu izstrādātās maketierīces pielietošanas iespējas medicīniskajā praksē, nepieciešams uzlabot iegūto attēlu kvalitāti, palielinot gaismas avotu intensitāti un uzlabojot attēlu telpisko izšķirtspēju.
- Nepieciešams izstrādāt lietojumprogrammas ādas attēlu apstrādei, kuras var izmantot klēpj datorā un viedtālrunī. Viedtālruņa ierobežoto resursu dēļ attēlu apstrādei šajā gadījumā jāizmanto attālinātu serveri.
- Pēc maketierīces uzlabošanas jāizgatavo vairāki tās eksemplāri, lai nodrošinātu salīdzinošu aparatūras testēšanu parametru izkliedes un iegūto attēlu kvalitātes ziņā, kā arī programmatūras pārbaudes iespējas, to paralēli izstrādājot abās partneru organizācijās.
- Attēlu reģistrācijas programmatūras izstrādē jābalstās uz lokālo ekstrēmu metodes izmantošanu.
- Nākošajā projekta periodā jākoncentrējas uz ādas veidojumu segmentācijas metodes uzlabošanu, lai nodrošinātu šo veidojumu automātisku segmentēšanu attēlos, kas iegūti ar izstrādātās maketierīces palīdzību.
- Ādas mitruma pakāpes noteikšanai vēlams iegūt un izmantot spektrometru, kas darbojas 1920 nm diapazonā.
- Jāizpēta bilirubīna kartēšanas iespējas sasitumu attēlos, balstoties uz normālās ādas atstarotās gaismas spektru kā referenci.

11 Literatūras saraksts

- [1] Wickett, R. R., Visscher, M. O., "Structure and function of the epidermal barrier," *American Journal of Infection Control* 34(10), S98-S110 (2006).
- [2] Dobos, K., "How Do Skin Moisturizers Work?" *Chemists Corner*, 3 April 2014, <<http://chemistscorner.com/how-do-skin-moisturizers-work/>> (5 January 2015).
- [3] "emollients - topical", *MedicineNet*, 16 April 2014, <<http://www.medicinenet.com/emollients-topical/article.htm>> (5 January 2015).
- [4] Bashkatov, A. N., Genina, E. A., Kochubey, V. I., Tuchin, V.V., "Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm," *J. Phys. D: Appl. Phys.* 38, 2543-2555 (2005).
- [5] Martin, K. A., "Direct measurement of moisture in skin by NIR spectroscopy," *J. Soc. Cosmet. Chem.* 44, 249-261 (1993).
- [6] Suh, E.-J., Woo, Y.-A. and Kim, H.-J., "Determination of Water Content in Skin by using a FT Near Infrared Spectrometer," *Arch Pharm Res* 28 (4), 458-462 (2005).
- [7] Iwasaki, H., Miyazawa, K. and Nakauchi, S., "Visualization of the human face skin moisturizing-ability by spectroscopic imaging using two near-infrared bands," *Proc. SPIE* 6062, 606203-1 (2006).
- [8] Egawa, M., Yanai, M., Kikuchi, K. and Masuda, Y., "Extended Range Near-Infrared Imaging of Water and Oil in Facial Skin," *Applied Spectroscopy* 65 (8), 924-930 (2011).

Pielikums Nr.1. Patenta apraksts, zīmējumi, pretenzija un kopsavilkums.

Pielikums Nr.2. Stenda referāts konferencē „Photonics West 2015.

Pielikums Nr.3. Zinātniska raksta sagatave: "Non-invasive optical diagnostics of GFP expression in skeletal muscle for comparison of electroporation and sonoporation efficiencies."