



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 01.03.2015.g līdz 31.05.2015.g.

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

Projekta zinātniskie darbinieki: Kristīne Azarjana, Dr.med.

JekaterinaBule, Dr.sc.ing.

Gita Krieviņa, doktorante

Inga Saknīte, doktorante

Dainis Jakovels, Dr.phys.

Dmitrijs Bļizņuks, doktorants

Juris Siņica-Siņavskis, Mag.math.

MindaugasTamošiunas, 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	Palielinātas intensitātes starojuma avota izstrāde un testēšana.....	5
3.2	Gaismas diožu strāvas kontroles moduļa pārbaude	6
3.3	Gaismas diožu gredzena izstrāde	6
3.4	Prototipa rasējuma izstrāde un 3D modeļa izveidošana	6
3.5	Jaunas kameras adaptācija un darbības pārbaude prototipā.....	7
3.6	Raksti un konferences	8
4	Patenta pieteikuma virzība par iekārtu ādas veidojumu atšķiršanai	8
5	Ādas veidojumu segmentācija ar mašīnmācīšanās metožu palīdzību	9
5.1	Pikseļu klasificēšana ar mākslīgo neironu tīklu.....	9
5.2	Konvolūcijas neironu tīkli	11
5.3	Mašīnmācīšanās vides uzstādīšana	12
5.4	Dziļās mācīšanās pielietošana melanomas atšķiršanai no dzimumzīmes	13
6	Bilirubīna un hemoglobīna neinvazīva kartēšana ādas hematomās, izmantojot hiperspektrālo attēlošanu	14
6.1	Literatūras apskats	14
6.2	Eksperimentālais stends	16
6.3	Rezultāti	18
6.4	Secinājumi	19
7	Fluorescences izmantošana elektroforēzes un sonoforēzes iedarbības ilglaicīgai novērošanai dzīvos audos.....	20
8	Difūzās atstarošanās un autofluorescences spektrālās attēlošanas izmantošana atipisku pigmentētu ādas veidojumu izšķiršanai	20
9	Abdominālo un nieru sīnusu taukaidu segmentēšana datortomogrāfijas (DT) attēlos	21
10	Secinājumi	21
11	Literatūras saraksts	21
	Pielikumi.	22

1 Kopsavilkums

Periodā no **1.3.2015.** – **31.05.2015.** projekta InBiT aktivitātes "Pētījumi" ietvaros veikti šādi darbi:

1. Projekta ietvaros izstrādātā multimodālā iekārta ādas attēlu iegūšanai ir uzlabota, nomainot vairākus moduļus un tādejādi uzlabojot iegūto attēlu kvalitāti (aktivitāte 2.3).
2. Informācija par jauno iekārtu prezentēta konferencē "3rd International Conference on BioPhotonics 2015" Florencē un par to sagatavota publikācija "Mobile platform for online processing of multimodal skin optical images" (aktivitāte 2.4).
3. Koriģēta publikācija par ādas veidojumu klasifikācijas metodi melanomu atšķiršanai no dzimumzīmēm iesniegta žurnālam "Elektronika ir Elektrotehnika" (aktivitāte 2.4).
4. Publicēts patenta pieteikums par iekārtu melanomas atšķiršanai no dzimumzīmes, kura balstās uz ādas veidojuma attēla iegūšanu un apstrādi. Patenta pieteikums koriģēts saskaņā ar ekspertīzes atzinumu (aktivitāte 2.4).
5. Starptautiskā jauno zinātnieku konferencē Developments in Optics and Communications (DOC 2015) tika prezentēts projekta ietvaros izstrādātais ādas attēlu reģistrācijas algoritms (aktivitāte 2.4).
6. Konferencē Microwave and Radio Electronics Week 2015 (MAREW 2015) prezentēts raksts "Registration Method for Multispectral Skin Images", kas iekļauts konferences rakstu krājumā (aktivitāte 2.4).
7. Veikti pētījumi par neironu tīklu izmantošanu ādas veidojumu attēlu apstrādei. Pētītas iespējas izmantot t.s. dziļās mācīšanās (*deeplearning*) pieeju. Sagatavota vide neironu tīklu apmācības un attēlu klasifikācijas uzdevumu risināšanai (aktivitāte 2.2).
8. Veikti pētījumi par bilirubīna un hemoglobīna neinvazīvu kartēšanu ādas hematomās, izmantojot hiperspektrālo attēlošanu. Izstrādāts algoritms hemoglobīna un bilirubīna relatīvās koncentrācijas novērtēšanai (aktivitāte 2.2).
9. Veikti pētījumi fluorescences izmantošanā elektroforēzes un sonoforēzes iedarbības ilglaicīgai novērošanai dzīvos audos (aktivitāte 2.2).
10. Veikti pētījumi difūzās atstarošanās un autofluorescences spektrālās attēlošanas izmantošanā atipisku pigmentētu ādas veidojumu izšķiršanai (aktivitāte 2.2). Rezultāti prezentēti konferencē "3rd International Conference on BioPhotonics 2015" Florencē un par tiem sagatavota publikācija "Benign – atypical nevi discrimination using diffuse reflectance and fluorescence multispectral imaging system" (aktivitāte 2.4).
11. Pabeigts pētījums par abdominālo un nieru sīnusu taukaudu segmentēšanu datortomogrāfijas (DT) attēlos (aktivitāte 2.2).
12. Iesniegtas Gītas Krieviņas un Ingas Saknītes disertācijas (aktivitāte 2.4).
13. Projekta pētnieciskā darbība apspriesta zinātnisko dalībnieku seminārā.

2 Ievads

Šis pārskats veltīts projekta sestā posma laikā veiktajiem pētījumiem. Šajā laikā tika turpināti uzsāktie pētījumi, uzlabots un laboratorijas apstākļos tiek pārbaudīts jaunās iekārtas makets, par iegūtajiem rezultātiem ziņots zinātniskās konferencēs, saņemts lēmums par patenta izsniegšanu un sagatavotas zinātniskās publikācijas.

Izstrādātā multimodāla iekārta ādas attēlu iegūšanaipārskata perioda laikā ir uzlabota, nomainot gaismas avotu, un diožu strāvas kontroles moduli, kā arī izmantojot labāku kameras moduli. Izstrādāts jauns diožu gredzens un aparāta korpuss, izmantojot 3D modelēšanu. Korpuss izgatavots, izmantojot 3D printeri. Tiek plānots iekārtu pārbaudīt klīnikas apstākļos, ar to iegūstot ādas veidojumu attēlus. Informācija par jauno iekārtu prezentēta konferencē Florencē un par to sagatavota publikācija.

Pārskata periodā saņemts ekspertīzes atzinums par patenta pieteikumu par iekārtu melanomas atšķiršanai no dzimumzīmes. Pieteikums publicēts Latvijas Republikas Patentu valdes oficiālajā izdevumā. Pieteikums koriģēts saskaņā ar norādītajiem trūkumiem un sagaidāma patenta izsniegšana.

Pārskata periodā uzsākti pētījumi mākslīgo neironu tīklu izmantošanā ādas veidojumu attēlu apstrādei. Tiek izskatītas iespējas izmantot šo pieeju gan veidojumu segmentēšanai attēlos, gan arī melanomu atšķiršanai no dzimumzīmēm. Apmeklēta konference, kas veltīta dziļās mācīšanās (*deeplearning*) metožu izmantošanai un tās realizācijai ar augstas veiktspējas grafisko procesoru palīdzību. Kopumā neironu tīklu izmantošana biomedicīnisku attēlu apstrādei uzskatāma par ļoti perspektīvu tālāko pētījumu virzienu.

Turpināti pētījumi arī citos jau agrāk iesāktajos virzienos un pārskatā atainoti jaunākie rezultāti. Sagatavotās publikācijas pievienotas pielikumos. Būtisks perioda rezultāts ir divu plānoto disertāciju iesniegšana komisijai.

3 Ādas veidojumu attēlu iegūšanas un straumēšanas iekārtas izstrāde

Pārskatā periodā turpinājās InBiTmaketierīces projektēšana un to atsevišķo komponentu testēšana. Galvenie attīstības posmi bija:

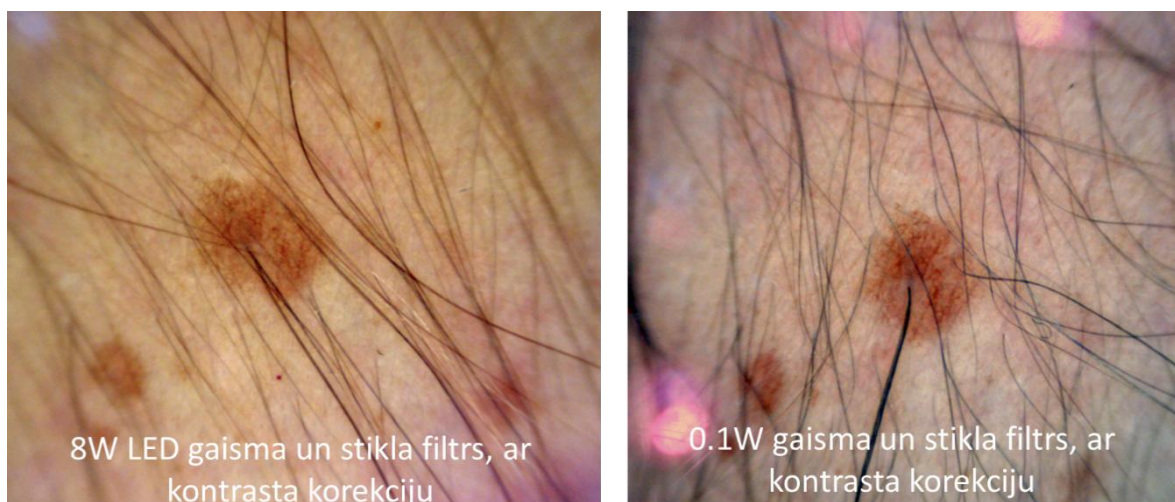
- palielinātas intensitātes starojuma gaismas avota izstrāde un testēšana;
- gaismas diožu strāvas kontroles moduļa pārbaude;
- gaismas diožu gredzena izstrāde;
- prototipa rasējuma izstrāde un 3D modeļa izveidošana;
- jaunas kameras adaptācija un darbības pārbaude prototipā.

3.1 Palielinātas intensitātes starojuma avota izstrāde un testēšana

Testējot jaunizveidoto prototipu, tika pamanīta problēma - ādas matiņu traucēšana attēlu apstrādei. Salīdzinot prototipa dermatoskopa MoleMAX apgaismošanas principus un iegūtos attēlus, tika secināts, ka nepieciešams palielināt prototipa gaismas avota intensitāti un kameras sistēmas izšķirtspēju, kā arī izmantot priekšējo filtru, kas piespiež ādu.

Lai pārbaudītu ar prototipa palīdzību iegūstamo attēlu kvalitātes izmaiņas, palielinot ādas apgaismošanas intensitāti, tika pielietota baltas gaismas diožu grupa ar kopējo gaismas plūsmu 800 lm, kā arī tika veikti testi, pielietojot priekšējo filtru, kas piespiež ādu.

Lielāko atšķirību attēlu kvalitātē var redzēt, palielinot kontrastu pēcapstrādes laikā (skat. att.3.1). Pārējos testos atšķirības ir minimālas.



Att.3.1. Gaismas intensitātes ietekmes pārbaude.

Apkopojot testu rezultātus, tika secināts, ka:

- Gaismas spilgtuma izmaiņām ir minimāls efekts uz matiņu redzamību,
- Iespējams, ka sānu gaisma varētu samazināt matiņu redzamību,
- Pieaugot spilgtumam, krāsu viendabīgums ir labāks,
- Pieaugot spilgtumam, samazinās iespēja sabojāt attēlu, kustinot roku, jo ekspozīcijas laiks samazinās.

3.2 Gaismas diožu strāvas kontroles moduļa pārbaude

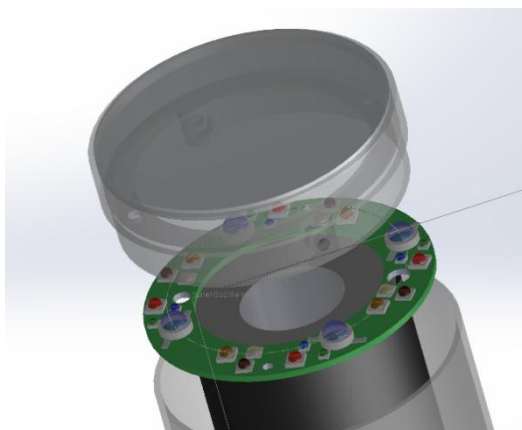
Veidojot spilgtas gaismas avotu, tika secināts, ka eksistējošie strāvas kontroles moduļi neatbilst prasībām. To maksimālā strāva ir 0.7A, bet nepieciešams lietot vismaz 2A strāvas kontroli.

Tā kā ādas apgaismošanas laiks ir minimāls, tika pieņemts lēmums izmantot pasīvo strāvas regulatoru, neskatoties uz to samazināto efektivitāti. Šādas pieejas priekšrocība ir pulsāciju neesamība, kas ir svarīgs faktors attēlu pēcapstrādē. Turklāt šo pieeju var realizēt ar vienkāršu vadības shēmu, kas sastāv no četriem elementiem (Mosfet, tranzistors un divi rezistori). Vēlamo strāvas lieluma ierobežojumu panāk ar rezistora lieluma izvēli. Shēma tika pārbaudīta 3A strāvas kontrolei, pie ieejas sprieguma no 1V līdz 5V, kas pilnībā apmierināja izvirzītās prasības.

3.3 Gaismas diožu gredzena izstrāde

Lielākā problēma gaismas avota izveidē ir gaismas diožu izvietošana ierobežotā platībā. Lai saplānotu iespējamo diožu skaitu un to izvietošanu, tika izveidoti visu pielietoto diožu 3D modeļi, vadoties pēc to rasējumiem.

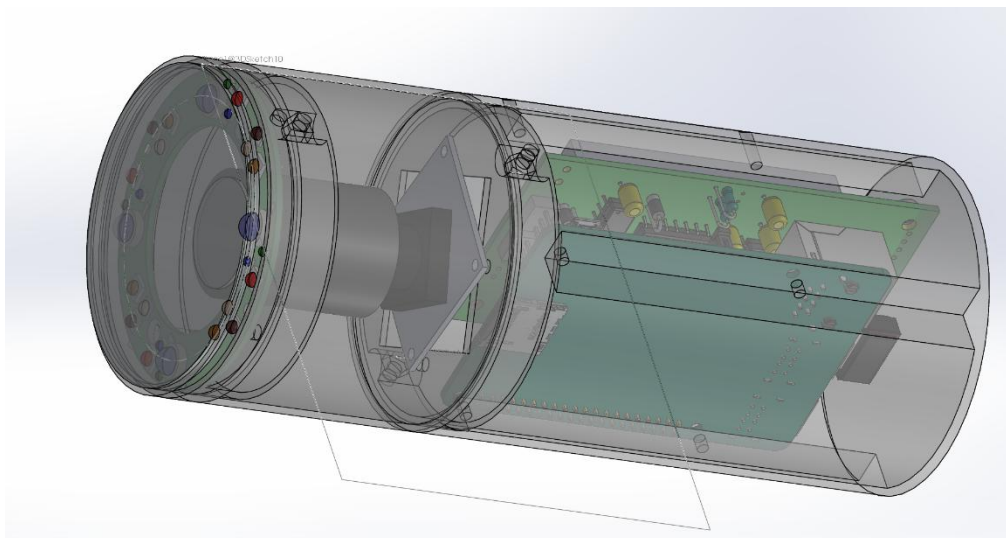
Rezultātā tika izvietotas 28 diodes, kas tika sadalītas četras grupās (sk. att.3.2.).



Att.3.2. Diožu izvietošums gredzenā.

3.4 Prototipa rasējuma izstrāde un 3D modeļa izveidošana

Lai būtu iespējams izveidot prototipa korpusu, ir nepieciešams saplānot to iekšējo elementu izvietošanu. To visērtāk darīt, izveidojot visu elementu 3D modeļus un turpmāk operējot ar tiem virtuālā modelēšanas vidē. Rezultātā tika izveidots pilns prototipa 3D modelis (sk. att.3.3.), kurš tika izdrukāts ar 3D printeri (sk. att.3.4.).



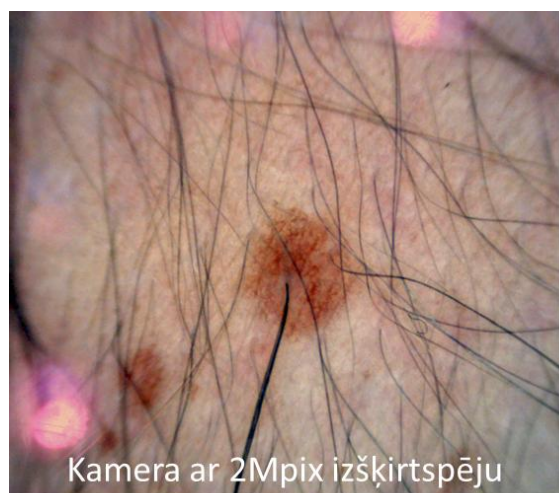
Att.3.3. Prototipa 3D modelis.



Att.3.4. Iekārtas prototipa izdrukā, izmantojot izveidoto 3D modeli.

3.5 Jaunas kameras adaptācija un darbības pārbaude prototipā

Saņemot jauno 5Mpix IDS kameru, kļuva iespējams salīdzināt to kvalitāti ar iepriekš izmantoto līdzīgo kameru ar 2Mpix izšķirtspēju. Testu rezultāti liecina par 5Mpix kameras pārkumu (sk. att.5.). Turpmākos pētījumos tiks veikta padziļināta kameras analīze.



Kamera ar 2Mpix izšķirtspēju



Kamera ar 5Mpix izšķirtspēju

Att.3.5. Divu kameru kvalitātes testēšana.

3.6 Raksti un konferences

Pārskatā periodā tika sagatavota publikācija konferencei “3rd International Conference on BioPhotonics 2015”. Konferences laikā (20.-22.maijā Florencē, Itālijā) tika prezentēts referāts ar nosaukumu “Mobile platform for online processing of multimodal skin optical images”. Kā arī tika izveidots raksts publikācijai konferenču krājumā. Rakstā ir apkopota informācija par maketierīces izstrādes motivāciju, piedāvātas modulāras arhitektūras priekšrocības un lietošanas principi. Pilno tekstu var atrast Pielikumā Nr.1.

4 Patenta pieteikuma virzība par iekārtu ādas veidojumu atšķiršanai

Pārskata periodā tika saņemts Latvijas Republikas Patentu valdes ekspertīzes paziņojums par iesniegtā patenta pieteikuma publicēšanu un trūkumiem, kurus nepieciešams labot, lai patentu varētu izsniegt.

Patenta pieteikums publicēts Latvijas Republikas Patentu valdes oficiālajā izdevumā "Izgudrojumi, preču zīmes un dizainparaugi" 2015.g. 20.maijā (skat. Pielikumu Nr.2.).

Paziņojumā minētie trūkumi novērsti un iesniegti pieteikuma labojumi.

5 Ādas veidojumu segmentācija ar mašīnmācīšanās metožu palīdzību

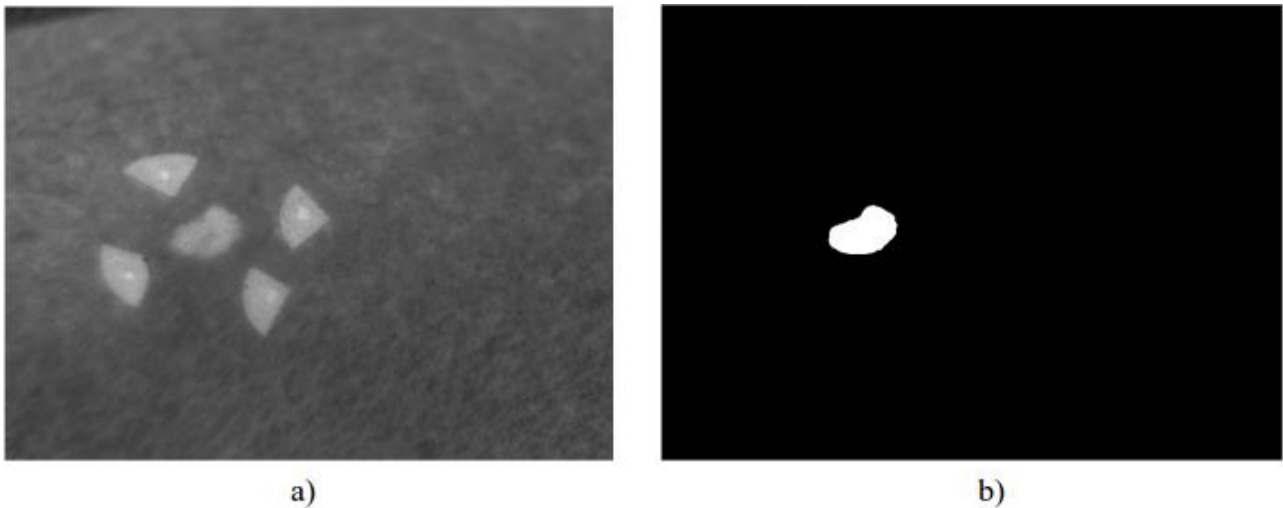
Ādas veidojumu klasificēšanai ļaundabīgos un labdabīgos ir svarīgi nodalīt, kuri ādas attēlā redzami apgabali atbilst veidojumam, un kuri tam neatbilst. Iepriekšējos pārskata periodos tika īstenota segmentācija, kas balstās uz veidojuma attēla pikseļu vērtību atšķirību no apkārt esošās ādas pikseļiem optiskā blīvuma attēlos. Šai pieejai piemīt vairāki trūkumi. Pirmkārt, lai pēc intensitātes gaišie marķieri un nevienmērīgi apgaismotie ādas apgabali netiktu segmentēti kā veidojums, lietotājam tika prasīts manuāli iezīmēt aptuvenu apgabalu attēlā, kura iekšienē pētāmais veidojums ir vienīgais gaišais objekts. Otrkārt, ne visi multispektrālie optiskā blīvuma attēli tika veiksmīgi segmentēti ar īstenoto metodi. Tādēļ šajā pārskata periodā tika pētītas sarežģītākas segmentācijas metodes, kas ļautu gan automatizēt segmentācijas procesu, gan uzlabot segmentācijas rezultātu.

5.1 Pikseļu klasificēšana ar mākslīgo neironu tīklu

Segmentācijas uzdevums ir noteikt katra pikseļa piederību konkrētai klasei – vai pikselis pieder pie veidojuma vai nē. Projektā iegūto multispektrālo optiskā blīvuma attēlu pikseļus apraksta 51 vērtība, kas ir optiskā blīvuma vērtības dažādos viļņa garumos. Turpmāk pikselis tiks aprakstīts kā vektors ar 51 vērtību: $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^{51}$. Katru $\mathbf{x}$ var iedalīt konkrētā klasē, balstoties uz tā 51 parametru. Šim nolūkam jāzina, kādi ir ādas veidojumam atbilstošie parametri. Lai to noskaidrotu, kā arī, lai noskaidrotu, kuras $\mathbf{x}$ vērtības ir svarīgākas, lai iedalītu pikseli kādā no divām klasēm, var lietot mašīnmācīšanās metodes. Šādas metodes raksturojas ar to, ka algoritmam tiek padoti marķēti paraugi – pikseļu aprakstošie vektori un šiem pikseļiem atbilstošās klases $y \in \mathbb{R}$. Pēc pietiekami daudzu paraugu (treniņdatu) apstrādes, algoritms ir automātiski pielāgojies, lai dalītu klasēs jaunus, iepriekš neredzētus $\mathbf{x}$.

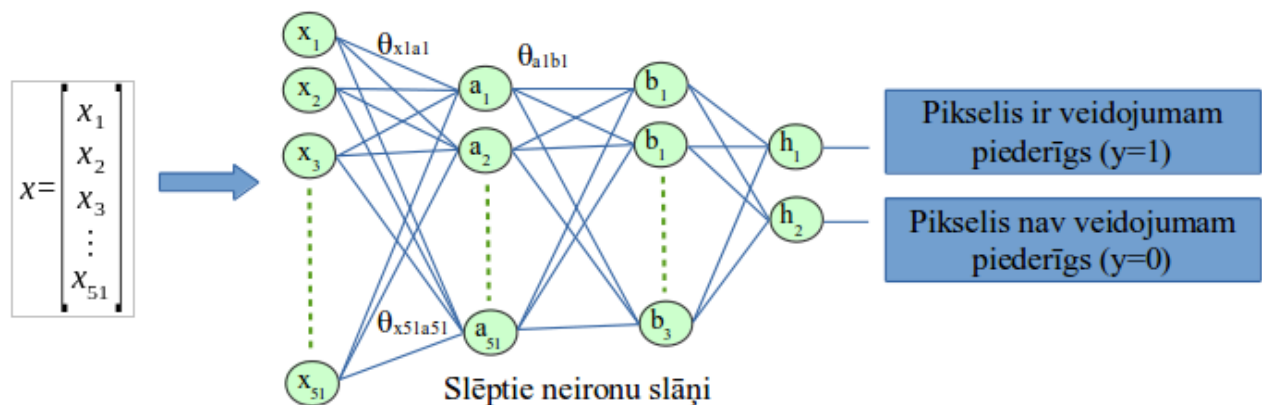
Mašīnmācīšanās algoritmu izmantošanai ir nepieciešams izveidot treniņdatu kopu. Attēlā 5.1. parādīts treniņkopas attēla piemērs. Attēls 5.1.a. ir ieejas attēls, kur katru pikseli apraksta $\mathbf{x}$. Attēls 5.1.b ir atbilstošais pikseļu marķējums. Katram pikselim (i,j) attēlā 5.1.b. ir viena no divām iespējamām vērtībām: $y=1$, ja pikselis pieder pie veidojumam atbilstošās klases; $y=0$, ja pikselis atbilst otrai klasei. Lai varētu apmācīt un testēt mašīnmācīšanās algoritmus, šādi marķējuma attēli ir jāveido manuāli katram ieejas optiskā blīvuma attēlam.

Projektā izmantotā mašīnmācīšanās metode ir mākslīgie neironu tīkli, kas datora redzes jomā kopš 2012 ir atguvuši popularitāti, jo uzrādījuši labākos rezultātus attēlu atpazīšanas un klasificēšanas jomās. Veiksmīgos rezultātus uzrādīja dziļi neironu tīkli, kuros ir vairāki slēptie neironu slāņi. Īpaši veiksmīga neironu tīklu arhitektūra attēlu jomā ir konvolūcijas neironu tīkli. Šādu dziļu tīklu pētniecības jomu dēvē par dziļo apmācību (*deep learning*). Ar nolūku apzināt un apgūt dziļās apmācības metožu iespējas 16.-20. martā tika apmeklēta konference GPU Technology Conference (GTC2015).



Att. 5.1. Ieejas optiskā blīvuma attēla pirmā josla (a) un tai atbilstošais vēlmais segmentācijas rezultāts - marķējums (b).

Attēlā 5.2. parādīts mākslīgā neironu tīkla piemērs, ko var lietot ādas attēla pikseļu klasificēšanai. Konkrētajam tīklam ir četri slāņi – ieejas, izejas un divi slēptie slāņi. Ieejas slāņa neironu skaits atbilst katra pikseļa parametru skaitam, kas šajā gadījumā ir 51.



Att. 5.2. Mākslīgais neironu tīkls.

Savienojumi starp ieejas slāņa neironiem x un nākamā slāņa neironiem a tiek aprakstīti ar tīkla koeficientiem θ_{xa} . Piemēram, starp neironiem x_1 un a_3 atrodas svara koeficients θ_{x1a3} . Kā piemērs, otrā tīkla slāņa neirona a_2 vērtība tiek aprēķināta ar sekojošu formulu:

$$a_2 = g(\theta_{x1a2}x_1 + \theta_{x2a2}x_2 + \dots + \theta_{x51a2}x_{51})$$

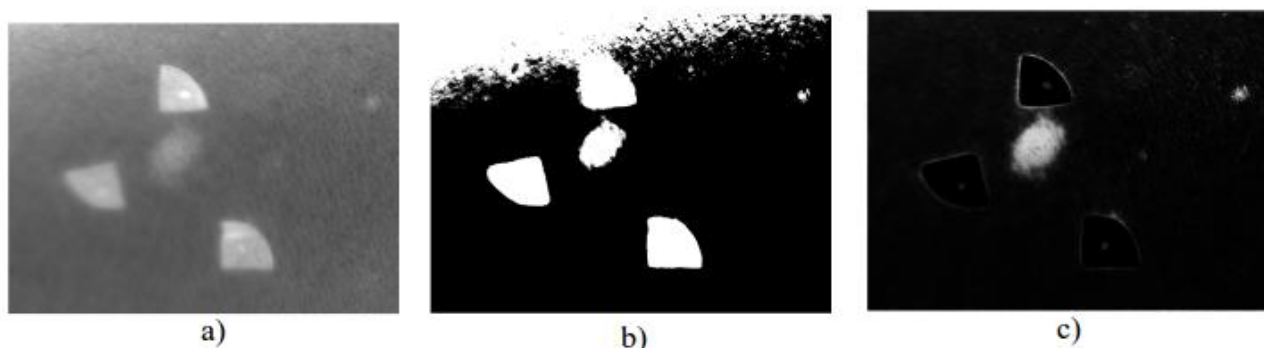
Funkcija $g()$ ir nelineāra funkcija, piemēram, sigmoīda, kas nodrošina, ka iespējamās a vērtības ir ierobežotas no 0 līdz 1. Līdzīgā veidā, ar citiem svara koeficientiem θ_{ab} , slānis a ir savienots ar b slāni, kas savukārt savienots ar izejas slāni.

Izejas slānī var, piemēram, būt vairāki neironi, kur katrs atbilst vienai nosakāmai objekta klasei. Tā objekta klase (tātad klasei atbilstošais izejas neirons), kura uz ieejas attēlu noreagē visvairāk, tiek uzskatīta par rezultātu. Attēla 5.2 piemērā, kad h_1 ir lielāks par h_2 , tiek pieņemts lēmums, ka ieejas pikselis ir veidojumam piederīgs.

Neirona tīkla trenēšanas mērķis ir apmācības procesā atrast optimālas svara koeficientu θ vērtības. Trenēšanas laikā, ieejā tiek padoti daudzi treniņkopas attēla pikseļi. Marķētu datu gadījumā mēs

zinām, kuram izejas neironam būtu jāatgriež lielākā vērtība. Ja rezultāts, salīdzinot ar treniņkopas y vērtību ir nepareizs, tiek noteikta kļūda, un, tiek noteikts virziens kļūdu telpā, kurā būtu jāvirzās, lai to samazinātu. Informācija par šo kļūdu tiek padota tīklā pretējā virzienā – no izejas uz ieeju (*backpropagation*). Šī kļūdas informācija viscaur tīklam izmaina tīkla svara koeficientus. Treniņu turpina, līdz tīkls atrod optimumu. Uztrenētu tīklu tālāk var lietot jaunu datu klasificēšanai, padodot tā ieejā pikselus, kurus tīkls iepriekš nav redzējis.

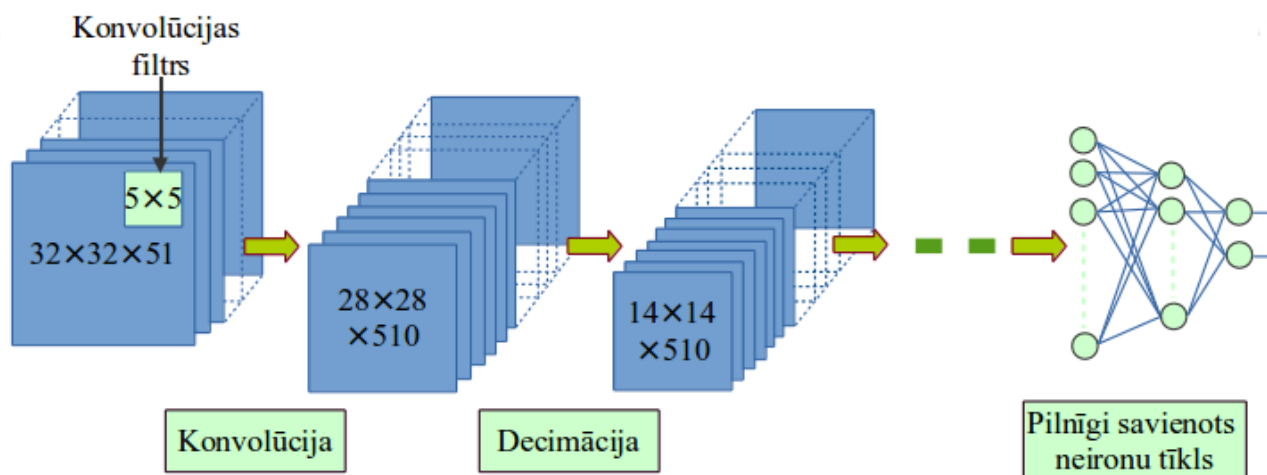
Attēlā 5.3.a parādīta ādas attēla spektra josla. Veidojums ir gaišāks par ādu, tomēr gaišāki ir arī mērījuma uzsākšanas laikā lietotie marķieri, kā arī āda nav vienmērīgi apgaismota. Šīs nepilnības parādās attēlā 5.3.b, kur attēlam 5.3.a ir pielietots mazākais sliekšnis, kas izdala pētāmo veidojumu. Bildē 5.3.c multispektrālajam attēlam pielietots uztrenēts neironu tīkls, un katra pikseļa intensitāte šajā attēlā atbilst varbūtībai, ar kādu pikselis pieder veidojuma klasei. Marķieri attēlā 5.3.c ir tumši, tātad netiek pieskaitīti pie veidojuma. Ādas nevienmērīgais apgaismojums pie šāda segmentēšanas veida arī negatīvi neietekmē rezultātu.



Att. 5.3. Ādas attēla segmentēšana ar vienu sliekšni (b) un neironu tīklu (c).

5.2 Konvolūcijas neironu tīkli

Iepriekš apskatītais paņēmiens klasificē pikselus tikai pēc to vērtībām katrā multispektrālā optiskā blīvuma attēla joslā. Būtiska informācija klasifikācijā var atrasties arī konkrētā pikseļa apkārtnes apgabalā. Lai tīkls ņemtu vērā šo informāciju, tā ieejā būtu jāpadod visa šī apkārtnē: piemēram, tīkla ieeja varētu būt $32 \times 32 \times 51$ izmēra matrica. Palielinot ieejas parametru skaitu, ir jāveido sarežģītāks tīkls. Ja neironu tīkls pēc treniņa nespēj dot pareizu rezultātu pat tad, kad ieejā padod tos pašus treniņa datus, tas visticamāk ir pārāk mazs un vienkāršs dotajam uzdevumam. Palielinot tīkla slāņu skaitu, tas var aproksimēt sarežģītākas funkcijas. Tomēr, ja tīklā katrs viena slāņa neirons ir savienots ar visiem nākamā slāņa neironiem, palielinot tīkla izmēru, būtiski pieaug šī tīkla trenēšanai nepieciešamais laiks. Attēlu gadījumā šo problēmu risina ar konvolūcijas neironu tīklu palīdzību.



Att. 5.4. Konvolūcijas neironu tīkla struktūra.

Konvolūcijas tīkla pamatsoli ilustrēti attēlā 5.4. Tā ieejā tiek padots multispektrālā attēla apgabals ap klasificējamo pikseli. Pirmajā tīkla slānī katrai attēla joslai tiek veikta konvolūcija ar vairākiem filtriem, pie katra iegūstot vairākus rezultējošus attēlus – pazīmju kartes. Tīkla apmācības mērķis ir uzzināt, kādus tieši konvolūcijas filtrus lietot, lai izejā iegūtu vēlamu rezultātu. Ja apskatāmajā piemērā pirmajā slānī tiek lietoti desmit 5×5 izmēra filtri, tad pēc pirmā konvolūcijas slāņa tiek iegūtas $510 \times 28 \times 28$ izmēra pazīmju kartes. Šos pirmā slāņa filtrus apraksta 10×75 svāra koeficienti. Pēc konvolūcijas, pazīmju karšu pikseliem bieži tiek pielietota kāda nelinearitāte, līdzīgi iepriekš apskatītajam vienkāršajam neironu tīklam. Nākamais konvolūcijas neironu tīkla slānis parasti ir decimācijas slānis, kas samazina pazīmju karšu izmēru. Piemēram, katrā pazīmju kartē no 2×2 pikseļu liela apgabala tiek izvēlēta un sūtīta uz nākamo līmeni tikai šī apgabala maksimālā pikseļa vērtība. 5.4. attēla piemērā tas noved pie 14×14 izmēra pazīmju kartēm. Samazinātajiem attēliem atkal tiek veikta konvolūcija, bet jau ar citu filtru kopu, kam atkal seko decimācija. Slāņu skaits atkarīgs no izvēlēta neironu tīkla dziļuma. Jo dziļāks tīkls, jo tas ilgāk trenējams.

Pēc kāda slāņu skaita visas mazās pazīmju kartes tiek apvienotas garā vektorā, un tīkls turpinās jau kā klasisks mākslīgais neironu tīkls - katrs slāņa elements ir savienots ar katru nākamā slāņa elementu (*fully connected*).

Veismīgi trenētā tīklā konvolūcijas filtri iemācās atpazīt klasificēšanai būtiskus parametrus. Attēlu klasificēšanas uzdevumos, pirmā slāņa filtri visbiežāk pēc trenēšanas visspēcīgāk reaģēt uz robežām attēlos. Katra nākamā slāņa filtri iemācās reaģēt uz arvien sarežģītākiem objektiem.

Pielietot uztrenētu aprakstīto konvolūcijas neironu tīklu katram attēla pikselim ir laikietilpīgs process. Tādēļ, aprakstītā metode nav perspektīva projektā plānotajam pielietojumam, kad pēc veidojuma attēla uzņemšanas tiktu ātri izdots veidojuma analīzes rezultāts. Tomēr, šo metodi var kombinēt ar iepriekš īstenotajiem vienkāršajiem segmentēšanas paņēmieniem. Dziļo tīklu var pielietot atsevišķiem pikseliem strīdīgos attēla apgabalos, un, iegūto informāciju var lietot vienkāršo segmentēšanas metožu izdoto rezultātu pareizības novērtēšanai un koriģēšanai.

5.3 Mašīnmācīšanās vides uzstādīšana

Pasaulē izstrādāti vairāki programmēšanas ietvari ērtai dziļo tīklu arhitektūru veidošanai un pētīšanai. Lai efektīvi testētu un atrastu multispektrālo ādas attēlu segmentēšanai veiksmīgus neironu tīklus, jāizvēlas kāds no šiem ietvariem. Jomā populāri ietvari ir Torch7, Theano un Caffe. Torch7 ietvars ir būvēts uz Lua programmēšanas valodas, un, darbs ar to ir līdzīgs darbam ar

MATLAB. Papildus tam, konferencē GTC2015 tika apgūti Torch7 programmēšanas pamati, tādēļ konkrētais ietvars izvēlēts arī turpmākiem neironu tīklu pētījumiem.

Neironu tīklu trenēšanai ir nepieciešamas lielas skaitļošanas jaudas, pretējā gadījumā trenēšana aizņem ilgu laiku. Daudzi soļi neironu tīklu trenēšanā var tikt veikti paralēli, tādēļ bieži tīklu trenēšanā tiek izmantoti grafiskie procesori, kuriem, atšķirībā no centrālajiem procesoriem ir vairāk paralēli darboties spējīgu kodoli. EDI ir pieejams skaitļošanas serveris ar četrām NVIDIA Tesla K20 grafiskajām kartēm. Projekta pārskata periodā uz šī servera tika uzstādīts Torch7 ietvars un tā darbībai nepieciešamās programmas un pakas. Ietvars ļauj ērti lietot uz skaitļošanas servera jau uzstādītu paralēlās skaitļošanas platformu CUDA.

Pēc vides sagatavošanas, tika izveidotas Lua valodas programmas, kas spēj nolasīt ieejas datus un vēlamos marķējumus, izveidot mākslīgo neironu tīklu, trenēt un testēt šo tīklu, kā arī izvadīt vizualizāciju par to, kā laikā mainās tīkla klasificēšanas precizitāte.

5.4 Dziļās mācīšanās pielietošana melanomas atšķiršanai no dzimumzīmes

Melanomas attēlu atpazīšanai ir iespējams izmantot dziļās mācīšanās algoritmus. Dziļā mācīšanās paredz statistikas apkopošanu un, balstoties uz tās, programma tiek apmācīta atpazīt un klasificēt attēlus pēc noteiktajiem kritērijiem, kas ir iebūvēti izmantojamā algoritmā. Ņemot vērā, ka dziļajai mācīšanai ir nepieciešams pietiekoši liels statistisku datu apjoms, kas šī projekta ietvaros nav pieejams, tiek plānots, balstoties uz esošajiem algoritmiem, izveidot jaunu, kurs būtu piemērots uzdevuma risināšanai.

Uz doto brīdi viens no pieņemamiem algoritmiem būtu loģistiskās regresijas algoritms. Tas tiek izmantot medicīnā, lai noteiktu, vai pacientam ir noteikta slimība. Algoritma būtība ir, pamatojoties uz dažādu iepriekš definētu parametru (neatkarīgu mainīgo) vērtībām, noteikt loģistiskās funkcijas (atkarīgā mainīgā) vērtību. Loģistiskā funkcija ieejā var pieņemt vērtības diapazonā $[-\infty, +\infty]$ un izejā dod rezultātu diapazonā $\{0, 1\}$, tādējādi tā tiek uzskatīta par varbūtības funkciju.

$$F(x) = \frac{1}{1 + e^{-(\beta_0 + \beta_1 x)}},$$

kur

- $F(x)$ ir varbūtība, ka izskatāmais gadījums ir patiess (t.i., attēlā ir melanoma)
- β_0 ir koeficients, kas apzīmē kritērija vērtību, kad neatkarīgie mainīgie ir vienādi ar 0
- $\beta_1 x$ ir regresijas koeficients, reizināts ar neatkarīgā mainīgā (prediktora) vērtību

$F(x)$ tiek interpretēta kā varbūtība, ka atkarīgais mainīgais (izeja) būs patiess, t.i., attēlā ir melanoma.

$P\{y=1|x\} = F(x)$, kur y ir melanomas gadījums.

Savukārt, lai aprakstītu pretējus gadījumus, kad izskatāmais gadījums nav patiess (attēlā nav melanoma), izmanto *logit* funkciju

$$q(F(x)) = \ln \frac{F(x)}{1-F(x)} = \beta_0 + \beta_1 x \quad .$$

Lai programma varētu atšķirt un klasificēt attēlus, ir nepieciešams sastādīt apmācības kopu, kurā ir iekļauti neatkarīgu mainīgo vērtības ar atbilstošām izejas funkcijas vērtībām. Melanomu atšķiršanas uzdevuma gadījumā neatkarīgie mainīgie ir pazīmes, ar kuru palīdzību tās izšķir: asimetrija, malas, krāsa, izmērs. Katrai pazīmei ir savs svars atbilstoši tās vērtības svarīgumam melanomas definēšanā.

Apmācības kopas sastādīšanai ir iespējamas 2 pieejas: veidot apmācību uz melanomas gadījumiem un uz ne-melanomas (labvēlīgiem veidojumiem) gadījumiem. Melanomas gadījumu apmācība ir apgrūtināta ar to, ka projektā nav pieejams pietiekošs datu apjoms, bet ir iespējams veikt datu modelēšanu, aprakstot dažādas pazīmju vērtību kombinācijas. Savukārt, projektā ir pieejams pietiekoši liels datu apjoms labvēlīgu veidojumu gadījumiem. Un, ievērojot, ka šajā algoritmā ir aprakstīta arī *logit* funkcija, kas tieši nosaka “aplamus” gadījumus, tad, balstoties uz to, būtu iespējams veikt apmācību.

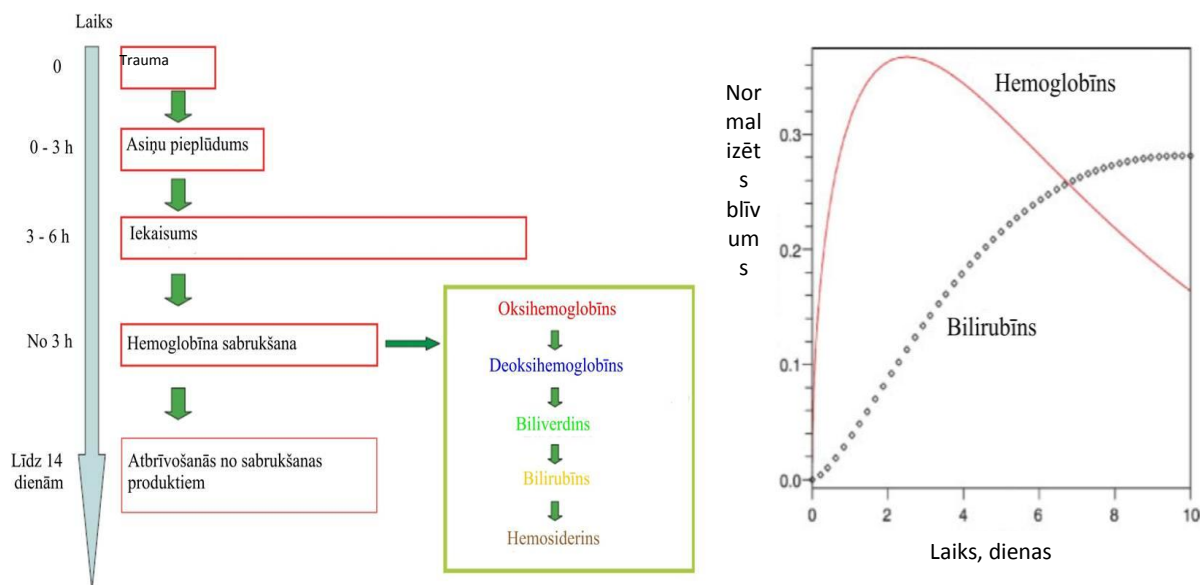
6 Bilirubīna un hemoglobīna neinvazīva kartēšana ādas hematomās, izmantojot hiperspektrālo attēlošanu

Tika izveidots jauns modelis bilirubīna un hemoglobīna neinvazīvai kartēšanai ādas hematomās, izmantojot hiperspektrālo attēlošanu. Modelis tika eksperimentāli aprobēts 5 ādas hematomām un to attīstībai laikā, novērtējot hemoglobīna un bilirubīna relatīvo koncentrāciju izmaiņas vairāku dienu (līdz pat 2 nedēļu) laikā pēc traumas.

6.1 Literatūras apskats

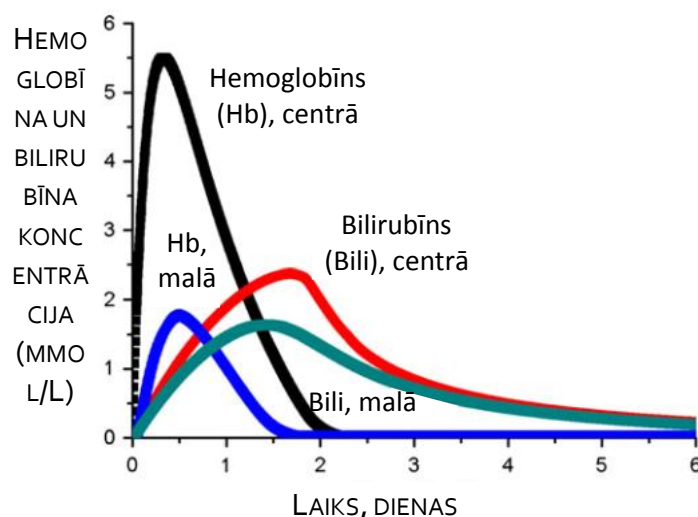
Šis pētniecības virziens ir nozīmīgs un interesants trīs būtiskākajiem pielietojumiem: vienkārša, ātra un uzticama metode neinvazīvam bilirubīna monitoringam jaundzimušajiem (laicīgai jaundzimušo dzeltes atklāšanai, kā arī vēlāk tās attīstības monitoringam), objektīvs ādas hematomas vecuma novērtējums, kas ir būtiski tiesu medicīnā, kur joprojām hematomu vecumu pārsvarā nosaka vien ar subjektīvu vizuālu novērtējumu, kā arī diabēta diagnostikā un monitoringā. Šajā pētniecības virzienā galvenokārt pētījumus veikušas divas pētnieku grupas: Tronheimas Universitātē Norvēģijā (*Lise L. Randeberg*) un Amsterdamas Medicīniskajā centrā Nīderlandē (*Barbara Stam*).

Attēlā 6.1a shematiski attēloti bioķīmiskie un fizioloģiskie procesi, kādi notiek pēc tam, kad āda ir tikusi traumēta. Ādas hematoma rodas pēc ādas virsmas traumas, kā rezultātā tiek bojātas kapilāru sienas un asinis nonāk apkārtējos audos. Sākotnēji rodas iekaisuma reakcija, kuras laikā notiek neitrofilu un makrofāgu rekrutēšana, kuri tālāk ierosina eritrocītu sagraušanu un hemoglobīna atbrīvošanos bojājuma vietā. Tas, savukārt, ierosina hēma oksigenāzes sistēmu, kas šķel hemoglobīnu, kā rezultātā bojājuma vietā rodas hemosiderīns un bilirubīns, kas rada dzeltenīgo nokrāsu vairākas dienas vecā ādas hematomā. *Lise L. Randeberg* veica pētījumu, kurā noteica ādas biezumu un ieguva atstarotās gaismas spektru veselai ādai un ādas hematomai. Pielietojot vienkāršotu difūzijas aproksimāciju asiņu plūsmas, hemoglobīna transporta dermā, kā arī bilirubīna transporta un veidošanās dermā modelēšanai, tika iegūtas normalizētas hemoglobīna un bilirubīna blīvuma vērtību izmaiņas laikā (attēls 6.1b). Salīdzinot eksperimentāli iegūtos atstarotās gaismas spektrus ar modelētajiem datiem, šādā veidā bija iespējams noteikt ādas hematomas vecumu [1–3].



Att.6.1. a) Shematisks bioķīmisko un fizioloģisko procesu attēlojums pēc ādas traumas;
b) Modelētas bilirubīna un hemoglobīna blīvuma izmaiņas laikā pēc traumas [1].

Barbara Stam turpināja šo darbu un paplašināja iepriekš minēto vienas dimensijas analītisko difūzijas modeli ar trīsdimensiju skaitliskiem modeļiem, iekļaujot modelī arī Mihaela-Mentena enzīmu kinētiku [4], tādējādi modelējot arī hemoglobīna transformāciju bilirubīnā, kā arī papildinot modeli ar hemoglobīna un bilirubīna difūziju visos virzienos. Trīs slāņu (dermas augšējais slānis, dermas apakšējais slānis un zemādas slānis) ādas modelis sastāvēja no 100x100 nodalījumiem, kur hemoglobīns tika lokalizēts zemādas slānī un konvertēts bilirubīnā, izmantojot Mihaela-Mentena kinētisko vienādojumu. Modeļa ietvaros abas hromoforas var brīvi migrēt gan slāņa ietvaros, gan arī starp slāņiem. Šī pieeja ļāva modelēt hemoglobīna un bilirubīna koncentrāciju izmaiņas ādas hematomā gan laikā, gan arī telpā (attēls 6.2) [5].



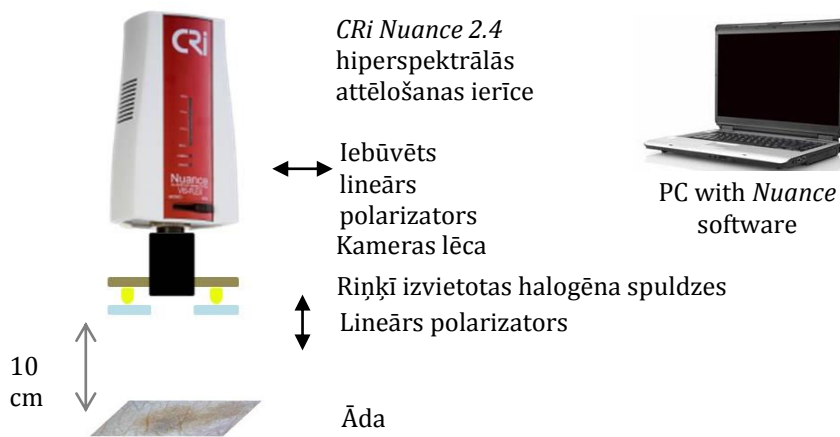
Att.6.2. Modelētie rezultāti bilirubīna un hemoglobīna koncentrāciju izmaiņām laikā ādas hematomas centrā, kā arī 8mm attālumā no centra [5].

Kaut arī citas pētnieku grupas jau ir izstrādājušas dažādus analītiskos modeļus ādas hematomas vecuma novērtējumam, ir svarīga vienkāršāku un pieejamāku ierīču un metožu izstrāde, kas,

vēlams, neprasītu lielu skaitļošanas jaudu, kā arī izmeklējums būtu veicams ar vienkāršu un pieejamu ierīci, piemēram, RGB attēlošanas kameru (tai skaitā viedtālruņa kameru). Tāpat nozīmīgi būtu pilnveidot un attīstīt arī hiperspektrālās attēlošanas metodoloģiju.

6.2 Eksperimentālais stends

Hemoglobīna un bilirubīna sadalījuma un koncentrāciju izmaiņas dažādās ādas hematomas attīstības fāzēs laikā tika pētītas, izmantojot hiperspektrālās attēlošanas sistēmu 450-750nm (ar spektrālo izšķirtspēju 10nm) spektra diapazonā, kas sastāvēja no hiperspektrālās attēlošanas ierīces *CRi Nuance 2.4* [6], pašu izveidota gaismas avota, kas sastāv no 3 riņķī izvietotām halogēna spuldzēm, gaismas avotam priekšā novietota lineāra polarizatora, lai mazinātu spoguļatstarošanos no ādas virsmas [7], kā arī datora ar *Nuance* programmatūru, ar kuru tika iegūtas optiskā blīvuma (*OD*) vērtības, izmantojot balta papīra referenci uz ādas krītošās gaismas intensitātes $I_0(\lambda)$ iegūšanai (attēls 6.3).



Att.6.3. Hiperspektrālās attēlošanas eksperimentālais stends ādas mērījumiem.

Tika piedāvāts modelis, kas ietver četru hromoforu absorbciju ādā: oksihemoglobīna (*OHb*), deoksihemoglobīna (*DOHb*), melanīna (*Mel*) un bilirubīna (*Bili*):

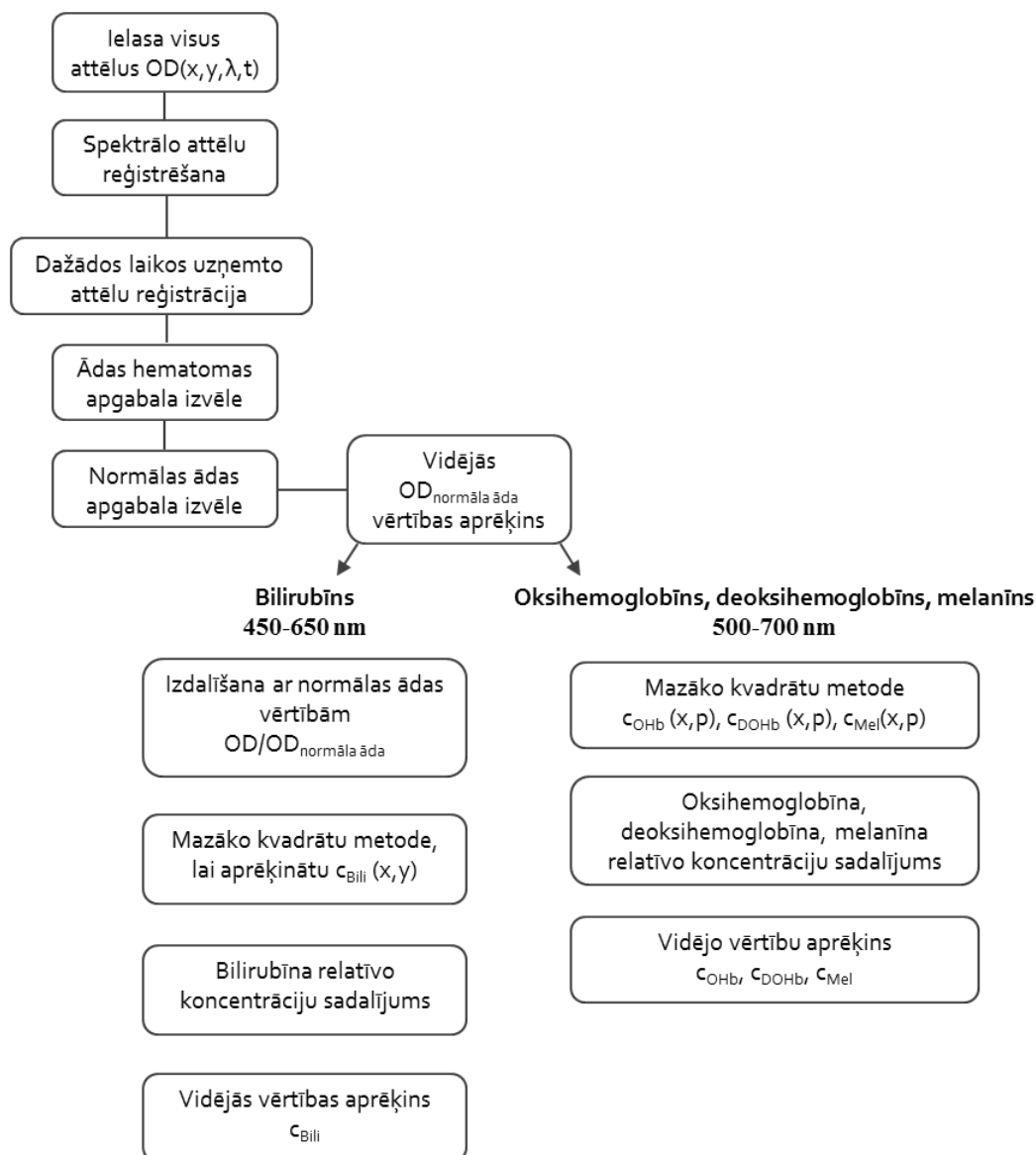
$$OD_{\lambda} = \varepsilon_{OHb} \cdot C_{OHb} + \varepsilon_{DOHb} \cdot C_{DOHb} + \varepsilon_{Mel} \cdot C_{Mel} + \varepsilon_{Bili} \cdot C_{Bili} \quad (1)$$

kur C_{OHb} , C_{DOHb} , C_{Mel} un C_{Bili} ir attiecīgās hromoforas relatīvās koncentrācijas vērtība, kas atkarīga gan no hromoforas koncentrācijas c , gan arī no attāluma l , kādā attiecīgā spektra diapazona starojums iespiežas audos: $C = c \cdot l$. Tā kā gan OD , gan ε vērtības ir atkarīgas no viļņa garuma, šo modeli var aprakstīt ar lineāru vienādojumu sistēmu, kas jāatrisina, lai iegūtu relatīvo koncentrāciju vērtības:

$$\begin{pmatrix} \varepsilon_{OH,450} & \varepsilon_{DOH,450} & \varepsilon_{Mel,450} & \varepsilon_{Bil,450} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \varepsilon_{OH,750} & \varepsilon_{DOH,750} & \varepsilon_{Mel,750} & \varepsilon_{Bil,750} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} C_{OH} \\ C_{DOH} \\ C_{Mel} \\ C_{Bil} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} OD_{450} \\ \vdots \\ \vdots \\ OD_{750} \end{pmatrix} \quad (2)$$

Spektrālo attēlu apstrāde un analīze tika veikta programmatūras *Matlab* vidē. Tika izstrādāts jauns divu soļu algoritms ādas hromoforu relatīvo koncentrāciju novērtējumam, tas shematiski parādīts attēls 6.4. Tā kā vienas un tās pašas ādas hematomas novērtējums tika veikts dažādos laikos pēc tās

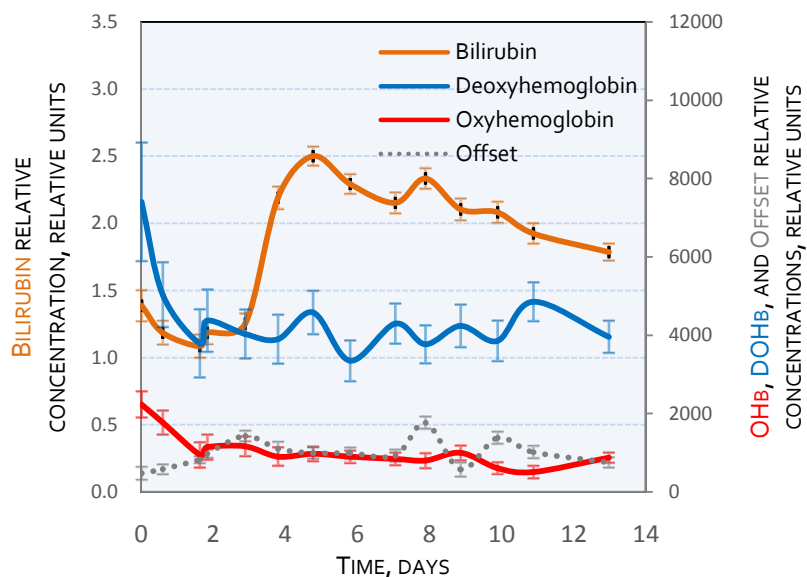
iegūšanas, sākotnēji tika veikta visu dažādos laikos uzņemto attēlu savietošana. Tāpat tika veikta arī spektrālo attēlu savietošana viena mērījuma ietvaros, lai novērstu cilvēka kustību radītās nobīdes, uzņemot dažādos spektrālos attēlus vienu pēc otra. Tas tika darīts ar attēlu reģistrēšanas algoritmiem *Matlab* vidē. Pēc tam tika izvēlēts normālas ādas apgabals ārpus ādas hematomas robežām, lai iegūtu OD vērtības normālai ādai. No visiem spektrālajiem attēliem tika izgriezts tikai ādas hematomas apgabals, kas izmantots turpmākai analīzei. Tālāk algoritms tika veidots divās daļās: viens algoritms bilirubīna novērtēšanai un kartēšanai 450-650nm spektra diapazonā, savukārt otrs - oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna novērtēšanai un kartēšanai 500-700nm diapazonā. Tas tika darīts, jo spektra diapazonā no 450-500nm gan bilirubīna, gan hemoglobīna absorbcija ir augsta, pie tam hemoglobīna absorbcija ir apmēram 10 reizes augstāka. Bilirubīna novērtēšanai ādas hematomas attēlu OD vērtības sākotnēji tika izdalītas ar normālas ādas OD_{norm} vērtībām, lai samazinātu hemoglobīna un melanīna absorbcijas ietekmi. Mazāko kvadrātu regresijas analīze tika veikta, lai aprēķinātu bilirubīna relatīvās koncentrācijas vērtības katrā attēla pikselī, iegūstot bilirubīna sadalījuma kartes. Izmantojot mazāko kvadrātu regresijas analīzi, tika iegūtas arī oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un melanīna relatīvo koncentrāciju vērtības un to sadalījumu kartes. No visu četru hromoforu relatīvo koncentrāciju kartēm tika aprēķināta vidējā relatīvās koncentrācijas vērtība no visa ādas hematomas apgabala un apskatītas šīs vidējās vērtības izmaiņas laikā katras hromoforas gadījumā.



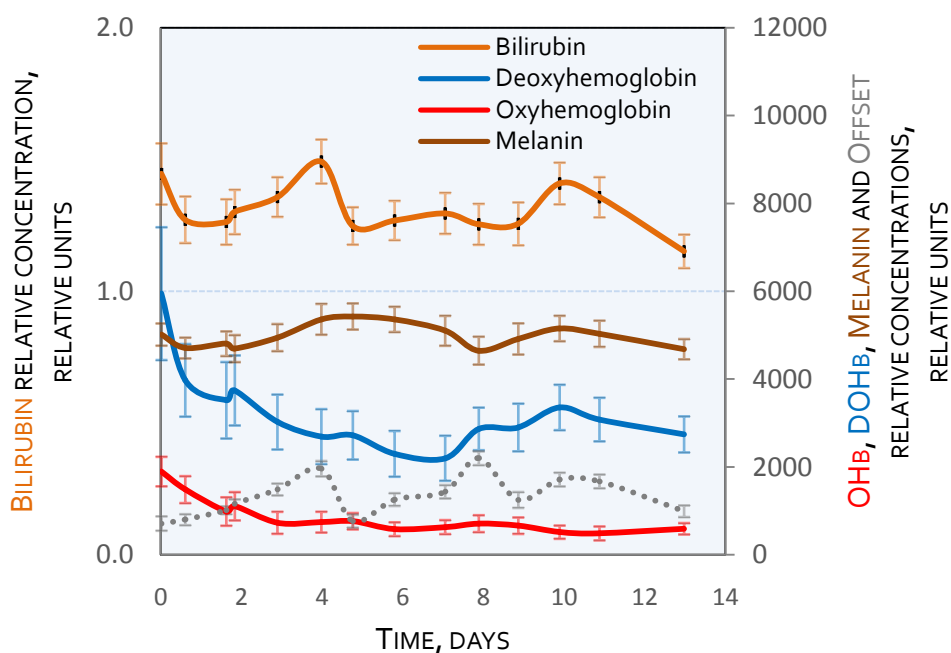
Att.6.4. Algoritma blokshēma.

6.3 Rezultāti

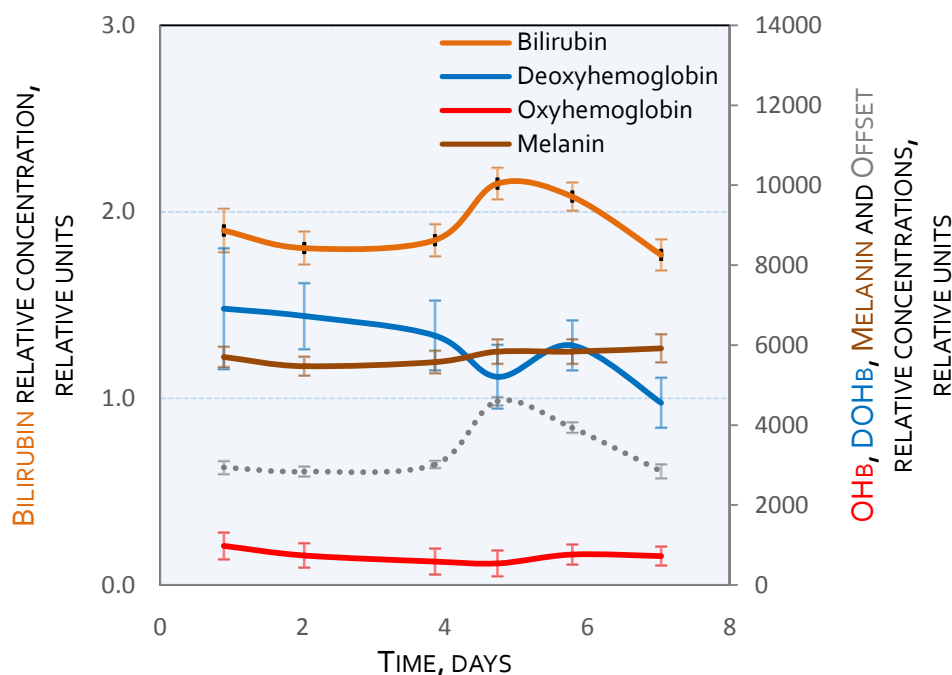
Lai eksperimentāli aprobētu uzlaboto divu soļu algoritmu (4.attēls), tika veikts pētījums, kurā tika speciāli radītas ādas hematomas 2 brīvprātīgajiem, kuri deva rakstisku piekrišanu šādam eksperimentam. Tika radītas 5 ādas hematomas, izmantojot peintbola pistoli (bumbiņas izšaušanas ātrums ~45m/s, distance starp pistoli un ādas virsmu 2m, plastmasas bumbiņas diametrs 2cm). Ādas hematomas tika radītas uz divu sieviešu (25 un 26 gadi, 2. ādas tips) augšstilbiem. Piemēri oksihemoglobīna, deoksihemoglobīna un bilirubīna relatīvo koncentrāciju izmaiņām ādā trim šādi iegūtu ādas hematomu gadījumā parādīti attēlos 6.5, 6.6 un 6.7.



Att.6.5. Hromoforu relatīvo koncentrāciju izmaiņas ādas hematomas (sieviete, 26 gadi, 2. ādas tips, ādas hematoma uz augšstilba) dažādās attīstības stadijās.



Att.6.6. Hromoforu relatīvo koncentrāciju izmaiņas ādas hematomas (sieviete, 26 gadi, 2. ādas tips, ādas hematoma uz augšstilba) dažādās attīstības stadijās.



Att.6.7. Hromoforu relatīvo koncentrāciju izmaiņas ādas hematomas (sieviete, 25 gadi, 2. ādas tips, ādas hematoma uz augšstilba) dažādās attīstības stadijās.

Līdzīgi kā augstāk redzamajos piemēros maksimālā bilirubīna relatīvās koncentrācijas vērtība visu 5 ādas hematomu gadījumā tika sasniegta 4 līdz 6 dienu laikā pēc to rašanās: vienai brīvprātīgajai 4. līdz 5. dienā (apskatot 3 ādas hematomas), savukārt otrai brīvprātīgajai 5. līdz 6. dienā (apskatot 2 ādas hematomas). Gan oksihemoglobīna, gan deoksihemoglobīna relatīvo koncentrāciju vērtības samazinās pirmo divu dienu laikā kopš ādas hematomas rašanās, kas arī tika sagaidīts. Melanīna relatīvā koncentrācija, izmantojot uzlaboto divu soļu algoritmu, saglabājas apmēram nemainīga dažādās ādas hematomas attīstības stadijās, kas arī tika sagaidīts.

6.4 Secinājumi

Tika veikts pētījums vienlaicīgai ādas hemoglobīna un bilirubīna novērtēšanai ādas hematomās, pielietojot hiperspektrālās attēlošanas metodi:

- Tika izmantoti algoritmi hiperspektrālo attēlu savietošanai, lai novērstu cilvēka kustību radītos artefaktus un vienas, kā arī vienas un tās pašas ādas hematomas dažādos laika momentos uzņemtos attēlu masīvus savstarpēji salīdzinātu;
- Tika izveidots modelis bilirubīna, hemoglobīna un melanīna absorbcijas ādā novērtēšanai, lai vienlaicīgi noteiktu šo hromoforu relatīvo koncentrāciju vērtības katrā attēla pikselī;
- Tika izstrādāts uzlabots divu soļu algoritms, lai labāk atšķirtu hemoglobīna un bilirubīna relatīvās koncentrācijas ādas hematomās;
- Ar izstrādāto modeli iespējams novērtēt hemoglobīna un bilirubīna relatīvo koncentrāciju izmaiņas ādas hematomās. Šī pētījuma rezultāti parāda, ka maksimālā bilirubīna relatīvā koncentrācija tiek sasniegta 4 līdz 6 dienu laikā pēc traumas iegūšanas, savukārt hemoglobīna koncentrācija ir vislielākā uzreiz pēc traumas, kas arī tika sagaidīts.

7 Fluorescences izmantošana elektroforēzes un sonoforēzes iedarbības ilglaicīgai novērošanai dzīvos audos

Elektroforēze un sonoforēze tiek uzskatīta par daudzsoļu alternatīvu un drošu citām tradicionālām metodēm gēnu terapijas veikšanā, kuru viens no mīnusiem ir toksicitāte. Tomēr abas šīs metodes joprojām ir izpētes stadijā. Iepriekšējos pētījumos tika demonstrēts, ka abu terapijas metožu novērtēšanai neinvazīvā veidā ir izmantojama fluorescences spektroskopija un spektrālā attēlošana, novērojot zaļā fluorescējošā proteīna ievadīšanas efektivitāti dzīvās šūnās.

Iepriekšējos mērījumos tika testēta dažādu elektroporācijas un sonoporācijas parametru un to kombināciju izmantošana gan normāliem audiem, gan arī ļaundabīgu audzēju terapijai, mērījumi tika veikti pirms un īslaicīgi pēc terapijas pielietošanas. Lai novērtētu fluorescences izmantošanu efektu ilglaicīgai novērtēšanai/monitoringam, tika veikta mērījumu sērija gada garumā dzīviem audiem. Iegūtie rezultāti parāda, ka minētā fluorescences tehnika var tikt izmantots kā efektīgs un neinvazīvs veids terapijas efektivitātes ilglaicīgai novērtēšanai, tādējādi samazinot biopsiju nepieciešamību. Sīkāks ieskats iegūtajos rezultātos rodams Pielikumā Nr.3.

8 Difūzās atstarošanās un autofluorescences spektrālās attēlošanas izmantošana atipisku pigmentētu ādas veidojumu izšķiršanai

Dermatoloģijā ir interese par agrīnu ļaundabīgu ādas veidojumu diagnozi, jo daudzi diagnosticētie ādas vēža gadījumi ir jau vēlā attīstības stadijā. Atipiskie nēvusi netiek uzskatīti par ļaundabīgiem ādas veidojumiem, tomēr no tiem nākotnē var attīstīties ādas vēzis, tāpēc ir regulāri jāuzrauga, jo īpaši pacientiem, kuriem iepriekš diagnosticēti ļaundabīgi ādas veidojumi. Atipisku ādas veidojumu izšķiršana no citiem ādas veidojumiem un arī parametrizēšana, regulāri novērojot, varētu būt noderīga agrīnai ādas vēža diagnositikai.

Projekta laikā tika veikta 75 brīvprātīgo pacientu izmeklēšana, uzņemot 90 pigmentētu ādas veidojumu spektrālos attēlus (skatīt iepriekšējos projekta pārskatus). Tā kā mērījumos ar dzīviem cilvēkiem jāņem vērā daudzi blakus faktoriem, piem., ķermeņa kustībām, nepacietību, kas ietekmē iegūto rezultātu, tad tālākai datu apstrādei tika izvēlēti 47 pigmentēti ādas veidojumi – 26 atipiski un 21 parasts labdabīgs nēvuss.

Difūzās atstarošanās un autofluorescences spektrālās attēlošanas datu analīzē tika veikta attēlu reģistrācija, interešu reģiona izdalīšana, pigmentēto ādas veidojumu segmentācija un vidējo vērtību un to variācijas jeb standartnovirzes novērtēšana katram spektrālām kanālam. Rezultātā katram ādas veidojumam tika iegūts optiskā blīvuma spektrs un tā variācijas vērtības katrā spektra kanālā (kopā 51 spektrālais kanāls), kā arī autofluorescences intensitātes spektrs un tā variācijas vērtības katrā spektra kanālā (kopā 23 spektrālie kanāli). Iegūtās vērtības tika izmantotas tālākai analīzei, lai novērtētu iegūto parametru izmantojamību atipisku nēvusi izdalīšanai no citiem labdabīgiem pigmentētiem veidojumiem.

Labākais rezultāts tika iegūts fluorescences datiem, kur tika novērota nozīmīga atšķirība parametru vērtībās starp atipiskiem nēvusiem un citiem pigmentētiem ādas veidojumiem – 62% jutība un 67% specifika. Difūzi atstarotās gaismas datus nebija novērojama atšķirība starp abām veidojumu klasēm. To varētu skaidrot ar neveiksmīgu maketierīces konstrukciju – netika izmantoti polarizatori tieši atstarotās gaismas nofiltrēšanai, kas varētu ietekmēt rezultātu, kā arī mērījuma laiks bija pārāk

ilgs (7...500 ms viena monohroma attēla uzņemšanai no 51 nepieciešamā) kvalitatīvu rezultātu iegūšanai. Minētās nepilnības plānots novērst jaunveidojamajā maketierīcē.

Minētā pētījuma rezultāti tika prezentēti 3rd International Conference on BioPhotonics 2015, kas notika 20.-22. maijam Florencē, Itālijā. Referāta nosaukums „Benign – atypical nevi discrimination using diffuse reflectance and fluorescence multispectral imaging system”; pēc konferences sagatavots arī raksts publicēšanai konferences rakstu krājumā, kur var rast dziļāku ieskatu pētījuma rezultātus, skatīt Pielikumu Nr.4.

9 Abdominālo un nieru sīnusu taukaudu segmentēšana datortomogrāfijas (DT) attēlos

Pabeigts pētījums par datortomogrāfijas attēlu apstrādi taukaudu segmentēšanai un tilpuma novērtēšanai. Izstrādāta un aprobēta metode, kas nodrošina pietiekami precīzu un atkārtojamu taukaudu objektu tilpumu noteikšanu. Materiāli par pētījumu pievienoti Pielikumā Nr.5.

10 Secinājumi

Pārskata periodā veiktā darba rezultātā izdarīti šādi secinājumi, kas tiks ņemti vērā turpmākajā pētnieciskajā darbā:

- Izstrādātās un periodā uzlabotās maketierīces pielietošanas iespējas turpmāk jāpēta klīnikas apstākļos, ar tās palīdzību iegūstot ādas veidojumu attēlus paralēli ar klīnikā jau izmantoto aparāturu. Jāveido ar iekārtas palīdzību iegūto multimodālo attēlu bāze, ko varēs izmantot ādas veidojumu apstrādes metožu pārbaudēm, tajā jāfiksē arī histoloģisko izmeklējumu rezultāti.
- Balstoties uz maketierīces pielietošanas praksi klīnikā, jāpilnveido tās vadības un attēlu apstrādes algoritmi.
- Jāattīsta zināšanu un tehnoloģiskā bāze mākslīgo neironu tīklu izmantošanai attēlu apstrādei. Jāpēta iespējas izmantot šo pieeju ne tikai uzsāktajos virzienos, bet arī citu biomedicīnisku attēlu apstrādes uzdevumu risināšanai.

11 Literatūras saraksts

- [1] Randeberg LL, Haugen O., Haaverstad R, Svaasand LO. “A novel approach to age determination of traumatic injuries by reflectance spectroscopy.” *Lasers Surg. Med.* 38(4), 277–289 (2006).
- [2] Randeberg LL, Winnem AM, Blindheim S, Haugen O a., Svaasand LO. “Optical classification of bruises.” 5312, 54–64 (2004).
- [3] Randeberg LL, Winnem AM, Langlois NE, et al. “Skin changes following minor trauma.” *Lasers Surg. Med.* 39(5), 403–413 (2007).
- [4] Atkins P, de Paula J. “Physical Chemistry for the Life Sciences.” OUP Oxford (2011).
- [5] Stam B, Van Gemert MJC, Van Leeuwen TG, Aalders MCG. “3D finite compartment modeling of formation and healing of bruises may identify methods for age determination of bruises.” *Med. Biol. Eng. Comput.* 48(9), 911–921 (2010).
- [6] “User’s Manual for Nuance 2.10.” , 148 (2008).
- [7] Demos SG, Alfano RR. “Optical polarization imaging.” *Appl. Opt.* 36(1), 150–155 (1997).

Pielikums

Nr.1.

**Mobileplatformforonlineprocessingofmultimodalskinopticalima
ges.**

Pielikums Nr.2. Publicētais patenta pieteikums.

Pielikums Nr.3. Fluorescence technique for monitoring of electroporation and sonoporation long term effects in living tissue

Either electroporation (EP) or sonoporation (SP) alone has become an attractive new strategy for the gene therapy, in part because of minimal toxicity and an excellent safety profile when compared to conventional gene transfection methods such as virus vectors. However, the efficiency of the gene transfection using electroporation or sonoporation alone is insufficient and it remains the main drawback for further development of these methods for clinical trials.

In our previous work we demonstrated that electroporation and sonoporation parameters could be varied to increase the green fluorescent protein (GFP) transfection efficiency into mice *tibialis cranialis* muscle. Further to increase the GFP expression levels we investigated the applicability of electrosonoporation. From experimental and clinical practice, the disease targeting arsenal often includes strategies based on synergistic (or additive) interactions of two therapeutic modalities, like electroporation and sonoporation that have been combined here. Taking into account that both electroporation and sonoporation induce pores in the plasma membrane we naturally assume that used in combination these methods can result in an increased efficiency of plasmid DNA delivery. Using GFP coding plasmid, this effect has been only investigated *in vitro* [Escofre et al. Ultrasound in Med. Biol. Vol. 36(10), 2010] demonstrating the synergism of GFP transfection by electrosonoporation. In this study, we were the first to reveal the electrosonoporation effect *in vivo* using GFP coding plasmid.

Based on our previous data, the optimal exposure parameters for electrosonoporation were investigated by applying various types of electric pulses (HV-high voltage or LV- low voltage) in combination with sonoporation. In Fig. 1 we show 1-year fluorescence pharmacokinetics of GFP in all these electrosonoporated groups, based on our previous work where we demonstrated the suitability of fluorescence spectroscopy and multispectral imaging for non-invasive quantification of GFP transfection efficiency.

As expected before the experiment, when the couple of different therapy methods are added one should achieve the summation or even synergistic results of the therapy. However, combining both electric pulses and ultrasound for the muscle gene therapy, the electrosonoporation was not the way to enhance the number of GFP positive fibers as well as to increase the amounts of GFP produced in muscle. In opposite, all the combinations of electrosonoporation suppressed the GFP transfection levels, and we clearly prove it with our experimental data (Fig. 1). However, our results may indicate the synergistic increase in cytotoxicity of electrosonoporation, e.g. the increased damage to the muscle fibers produced by combining both electric pulses and ultrasound.

The diffuse reflectance method was further applied as the non-invasive way to prove the damage of muscle fibers produced by electrosonoporation. Diffuse reflectance allows estimating the absorption properties of the tissue. When muscle necrosis happens, it is always accompanied with the extensive hemorrhages. So the diffuse reflectance data could provide quantitative estimation of muscle hemoglobin content, e.g. 24 hr. post electrosonoporation and to compare it with the control levels of hemoglobin before muscle treatment. Within a frame of this project, the successive electrosonoporation experiment was performed under the same electric pulse and ultrasound conditions (as in Fig. 1) and the diffuse reflectance spectra were measured before, immediately after and 24 hr. after muscle electrosonoporation treatment. Currently the data is under processing.

In conclusion, our investigations lead to the optical diagnostic strategies (fluorescence spectra point measurements and multispectral imaging) for gene transfection efficiency quantification and also are expected to provide the information on tissue viability state after electrosonoporation by applying diffuse reflectance spectroscopy.

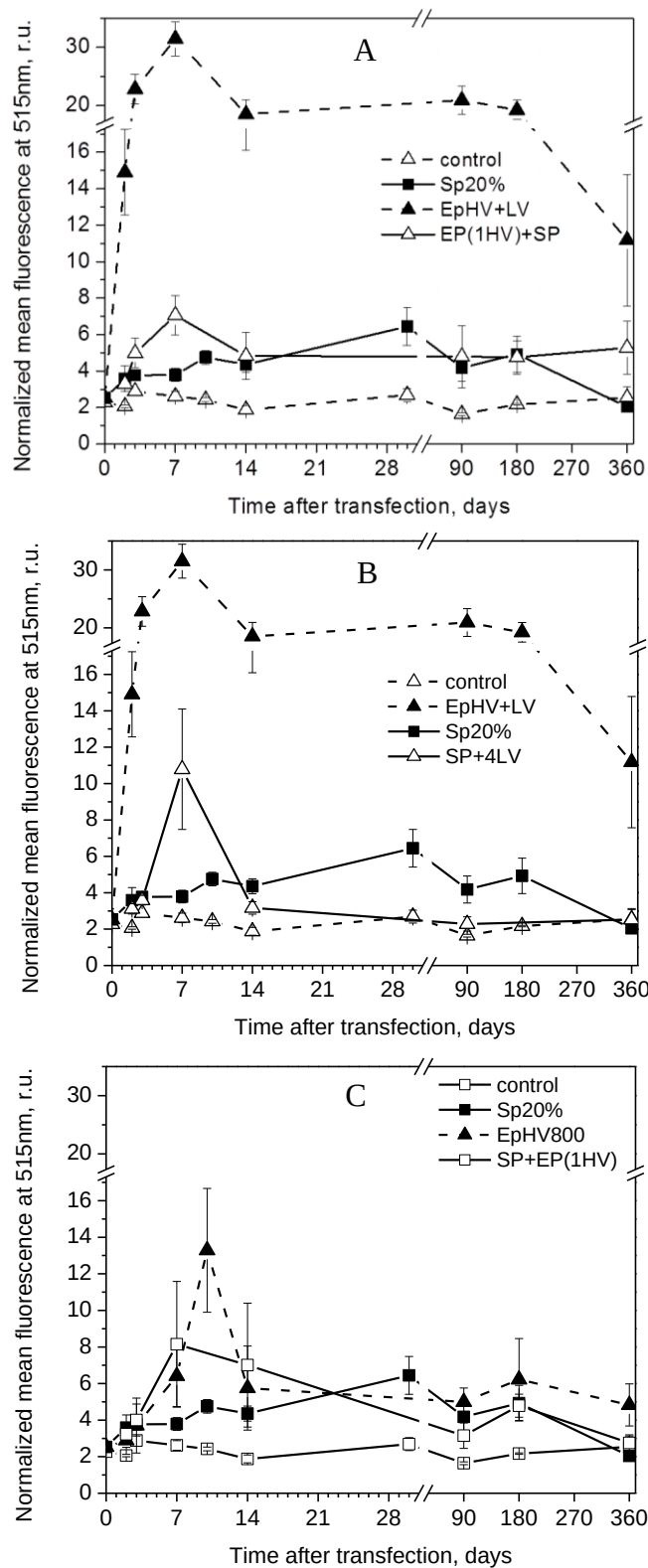


Fig.1. Comparison of 1-year GFP transfection levels in *tibialis cranialis* muscle after electroporation, sonoporation and electrosonoporation. a) electrosonoporation produced by substitution of 4LV electric pulses with sonoporation; b) electrosonoporation produced by substitution of 1HV electric pulse with sonoporation; c) electrosonoporation produced by successive application of sonoporation and 1HV pulse (in comparison to Fig.1a, Fig.1c reveals the result for the reverse order application of electric pulse and ultrasound).

As it is shown in Fig. 1a and Fig. 1b, the most efficient transfection of GFP plasmid was achieved by electroporation, using combination of 1HV pulse (amplitude 800 V/cm, length of 100 μ s) and 4LV LV (80 V/cm; 100 ms; 1 Hz) pulses. Muscle GFP transfection by using sonoporation (2 W/cm²; 20% ultrasound duty cycle and 5 min application) resulted in much lower GFP expression levels in a whole 1 year period.

The first strategy for electrosonoporation was the substitution of either 4LV pulses by sonoporation (Fig.1a) or 1HV pulse by sonoporation (Fig.1b). Both electrosonoporation protocols resulted in a significant decrease of GFP transfection levels in comparison to electroporation (1HV+4LV) results.

The second strategy for electrosonoporation was combination of 1 HV electric pulse (800 V/cm; 100 μ s) with sonoporation (Fig. 1c). Considering the long time transfection, both methods are capable to induce the comparable amounts of GFP *in situ*. However, our data show that the successive application of sonoporation and electroporation could not increase the transfection levels of GFP.

Pielikums Nr.4. Benign – atypical nevi discrimination using diffuse reflectance and fluorescence multispectral imaging system

Pielikums Nr.5. Abdominālo un nieru sīnusu taukaudu segmentēšana datortomogrāfijas (DT) attēlos

**Pielikums Nr.6. RegistrationMethodforMultispectralSkinImages
(publicēts konferences MAREW 2015 rakstu krājumā)**

Pielikums

Nr.7.

**Method for registration of multispectral skin images (konferences
DOC 2015 prezentācijas kopsavilkums)**