

**ΔΙΑΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ – ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ
ΣΠΟΥΔΩΝ «ΙΑΤΡΙΚΗ ΦΥΣΙΚΗ - ΑΚΤΙΝΟΦΥΣΙΚΗ»**

Τμήμα Ιατρικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Τμήμα Φυσικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Τμήμα Ιατρικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης

Τμήμα Ιατρικής του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης

Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης

Ανάλυση οπτικών ιδιοτήτων δέρματος με Οπτική Τομογραφία Συνοχής

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Βαράκα Μαρία

Επιβλέπων : Κουρκουμέλης Νικόλαος, Αναπλ. Καθ. Ιατρικής Φυσικής - Βιοφυσικής,
Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Συνεπιβλέπουσα : Βαρδάκη Μάρθα, Μεταδιδακτορική ερευνήτρια, Ιατρική Φυσική,
Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων



ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2021

Τριμελής εξεταστική επιτροπή

Κουρκουμέλης Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Φυσικής - Βιοφυσικής,
Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Εμφιετζόγλου Δημήτριος, Καθηγητής Ιατρικής Φυσικής - Ακτινοφυσικής, Τμήμα
Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Αστρακάς Λουκάς, Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Φυσικής, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Στη γιαγιά μου,

Φωτεινή

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Κατάλογος εικόνων.....	σελ.7
Κατάλογος Διαγραμμάτων.....	σελ.10
Κατάλογος Πινάκων.....	σελ.11
Ευχαριστίες.....	σελ.12
Περίληψη.....	σελ.13
Abstract.....	σελ.15
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ (Α).....	σελ.16
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : Οπτική Τομογραφία Συνοχής (OCT).....	σελ.16
1.1 Εισαγωγή.....	σελ.16
1.2 Αρχή λειτουργίας OCT.....	σελ.18
1.3 Φαινόμενα συμβολής στην τεχνική OCT.....	σελ.22
1.4 Speckle noise.....	σελ.23
1.5 OCT και άλλες τεχνολογίες.....	σελ.24
1.6 Βάθος διείσδυσης ακτινοβολίας στην τεχνική OCT.....	σελ.26
1.7 Εγκάρσια και αξονική διακριτική ικανότητα.....	σελ.28
1.8 Μείωση των artifacts στην 3D-OCT απεικόνιση του δέρματος in vivo.....	σελ.32
1.9 Λόγος σήματος προς θόρυβο (SNR) και Ευαισθησία (S).....	σελ.36
1.10 Πηγές φωτός στα απεικονιστικά συστήματα OCT.....	σελ.37
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : Οπτικές ιδιότητες ιστών.....	σελ.38
2.1 Εισαγωγή.....	σελ.38
2.2 Απορρόφηση.....	σελ.40
2.3 Σκέδαση.....	σελ.42
2.4 Συνάρτηση σκέδασης $\rho(\theta)$ και παράγοντας ανισοτροπίας (g).....	σελ.45
2.5 Ανηγμένος συντελεστής σκέδασης (μ_s').....	σελ.46
2.6 Ο δείκτης διάθλασης (n) του μέσου απορρόφησης.....	σελ.48

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : Δέρμα.....	σελ.49
3.1 Η ανατομία του δέρματος.....	σελ.49
3.2 Οπτικές ιδιότητες δέρματος.....	σελ.51
3.2.1 Συντελεστής απορρόφησης (μ_a) και ανηγμένος συντελεστής σκέδασης (μ_s').....	σελ.51
3.2.2 Δείκτης διάθλασης (n) και ανισοτροπία (g).....	σελ.54
3.3 Μοντέλα περιγραφής ανιχνευόμενου σήματος OCT.....	σελ.57
3.3.1 Single – scattering model.....	σελ.57
3.3.2 Multiple – scattering model.....	σελ.58
3.3.3 Full electromagnetic wave model.....	σελ.60
BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ – ΜΕΡΟΣ (Α).....	σελ.61
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ (Β).....	σελ.64
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : Υλικά και Μέθοδοι.....	σελ.64
4.1 Ανάλυση εικόνων OCT υγιούς δέρματος και BCC.....	σελ.64
4.2 Ανάλυση εικόνων OCT υγιούς δέρματος ύστερα από τοποθέτηση index matching gel στην επιφάνειά του.....	σελ.68
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : Αποτελέσματα.....	σελ.71
5.1 Αποτελέσματα ανάλυσης εικόνων OCT (I) – Υγιής επιδερμίδα και BCC.....	σελ.71
5.1.1 Στατιστική ανάλυση τιμών ολικού συντελεστή εξασθένησης (μ_{tot}) για υγιές δέρμα και BCC.....	σελ.72
5.2 Αποτελέσματα ανάλυσης εικόνων OCT (II) – Τοποθέτηση index matching gel σε υγιές δέρμα.....	σελ.77
5.2.1 Επίδραση των διαφορετικών gel στο πάχος της επιδερμίδα.....	σελ.79
5.2.2 Επίδραση των διαφορετικών gel στον ολικό συντελεστή εξασθένησης (μ_{tot}).....	σελ.86
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	σελ.90

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....σελ.92
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ – ΜΕΡΟΣ (Β).....σελ.93
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΠΙΝΑΚΩΝ.....σελ.96
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΕΙΚΟΝΩΝ (ΥΓΙΕΣ ΔΕΡΜΑ – ΒCC).....σελ.102
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΕΙΚΟΝΩΝ (ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ GEL ΣΤΟ ΔΕΡΜΑ).....σελ.113

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1: Τυπικές μορφές βασικοκυτταρικούκαρκινώματος σε περιοχές δέρματος (BCC).

Εικόνα 2: Τυπική διάταξη απεικονιστικού συστήματος OCT.

Εικόνα 3: Βασική αρχή λειτουργίας OCT. a) Η low-coherence πηγή ακτινοβολίας συνδυάζεται με ένα συμβολόμετρο Michelson με σκοπό την καταγραφή της συμβολής του ανακλώμενου φωτός από το δείγμα. b) Καταγραφόμενο ιντερφερόγραμμα $I(\tau)$ ως συνάρτηση της διαφοράς μήκους διαδρομής μεταξύ των βραχιόνων του συμβολόμετρου. Η ένταση του σήματος συμβολής εξαρτάται από τη χρονική διαφορά τ μεταξύ του βραχίονα αναφοράς και δείγματος. Το πάχος του δείγματος υπολογίζεται από την απόσταση μεταξύ των δύο μεγίστων. BS: beam splitter, M: mirror, D: detector.

Εικόνα 4: Μέσω του OCT μπορούμε να πάρουμε εικόνες διατομής και εικόνες της τρισδιάστατης δομής ενός δείγματος μετρώντας το χρόνο καθυστέρησης του φωτός. Οι A-scan (axial scan) εικόνες μετρούν την ένταση της οπισθοσκέδασης – ανάκλασης συναρτήσει του βάθους διείδυσης. Οι B-scan (brightness scan) αποτελούν άθροισμα μίας σειράς axial scan εικόνων, ενώ οι 3D εικόνες είναι αποτέλεσμα raster σάρωσης μίας σειράς εικόνων B-scan.

Εικόνα 5: Δημιουργία φωτεινών και σκοτεινών κηλίδων στην τελική εικόνα OCT. Οι κηλίδες αυτές δημιουργούν 'θόρυβο' στην απεικόνιση, γνωστό ως speckle noise.

Εικόνα 6: Σύγκριση διακριτικής ικανότητας και βάθους απεικόνισης μεταξύ των συστημάτων OCT, confocal microscopy (συνεστιακή μικροσκοπία) και υπερήχων. Οι υπέρηχοι που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη μπορούν να απεικονίσουν βαθύτερες δομές όμως χαρακτηρίζονται από χαμηλή διακριτική ικανότητα. Οι υπέρηχοι υψηλών συχνοτήτων πετυχαίνουν καλύτερη διακριτική ικανότητα, όμως δεν μπορούν να διεισδύσουν σε μεγάλο βάθος λόγω εξασθένησης. Η αξονική διακριτική ικανότητα στην απεικόνιση OCT κυμαίνεται από 1-15 μm και προσδιορίζεται από το coherence length της πηγής. Στους περισσότερους βιολογικούς ιστούς το βάθος διείδυσης περιορίζεται στα 2-3 mm λόγω εξασθένησης από την οπτική σκέδαση. Η confocal microscopy έχει διακριτική ικανότητα κάτω από 1 μm , όμως εξαιτίας της οπτικής σκέδασης το βάθος απεικόνισης περιορίζεται σε μερικές εκατοντάδες μm στους περισσότερους ιστούς.

Εικόνα 7: Απεικόνιση OCT με βάση το βάθος διείδυσης της ακτινοβολίας. Σε ιστούς οι οποίοι χαρακτηρίζονται από υψηλό ποσοστό σκέδασης χρησιμοποιούνται μεγάλα μήκη κύματος διότι εξασθενούν λιγότερο. Οι επιφανειακές στιβάδες (g)

απεικονίζονται εξίσου καλά και στα 850 και στα 1300 nm, όμως βαθύτερες στιβάδες ιστού (c) απεικονίζονται καλύτερα στα 1300 nm.

Εικόνα 8: Διάγραμμα αξονικής διακριτικής ικανότητας – εύρους μηκών κύματος της πηγής ακτινοβολίας για μήκη κύματος 800, 1060 και 1300 nm. Η αξονική διακριτική ικανότητα μειώνεται με την αύξηση του εύρους μηκών κύματος, ενώ το εύρος αυξάνεται σημαντικά με την αύξηση του μήκους κύματος.

Εικόνα 9: Ιντερφερόγραμμα για ένα απεικονιστικό σύστημα OCT με low coherence πηγή ακτινοβολίας. Η τελική του μορφή είναι ένα Gaussian διάγραμμα στο οποίο παρατηρείται και το coherence length.

Εικόνα 10: Μεταβολή του coherence length ανάλογα με το εύρος της καμπύλης Gauss του τελικού ιντερφερογράμματος. Όσο μεγαλύτερο είναι το πλάτος της καμπύλης τόσο μικρότερο το coherence length. Η μετάβαση από το φάσμα ακτινοβολίας στην coherence function και αντιστρόφως γίνεται μέσω του μετασχηματισμού Fourier.

Εικόνα 11: Εγκάρσια διακριτική ικανότητα στην απεικόνιση OCT. Στην απεικόνιση OCT χρησιμοποιείται χαμηλό numerical aperture (NA) και η παράμετρος b (confocal parameter) είναι πολύ μεγαλύτερη από το coherence length, ούτως ώστε να παραχθούν εικόνες διατομής του δείγματος. Υψηλό NA οδηγεί σε καλύτερη εγκάρσια διακριτική ικανότητα μειώνοντας όμως το βάθος του πεδίου.

Εικόνα 12: Artifacts έντασης σε απεικόνιση δέρματος με τεχνική OCT. Άνω εικόνα: Artifacts υπό τη μορφή κατακόρυφων γραμμών οι οποίες αυξάνονται με την αύξηση του βάθους. Κάτω εικόνα: En face εικόνα δέρματος και δημιουργία μη γνώριμων χαρακτηριστικών λόγω των artifacts.

Εικόνα 13: Μορφολογική αλλοίωση λόγω του οπτικού μήκους διαδρομής. Το αποτέλεσμα είναι η κατακόρυφη μετατόπιση δομών σε σχέση με την πραγματική τους θέση καθώς και η παραμόρφωσή τους.

Εικόνα 14: Αριστερά: En face εικόνες σε βάθος 1.5 mm από την επιφάνεια του δέρματος. Δεξιά: Εικόνες διατομής από ομοίωμα σιλικόνης με χρήση TiO_2 ως σκεδαστές. (A) Το ομοίωμα είναι εκτεθειμένο στον αέρα. (B) Το ομοίωμα έχει καλυφτεί εξ ολοκλήρου από γλυκερόλη και (C) Το ομοίωμα έχει καλυφτεί από στρώμα τζελ υπερήχων. Η μείωση των artifacts στην ένταση είναι εμφανής κατά τη χρήση γλυκερόλης.

Εικόνα 15: Διαδικασίες απορρόφησης και εκπομπής φωτονίου που διαδίδεται μέσα σε ιστούς.

Εικόνα 16 : Απορρόφηση και αποδιέγερση φωτονίου σε δύο βήματα.

Εικόνα 17: Διάδοση ακτινοβολίας (φωτόνια). Αριστερά: σε υψηλά απορροφητικό μέσο. Δεξιά: σε υψηλά σκεδαστικό μέσο.

Εικόνα 18: Απορρόφηση ακτινοβολίας σε ένα ομοιογενές μέσο σύμφωνα με τον νόμο Lambert-Beer.

Εικόνα 19: Φάσμα απορρόφησης σημαντικών χρωμοφόρων σε ιστούς ανθρώπινου δέρματος ως συνάρτηση του μήκους κύματος ακτινοβολίας.

Εικόνα 20: Ένα γεγονός σκέδασης μπορεί να προκαλέσει αλλαγή στη διεύθυνση του φωτονίου κατά γωνία θ σε σχέση με την αρχική του διεύθυνση

Εικόνα 21: Η ισοδυναμία του $m_{fr}'=1/\mu_s'$ με το $m_{fr}=1/\mu_s$. Έξι βήματα m_{fr} ισοδυναμούν με ένα m_{fr}' . Ως *six* m_{fr} ορίζεται η σειρά των βημάτων.

Εικόνα 22: Η ανατομία του δέρματος.

Εικόνα 23: Εξάρτηση του ανηγμένου συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος για σκέδαση Rayleigh και σκέδαση Mie.

Εικόνα 24: Οι τιμές του συντελεστή ανισοτροπίας (συμπαγής γραμμή) και του δείκτη διάθλασης (διακεκομμένη γραμμή) συναρτηθεί του μήκους κύματος.

Εικόνα 25: Εικόνα OCT από ανθρώπινο δέρμα τοποθετημένο επάνω σε ανακλαστική επιφάνεια. Οι δύο κάθετοι άξονες αντιπροσωπεύουν τα z και z' . Η οριζόντια γραμμή στο πάνω αριστερό μέρος της εικόνας αναφέρεται σε κλίμακα απεικόνισης 500 μ m.

Εικόνα 26: Μεταβολή σήματος OCT συναρτηθεί του βάθους διείδυσης για ιστροπικό ($g=0.1$) (μαύρη γραμμή) και ανιστροπικό δείγμα ($g=0.9$) (κόκκινη γραμμή) για μήκος κύματος 1300 nm. Ο συντελεστής ανισοτροπίας του δείγματος διαμέτρου 0.5 μ m είναι πολύ μικρός, γι' αυτό και προσεγγιστικά το δείγμα θεωρείται ιστροπικό.

Εικόνα 27: Περιοχή ενδιαφέροντος στο εσωτερικό της επιδερμίδας με σκοπό τον προσδιορισμό του συντελεστή μ_{tot} . Με (α) παριστάνεται το εύρος ενώ με (b) το μήκος της περιοχής.

Εικόνα 28 : Τελική μορφή περιοχών ενδιαφέροντος στο εσωτερικό του δέρματος.

Εικόνα 29: Περιοχή ενδιαφέροντος με σκοπό τον προσδιορισμό του πάχους της επιδερμίδας. Με (α) παριστάνεται το εύρος ενώ με (b) το μήκος της περιοχής.

Εικόνα 30: Περιοχές υγιούς δέρματος (μπλε) και BCC (κόκκινο), όπως αυτές εκτιμήθηκαν από εξειδικευμένο δερματολόγο.

Εικόνα 31: Η ανατομία του υγιούς δέρματος.

Εικόνα 32: Χημική δομή των *index matching gel* που τοποθετήθηκαν στο δέρμα: (A) Προπυλεν-γλυκόλη (PG) (MW = 76.09 Da), (B) Βαζελίνη (Vaseline) (MW = 209.28 Da) και (C) Ολεϊκό οξύ (OA) (MW = 282.47 Da).

Εικόνα 33 : Η ανατομία του *stratum corneum*.

Εικόνα 34 : Αναπαράσταση των διαφορετικών τρόπων διάχυσης μίας ουσίας στις στιβάδες του δέρματος. (1) Διαμέσου των κερατινοκυττάρων (*transcellular route*) ή του στρώματος λιπιδίων (*intercellular route*), (2) Διαμέσου των πόρων του δέρματος, (3) Διαμέσου των θυλάκων της τρίχας.

Εικόνα 35 : Διόγκωση του μεσοκυττάριου υδρόφιλου χώρου του *stratum corneum* ύστερα από την τοποθέτηση PG στην επιφάνεια του δέρματος.

Κατάλογος Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1 : Γραφική παράσταση των τιμών Gray value των *pixel* συναρτήσει του βάθους διείσδυσης του φωτός. Τα δεδομένα δείχνουν εκθετική μείωση με αύξηση του βάθους στο εσωτερικό της επιδερμίδας, γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με τον νόμο του Lambert – Beer.

Διάγραμμα 2 : Ιστόγραμμα συχνοτήτων για τον ολικό συντελεστή εξασθένισης σε υγιή επιδερμίδα και BCC.

Διάγραμμα 3: Θηκόγραμμα για τον ολικό συντελεστή εξασθένισης σε υγιή επιδερμίδα και BCC.

Διάγραμμα 4 : Διάγραμμα ποσοστιαίας μεταβολής πάχους υγιούς επιδερμίδας μετά την τοποθέτηση *index matching gel* σε διαφορετικούς χρόνους απεικόνισης, με τιμή αναφοράς το πάχος υγιούς επιδερμίδας χωρίς τοποθέτηση *gel*. Με μπλε χρώμα παρουσιάζεται η μεταβολή σε χρόνο $t = 0 \text{ min}$, ενώ με κόκκινο χρώμα η μεταβολή σε χρόνο $t = 90 \text{ min}$.

Διάγραμμα 5 : Διάγραμμα ποσοστιαίας μεταβολής ολικού συντελεστή εξασθένισης υγιούς επιδερμίδας μετά την τοποθέτηση *index matching gel* σε διαφορετικούς χρόνους απεικόνισης, με τιμή αναφοράς τον συντελεστή υγιούς επιδερμίδας χωρίς τοποθέτηση *gel*. Με μπλε χρώμα παρουσιάζεται η μεταβολή σε χρόνο $t = 0 \text{ min}$, ενώ με κόκκινο χρώμα η μεταβολή σε χρόνο $t = 90 \text{ min}$.

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας I : Τιμές συντελεστή απορρόφησης για τις τρεις στιβάδες του δέρματος στα 1300 nm.

Πίνακας II : Εύρος τιμών ανηγμένου συντελεστή σκέδασης σε μήκος κύματος ακτινοβολίας 1300 nm για το ανθρώπινο δέρμα. Ο συντελεστής a αναφέρεται στην τιμή του συντελεστή για μήκος κύματος $\lambda=500$ nm ($\mu_s'(\lambda=500\text{nm})$), ενώ ο συντελεστής b είναι η δύναμη σκέδασης.

Πίνακας III : Τιμές ανηγμένου συντελεστή σκέδασης για τις τρεις στιβάδες του δέρματος στα 1300 nm.

Πίνακας IV : *In vitro* και *in vivo* τιμές του δείκτη διάθλασης μέσω απεικόνισης OCT για τις στιβάδες της επιδερμίδας, του χορίου και του υποδόριου ιστού για τις δύο μεθόδους μέτρησης με OCT στα 1300 nm.

Πίνακας V : Μέση τιμή, ποσοστιαία μεταβολή σε σφάλμα ποσοστιαίας μεταβολής του πάχους υγιούς επιδερμίδας μετά από εφαρμογή του *index matching gel* για διαφορετικούς χρόνους.

Πίνακας VI : Μέση τιμή και ποσοστιαία μεταβολή του ολικού συντελεστή εξασθένισης υγιούς επιδερμίδας μετά από εφαρμογή του *index matching gel* σε διαφορετικούς χρόνους.

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Ιατρικής Φυσικής του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κατά το ακαδημαϊκό έτος 2020-2021, υπό την επίβλεψη του κ. Νικόλαου Κουρκουμέλη, Αναπληρωτή Καθηγητή του τμήματος και της Μεταδιδακτορικής ερευνήτριας Μάρθας Βαρδάκη.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Κουρκουμέλη που με εμπιστεύθηκε και μου ανέθεσε το συγκεκριμένο θέμα. Εκτιμώ βαθύτατα τη βοήθεια και καθοδήγησή του καθώς και τις γνώσεις που μου έχει μεταδώσει κατά τη διάρκεια της συνεργασίας μας τόσο σε προπτυχιακό όσο και σε μεταπτυχιακό επίπεδο. Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τη Μεταδιδακτορική ερευνήτρια Μάρθα Βαρδάκη, η οποία ήταν επίσης δίπλα μου από την αρχή μέχρι το τέλος της Διπλωματικής μου εργασίας. Την ευχαριστώ για την αμέριστη βοήθεια, τη φιλική της διάθεση καθώς και το χρόνο που αφιέρωνε κάθε φορά που τη χρειαζόμουν. Η εμπειρία και οι γνώσεις των δύο αυτών ανθρώπων με βοήθησαν να αποκτήσω εφόδια τα οποία θα συμβάλλουν καθοριστικά στην μετέπειτα πορεία και εξέλιξή μου. Ελπίζω και εύχομαι η συνεργασία μαζί τους να συνεχιστεί και στο μέλλον.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τα μέλη της επιτροπής κ. Λουκά Αστρακά και κ. Δημήτρη Εμφιετζόγλου. Επίσης τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Γεώργιο Γαϊτάνη και τον Καθηγητή κ. Ιωάννη Μπασούκα της Πανεπιστημιακής Κλινικής Δερματικών και Αφροδισίων Νόσων του Π.Ι. για τη βοήθειά τους στην ανάλυση και λήψη των εικόνων OCT. Ευχαριστώ επίσης το Ίδρυμα Σταύρος Νιάρχος για τη δωρεά του συστήματος Οπτικής Τομογραφίας Συνοχής (OCT).

Πάνω από όλους όμως θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την οικογένειά μου η οποία είναι δίπλα μου όλα αυτά τα χρόνια, με συμβουλεύει, με στηρίζει στις επιλογές μου και με ενθαρρύνει στο να ακολουθώ πάντα τα όνειρα και να εκπληρώνω τους στόχους μου.

Βαράκα Μαρία

Περίληψη

Η Οπτική Τομογραφία Συνοχής (Optical Coherence Tomography – OCT) είναι μία μη επεμβατική μέθοδος απεικόνισης η οποία χρησιμοποιεί φως στο φάσμα του υπερύθρου (700-1400 nm) και μπορεί να δώσει εικόνες διατομής ενός ιστού σε πραγματικό χρόνο, με πολύ καλή ακρίβεια και υψηλή διακριτική ικανότητα (1-15 μm) σε βάθος 1-2 mm. Το σήμα OCT ενισχύεται μέσω των οπισθοσκεδαζόμενων φωτονίων από το υπό μελέτη δείγμα. Καθώς το δέρμα αποτελεί ένα έντονα σκεδαστικό μέσο, η τεχνική OCT θεωρείται ως κατάλληλη για την απεικόνιση του δέρματος, λόγω της αντίθεσης μεταξύ των υποστρωμάτων του στην τελική εικόνα.

Στην παρούσα εργασία, η τεχνική OCT χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό των οπτικών ιδιοτήτων του δέρματος καθώς και του πάχους της επιδερμίδας. Αρχικά μέσω της ανάλυσης εικόνων OCT που αφορούσαν τόσο υγιές όσο και δέρμα με BCC (βασικοκυτταρικό καρκίνωμα) έγινε προσδιορισμός των οπτικών ιδιοτήτων της επιδερμίδας, και συγκεκριμένα του ολικού συντελεστή εξασθένισης (μ_{tot}) προκειμένου να διαπιστωθεί εάν οι τιμές του συντελεστή είναι μικρότερες για το πάσχον δέρμα σε σχέση με το υγιές. Σε συνέχεια της ανάλυσης, έγινε προσδιορισμός του συντελεστή μ_{tot} καθώς και του πάχους υγιούς επιδερμίδας ύστερα από τοποθέτηση τεσσάρων index matching gel (Vaseline, Propylene-glycol, Propylene-glycol + Oleic acid, και Liquid Vaseline) για δύο χρόνους απεικόνισης, αμέσως μετά την τοποθέτηση του gel ($t = 0 \text{ min}$) και μετά το πέρασ χρόνιους διαστήματος 90 λεπτών ($t = 90 \text{ min}$). Σκοπός ήταν ο υπολογισμός της ποσοστιαίας μεταβολής τόσο του συντελεστή όσο και του πάχους της επιδερμίδας σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές για υγιές δέρμα χωρίς την τοποθέτηση gel, καθώς και ο προσδιορισμός του καταλληλότερου gel εκ των τεσσάρων, με σκοπό την ενίσχυση σήματος OCT και συνεπώς μείωση του ολικού συντελεστή εξασθένισης.

Από την ανάλυση των εικόνων OCT σε συνδυασμό με τη χρήση στατιστικού τεστ, επιβεβαιώθηκε πώς οι τιμές του συντελεστή μ_{tot} για το δέρμα με BCC είναι μικρότερες σε σχέση με αυτές της υγιούς επιδερμίδας. Όσον αφορά τα αποτελέσματα μετά την τοποθέτηση index matching gel, ως καταλληλότερο

θεωρήθηκε το gel PG + OA καθώς οδηγεί σε αρκετά μεγάλη αύξηση του πάχους επιδερμίδας και σε ταυτόχρονη μείωση του ολικού συντελεστή εξασθένησης, παράγοντες βασικοί για την ενίσχυση του σήματος OCT στην τελική εικόνα.

Λέξεις κλειδιά: Οπτική Τομογραφία Συνοχής, οπτικές ιδιότητες δέρματος, υγιές δέρμα, BCC, ολικός συντελεστής εξασθένησης, πάχος επιδερμίδας, index matching gel.

Abstract

Optical Coherence Tomography (OCT) is a non-invasive imaging technique which uses light in the infrared region of the light spectrum (700 – 1400 nm). With this technique, high resolution (1-15 μm) cross sectional images can be observed in real time and in depths 1-2 mm. As human skin is a strong photon scatterer, OCT is considered as an appropriate technique for skin imaging, achieving sufficient contrast among its constituent layers.

In this thesis, OCT was used to determine the optical properties of human skin and the thickness of the epidermis. Initially, the optical properties of healthy skin and skin with BCC (basal cell carcinoma) were determined, emphasizing on the total attenuation coefficient (μ_{tot}), to explore if the coefficient values of BCC skin are lower than those of healthy. Furthermore, total attenuation coefficient and healthy epidermis thickness were determined through OCT images after application of four different index matching gels (Vaseline, PG, PG and OA, και Liquid Vaseline) on the skin surface at two different imaging time points: 0 and 90 minutes after the application of gels on skin. The purpose of the above analysis was the determination of both total attenuation coefficient and epidermis thickness percentage difference in comparison to the corresponding values of healthy epidermis in the absence of index matching gel, in order to assess the most appropriate for OCT skin imaging.

From the OCT image analysis of healthy and BCC skin we found that μ_{tot} values of BCC are lower than those of healthy skin. We also concluded that the most appropriate gel is Propylenglycol and Oleic acid, as it triggers the increase of epidermis thickness and the simultaneous decrease of the total attenuation coefficient. These factors both contribute to the enhancement of the OCT signal.

Key words: Optical Coherence Tomography, optical properties of skin, healthy skin, BCC, total attenuation coefficient, epidermis thickness, index matching gel.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ (Α)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : Οπτική Τομογραφία Συνοχής (OCT)

1.1 Εισαγωγή

Η Οπτική Τομογραφία Συνοχής (Optical Coherence Tomography – OCT) είναι μία μη επεμβατική μέθοδος απεικόνισης η οποία χρησιμοποιεί φως στο φάσμα του υπερύθρου (700-1400 nm) και δίνει εικόνες διατομής ενός ιστού σε πραγματικό χρόνο, υψηλής διακριτικής ικανότητας (1-15 μm) σε βάθος 1-2 mm.[1] Επιπλέον μπορεί να προσδιορίσει το πάχος (μορφολογικά όρια) μέρους βιολογικού δείγματος. Αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο απεικόνισης στην ιατρική, με σημαντικά πλεονεκτήματα “οπτικής βιοψίας” και in situ οπτικοποίησης εν τω βάθει των ιστών χωρίς την ανάγκη εκτομής ή αφαίρεσής τους.

Ειδικότερα στη μελέτη του δέρματος, βασικά πλεονεκτήματα της απεικόνισης OCT είναι τα εξής [1] :

- ✓ Δεν μεταβάλλει τη μορφολογία ιστών του δέρματος εφόσον αποτελεί μη επεμβατική μέθοδο.
- ✓ Μπορεί να χρησιμοποιηθεί αρκετές φορές (μη ιονίζουσα ακτινοβολία) επιτρέποντας με αυτόν τον τρόπο την αξιολόγηση του ίδιου ιστού σε μελλοντικά follow-up του ασθενούς, καθώς και την ποσοτικοποίηση των αλλαγών του δέρματος.
- ✓ Έχει καλή διακριτική ικανότητα (τάξης μm).
- ✓ Δεν απαιτείται προετοιμασία του δείγματος.

Το ανθρώπινο δέρμα αποτελεί ένα έντονα σκεδαστικό υλικό στην περιοχή του ορατού και του εγγύς υπέρυθρου. Τα σκεδαζόμενα φωτόνια εισέρχονται υπό διαφορετικές γωνίες στον ανιχνευτή, γεγονός το οποίο έχει σοβαρό αντίκτυπο στην αντίθεση και τη διακριτική ικανότητα της τελικής εικόνας [2]. Το OCT θεωρείται κατάλληλη απεικονιστική μέθοδος του δέρματος, διότι καθιστά εμφανή την αντίθεση στην τελική εικόνα λόγω οπισθοσκεδάσεων μεταξύ διαφορετικών στιβάδων σε κλίμακα μm [3].

Η καλή ποιότητα της τελικής εικόνας οφείλεται στο γεγονός ότι το OCT συλλέγει φωτόνια τα οποία προέρχονται από απευθείας ανάκλαση στην επιφάνεια του προς ενδιαφέροντος δείγματος και απορρίπτει τα φωτόνια που σκεδάζονται σε πολλαπλές γωνίες, καθώς αυτά μειώνουν την ποιότητα της τελικής εικόνας. Το βασικό μειονέκτημα του OCT είναι ότι το φως υπόκειται σε ισχυρή σκέδαση από τους περισσότερους ιστούς, επομένως η εξασθένιση αυτή περιορίζει το βάθος διείσδυσης του φωτός στα 2 mm. [4]

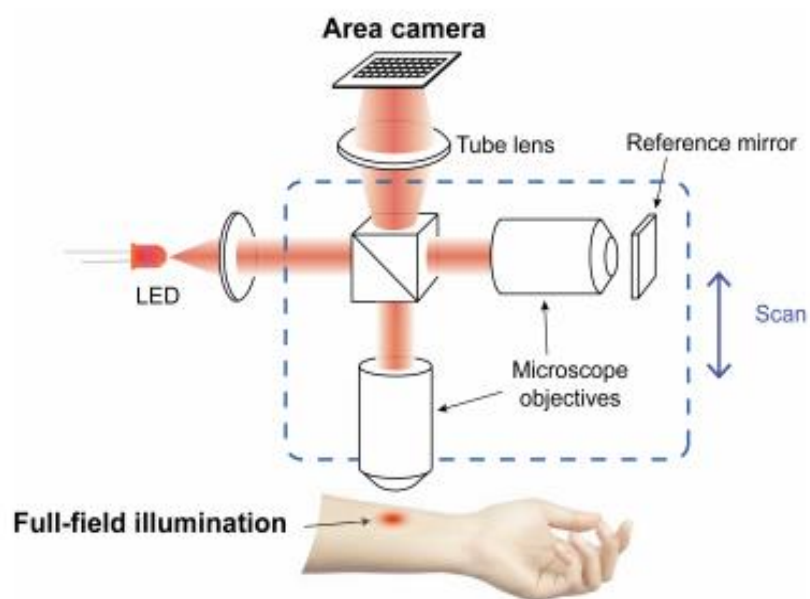
Η χρήση της τεχνικής OCT βρίσκει ιδιαίτερη εφαρμογή στην απεικόνιση βιολογικών ιστών, με το δέρμα να αποτελεί το πιο σύνηθες μετά τον οφθαλμό. Η τεχνική απεικόνισης OCT χρησιμοποιείται στη δερματολογία, δίνοντας τη δυνατότητα διάκρισης του υγιούς από το πάσχον δέρμα, καθώς η αλλοιωμένη μορφολογία που παρουσιάζουν οι περιοχές με καρκινικούς όγκους μπορεί να παρατηρηθεί σε ικανοποιητικό βαθμό. Ένα πολύ ενδιαφέρον χαρακτηριστικό της απεικόνισης OCT είναι η εκτίμηση του πάχους των καρκινικών όγκων. Σύμφωνα με μελέτες [5], η τεχνική αυτή έχει αποδειχθεί ακριβέστερη ως προς την εκτίμηση του πάχους ενός όγκου, σε βάθη μικρότερα από 2 mm, σε σχέση με άλλες τεχνικές απεικόνισης όπως για παράδειγμα οι υπέρηχοι [6,7].

Επιπλέον, η ανταπόκριση της πάσχουσας περιοχής σε μία θεραπεία αποτελεί σημαντικό πεδίο μελέτης μέσω της απεικόνισης με Οπτική Τομογραφία Συνοχής. Μέσω της απεικόνισης OCT μπορούν να εντοπιστούν τυχόν εναπομείναντα καρκινικά κύτταρα μετά το πέρας της θεραπείας, λόγω της υψηλότερης ακρίβειάς της συγκριτικά με την κλινική αξιολόγηση μόνη της. Ο συνδυασμός της τεχνικής OCT με άλλες τεχνικές απεικόνισης όπως η τεχνική Raman ή οι υπέρηχοι, γνωστός και ως multi – modality απεικόνιση, μπορεί να βελτιώσει περαιτέρω την κλινική διάγνωση και να συμβάλλει στην επέκταση της έρευνας [6,7].



Εικόνα 1: Τυπικές μορφές βασικοκυτταρικού καρκινώματος (BCC).[8]

1.2 Αρχή λειτουργίας



Εικόνα 2: Τυπική διάταξη απεικονιστικού συστήματος OCT.

Ένα απεικονιστικό σύστημα OCT αποτελείται από [3] :

- ✓ Μία οπτική πηγή ακτινοβολίας χαμηλής συνοχής, η οποία συνδέεται με ένα ιντερφερόμετρο
- ✓ Ένα διαχωριστή δέσμης

- ✓ Έναν οπτικό μηχανισμό καθυστέρησης της ηχούς του φωτός,
- ✓ Ένα σύστημα συνδυασμού του φωτός που ανακλάται από το δείγμα και από το μηχανισμό καθυστέρησης της ηχούς.
- ✓ Κάτοπτρα
- ✓ Έναν οπτικό ανιχνευτή
- ✓ Μία σειρά από ηλεκτρονικά συστήματα τα οποία επεξεργάζονται το σήμα από τον ανιχνευτή και παρουσιάζουν την τελική εικόνα στον υπολογιστή.

Το OCT βασίζεται στην οπτική τεχνική που περιγράφεται με τον όρο «low coherence interferometry», και χαρακτηρίζει διατάξει με πολύ περιορισμένο εύρος συχνοτήτων. Χρησιμοποιείται στη φωτονική για μέτρηση της οπτικής ηχούς και της οπισθοσκεδαζόμενης ακτινοβολίας από το υπό μελέτη δείγμα. Η έννοια low - coherence χαρακτηρίζει πεδία με εύρος συνοχής του μήκους κύματος της τάξης του μm .

Μία μορφή low-coherence interferometry είναι η time-domain OCT. Η τεχνική αυτή κάνει χρήση των ιδιοτήτων συμβολής του κλασσικού φωτός για την παραγωγή μίας εικόνας τομής του δείγματος (point-by-point) υψηλής ανάλυσης η οποία καθορίζεται από το χρόνο συμφωνίας της πηγής. Ο χρόνος συμφωνίας είναι αντιστρόφως ανάλογος του φασματικού εύρους της πηγής. Επομένως πηγές οι οποίες έχουν μεγάλο φασματικό εύρος (πηγές με υπερβραχείς παλμούς laser ή πηγές led) χρησιμοποιούνται στην απεικόνιση OCT για την παραγωγή εικόνων με υψηλή αξονική διακριτική ικανότητα.

Σε ένα σύστημα OCT, η low-coherence πηγή συνδυάζεται με ένα συμβολόμετρο Michelson ούτως ώστε να καταγραφεί από τον ανιχνευτή η συμβολή των δύο ανακλώμενων κυμάτων.

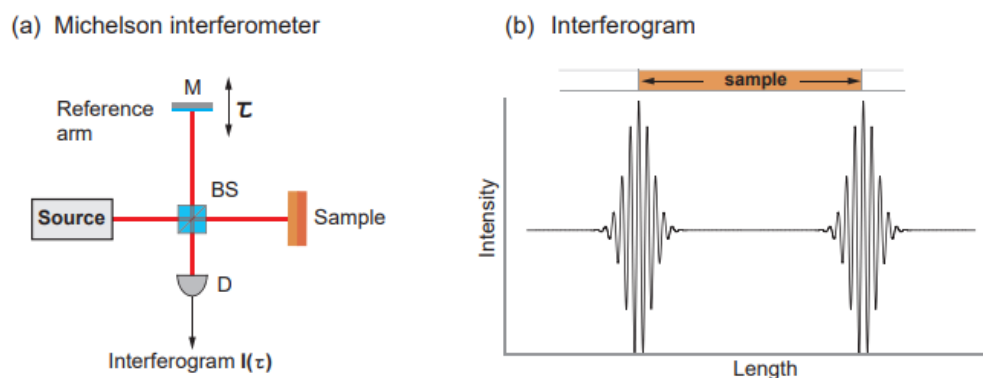
Η ακτινοβολία από την πηγή προσπίπτει σε έναν φακό ή ένα σύστημα φακών ώστε να πάρει το επιθυμητό εύρος, και στη συνέχεια κατευθύνεται προς ένα διαχωριστή δέσμης δημιουργώντας δύο κλάδους (Εικόνα 2). Ο πρώτος κλάδος ονομάζεται κλάδος αναφοράς (reference arm) με ηλεκτρικό πεδίο E_r , ενώ ο δεύτερος κλάδος δείγματος (sample arm) με ηλεκτρικό πεδίο E_s .

Η ένταση του ανιχνευόμενου σήματος στην έξοδο του συμβολομέτρου OCT δίνεται από τη σχέση [4] :

$$I_{\text{ανιχν}} = \frac{1}{4} |E_r|^2 + \frac{1}{4} |E_s|^2 + \frac{1}{2} \Gamma(E_r, E_s) \cos(2k_0 \Delta l) \quad \text{(Εξίσωση 1)}$$

Όπου Γ είναι η συσχέτιση (cross correlation) μεταξύ των ηλεκτρικών πεδίων αναφοράς και δείγματος, $k_0 = 2\pi/\lambda_0$ είναι το κυματάνυσμα, και Δl είναι η σχετική διαφορά δρόμου μεταξύ των δύο κλάδων αναφοράς και δείγματος.

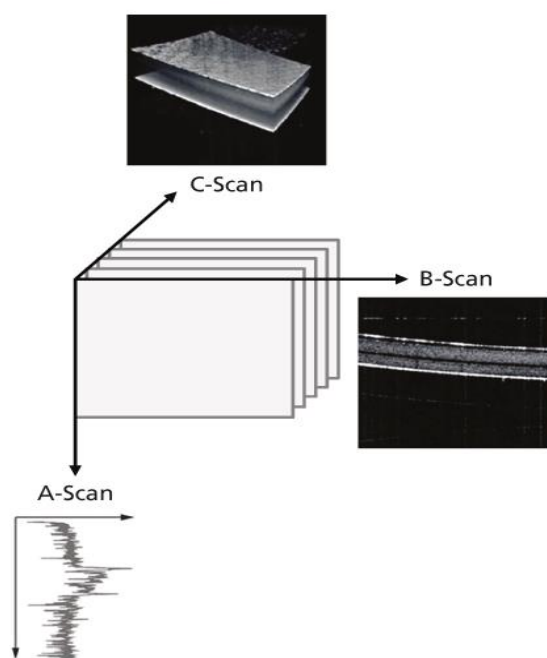
Ο κλάδος δείγματος είναι αυτός ο οποίος περιλαμβάνει το υπό εξέταση δείγμα, ενώ ο κλάδος αναφοράς, εισάγει τον χρόνο καθυστέρησης του φωτός (τ). Η συμβολή των δύο ανακλώμενων κυμάτων, από το δείγμα και τον καθρέφτη, μία διαδικασία που περιγράφεται αναλυτικά στη συνέχεια, μας δίνει το ιντερφερόγραμμα το οποίο δείχνει την εξάρτηση της έντασης του φωτός από το μήκος διαδρομής μέσα στο δείγμα, παρέχοντας ταυτόχρονα πληροφορίες σχετικά με την εσωτερική δομή του. [9]



Εικόνα 3: Βασική αρχή λειτουργίας OCT. a) Η low-coherence πηγή ακτινοβολίας συνδυάζεται με ένα συμβολόμετρο Michelson με σκοπό την καταγραφή της συμβολής του ανακλώμενου φωτός από το δείγμα. b) Καταγραφόμενο ιντερφερόγραμμα $I(\tau)$ ως συνάρτηση της διαφοράς μήκους διαδρομής μεταξύ των βραχιόνων του συμβολόμετρου. Η ένταση του σήματος συμβολής εξαρτάται από τη χρονική διαφορά τ μεταξύ του βραχίονα αναφοράς και δείγματος. Το πάχος του δείγματος υπολογίζεται από την απόσταση μεταξύ των δύο μεγίστων. BS: beam splitter, M: mirror, D: detector [9]

Η δέσμη που κατευθύνεται προς το δείγμα , προσπίπτει σε κάτοπτρο το οποίο κινείται εγκάρσια στο επίπεδο X σαρώνοντας με αυτόν τον τρόπο το προς μελέτη δείγμα κατά μήκος. Η δέσμη αναφοράς , προσπίπτει σε κάτοπτρο το οποίο κινείται στο επίπεδο Z (Εικόνα 2). Για διαφορετικές θέσεις του κατόπτρου λαμβάνουμε εικόνες του δείγματος σε διαφορετικά βάθη. Κάθε τέτοια εικόνα αποτελεί μία σάρωση η οποία ονομάζεται A-scan ή axial scan, ενώ το σύνολο των A-scan αποτελεί μία σάρωση B-scan ή brightness scan και έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία μίας 2D εικόνας της μορφολογίας του δείγματος. [10] Οι εικόνες αυτές μπορεί είτε να έχουν αποχρώσεις σε gray scale είτε ψευδή χρωματισμό. Σημειώνεται επίσης πως οι A-scans μετρούν την ένταση της ανάκλασης ή της οπισθοσκέδασης του φωτός συναρτήσει του βάθους διείσδυσής του στο δείγμα.

Εκτός από τις A-scan και B-scan σαρώσεις οι οποίες δίνουν 1D και 2D εικόνες του δείγματος αντίστοιχα, μέσω του OCT μπορούμε να πάρουμε και 3D εικόνες. [4,10] Αυτό είναι εφικτό εάν ακολουθήσω της διαδικασίας που προαναφέρθηκε με τις κινήσεις των δύο κατόπτρων για τη δημιουργία ενός slice του δείγματος, το κάτοπτρο που οδηγεί τη δέσμη στο δείγμα, μετατοπίζεται επιπλέον στο επίπεδο XY. Επομένως για διαφορετικές θέσεις του κατόπτρου παίρνουμε μία τελική τρισδιάστατη εικόνα (Εικόνα 4).



Εικόνα 4: Μέσω του OCT μπορούμε να πάρουμε εικόνες διατομής και εικόνες της τρισδιάστατης δομής ενός δείγματος μετρώντας το χρόνο καθυστέρησης του φωτός. Οι A-scan (axial scan) εικόνες μετρούν την ένταση της οπισθοσκέδασης – ανάκλασης συναρτήσει του βάθους διείσδυσης. Οι B-scan (brightness scan) αποτελούν άθροισμα μίας σειράς axial scan εικόνων , ενώ οι 3D εικόνες είναι αποτέλεσμα raster σάρωσης μίας σειράς εικόνων B-scan. [4]

Όσον αφορά το πάχος του δείγματος που εξετάζεται, αυτό προσδιορίζεται από την απόσταση μεταξύ των μεγίστων του ιντερφερογράμματος , η οποία υποδηλώνει τις ανακλάσεις από δύο επιφάνειες του δείγματος (Εικόνα 3). Συνεπώς η τεχνική low coherence interferometry βοηθά στη διάκριση της ανάκλασης από κάθε μοναδική δομή στη διαδρομή της δέσμης, και με αυτόν τον τρόπο η διασπορά από το υλικό και τελικά η δομή του μπορούν να περιγραφούν συναρτήσει του βάθους διείσδυσης.

1.3 Φαινόμενα συμβολής στην τεχνική OCT

Καθώς η τεχνική απεικόνισης με OCT βασίζεται στο φαινόμενο της συμβολής [4] , απαραίτητη προϋπόθεση για τη δημιουργία της εικόνας του δείγματος θεωρείται η συμφωνία μεταξύ των δύο δεσμών φωτός.

Η ανακλώμενη ακτινοβολία από το υπό εξέταση δείγμα συμπίπτει με το φως το οποίο ανακλάται από τον καθρέφτη αναφοράς μόνο εάν οι δύο δέσμες έχουν διανύσει το ίδιο μήκος διαδρομής στον ίδιο χρόνο, δηλαδή μόνο εάν τα δύο κύματα βρίσκονται σε φάση. Επομένως οι χρόνοι άφιξης των δεσμών φωτός στον ανιχνευτή θα πρέπει να είναι ίδιοι.

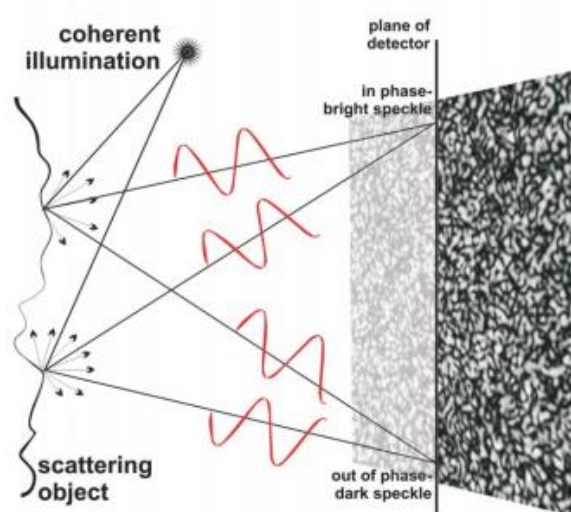
Εάν οι δύο δέσμες φωτός έχουν το ίδιο μήκος κύματος (ίδια συχνότητα) και βρίσκονται σε φάση, αλληλοενισχύονται, με αποτέλεσμα η τελική ένταση να ισούται με το άθροισμα των επιμέρους εντάσεων, με πλάτος μεγαλύτερο και των δύο κυμάτων. Τελικά προκύπτει μία ενισχυτική συμβολή στον ανιχνευτή και έχουμε τη δημιουργία ενός φωτεινού σημείου.

Εάν όμως τα δύο κύματα χαρακτηρίζονται από διαφορετικούς χρόνους άφιξης στον ανιχνευτή, δηλαδή εάν δεν βρίσκονται σε φάση, τότε η τελική ένταση ορίζεται ως η διαφορά των δύο επιμέρους εντάσεων. Εάν οι δύο δέσμες φωτός έχουν το ίδιο μήκος κύματος τότε η τελική ένταση είναι μηδέν και ως αποτέλεσμα έχουμε μία καταστρεπτική συμβολή και την εμφάνιση ενός σκοτεινού σημείου στην εικόνα.

1.4 Speckle noise

Το speckle noise είναι ο θόρυβος που δημιουργείται στο OCT και παρουσιάζεται υπό τη μορφή κηλίδων (φωτεινών ή σκοτεινών) στην τελική εικόνα [11]. Οφείλεται στα φωτόνια που οπισθοσκεδάζονται είτε από μία μη ομαλή επιφάνεια είτε από ιστούς οι οποίοι αποτελούνται από δομές σκέδασης μικρότερων διαστάσεων από αυτές της εστιασμένης δέσμης. Συνεπώς ομοιόμορφες επιφάνειες χωρίς ατέλειες δεν παρουσιάζουν αυτό το φαινόμενο.

Η εμφάνιση των κηλίδων προκύπτει από τη συνεισφορά φωτονίων τα οποία οπισθοσκεδάζονται λόγω ύπαρξης μικροδομών (οργανιδίων και κυττάρων) στο εσωτερικό του δέρματος. Επιπλέον, το συγκεκριμένο είδος θορύβου μπορεί να δώσει πληροφορίες σχετικά με τη δομή, το σχήμα καθώς και την κατανομή των σκεδαστών αυτών στις στιβάδες του δέρματος.



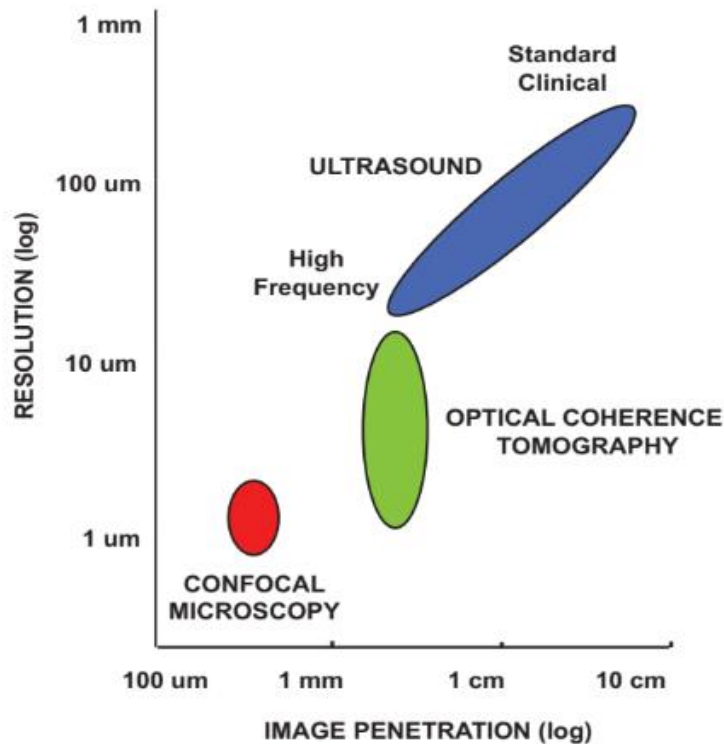
Εικόνα 5: Δημιουργία φωτεινών και σκοτεινών κηλίδων στην τελική εικόνα OCT. Οι κηλίδες αυτές δημιουργούν 'θόρυβο' στην απεικόνιση, γνωστό ως speckle noise [11]

Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 5 , εάν τα κύματα τα οποία προσπίπτουν στο δείγμα βρίσκονται σε φάση, τότε στο σημείο πρόσπτωσης δημιουργείται μία φωτεινή κηλίδα. Σε αντίθετη περίπτωση το αποτέλεσμα στην τελική εικόνα του OCT είναι μία σκοτεινή κηλίδα.

Ένας σημαντικός παράγοντας που ορίζει το πεδίο speckle είναι το μέσο μέγεθος της κηλίδας. Υποθέτοντας ότι το δείγμα αποτελείται από ένα μόνο υλικό τότε το μέγεθος της κηλίδας αυξάνει με τη μείωση του αριθμητικού ανοίγματος (numerical aperture, NA) καθώς και του φασματικού εύρους μηκών κύματος της πηγής. Το NA καθορίζει το γωνιακό εύρος του σκεδαζόμενου φωτός που συλλέγεται από το οπτικό σύστημα. Όσο μεγαλύτερο είναι το γωνιακό εύρος του σκεδαζόμενου φωτός, τόσο μικρότερο είναι και το μέσο μέγεθος της κηλίδας. Το NA συνδέεται με την εγκάρσια διακριτική ικανότητα στην απεικόνιση OCT, το οποίο αναλύεται εκτενέστερα στην παράγραφο 1.7.

1.5 OCT και άλλες τεχνολογίες

Το απεικονιστικό σύστημα OCT παρουσιάζει σημαντικές ομοιότητες αλλά και διαφορές με άλλα απεικονιστικά συστήματα , όπως οι υπέρηχοι και η συνεστιακή μικροσκοπία (confocal microscopy). [4] Η σύγκρισή τους ως προς τη διακριτική ικανότητα και το βάθος απεικόνισης παρατηρείται στην Εικόνα 6.



Εικόνα 6: Σύγκριση διακριτικής ικανότητας και βάθους απεικόνισης μεταξύ των συστημάτων OCT, confocal microscopy και υπερήχων. Οι υπέρηχοι που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη μπορούν να απεικονίσουν βαθύτερες δομές όμως χαρακτηρίζονται από χαμηλή διακριτική ικανότητα. Οι υπέρηχοι υψηλών συχνοτήτων πετυχαίνουν καλύτερη διακριτική ικανότητα, όμως δεν μπορούν να διεισδύσουν σε μεγάλο βάθος λόγω εξασθένησης. Η αξονική διακριτική ικανότητα στην απεικόνιση OCT κυμαίνεται από 1-15 μm και προσδιορίζεται από το coherence length της πηγής. Στους περισσότερους βιολογικούς ιστούς το βάθος διείσδυσης περιορίζεται στα 2-3 mm λόγω εξασθένησης από την οπτική σκέδαση. Η confocal microscopy έχει διακριτική ικανότητα κάτω από 1 μm , όμως εξαιτίας της οπτικής σκέδασης το βάθος απεικόνισης περιορίζεται σε μερικές εκατοντάδες μm στους περισσότερους ιστούς. [4]

Η διακριτική ικανότητα των υπερήχων που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη κυμαίνεται σε εύρος τιμών 0.1-1 mm και εξαρτάται από την συχνότητα των υπερήχων που χρησιμοποιούνται για απεικόνιση (3-40 MHz). Τα ηχητικά κύματα σε αυτές τις συχνότητες διαδίδονται μέσα στο σώμα και απορροφούνται σε μικρό ποσοστό, καθιστώντας με αυτόν τον τρόπο δυνατή μία απεικόνιση σε μεγάλα βάθη. Στους υπερήχους υψηλών συχνοτήτων οι διακριτικές ικανότητες κυμαίνονται από 15-20 μm , ενώ καλύτερες (10-15 μm) έχουν παρατηρηθεί για συχνότητες περίπου 100 MHz. Οι υψηλές συχνότητες όμως χαρακτηρίζονται από ισχυρή εξασθένηση στους βιολογικούς ιστούς, και επομένως το βάθος απεικόνισης περιορίζεται σε μερικά χιλιοστά.

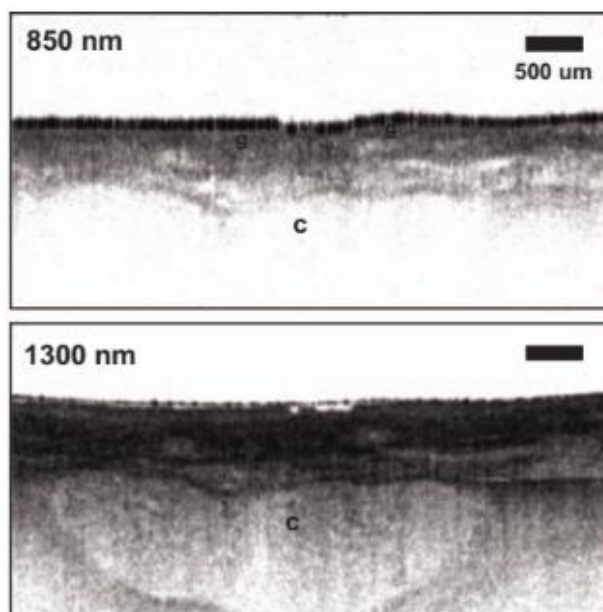
Το OCT θεωρείται ανάλογο του κλινικού υπερήχου λόγω των παρόμοιων αρχών λειτουργίας τους, με τη διαφορά ότι χρησιμοποιείται φως αντί ήχου. Και οι δύο τεχνικές απεικόνισης κατευθύνουν τα κύματα προς τον υπό εξέταση ιστό. Στη συνέχεια τα κύματα αυτά ανακλώνται από εσωτερικές μικροδομές και μέσω της καθυστέρησης της ηχούς μπορεί να προσδιοριστεί το βάθος στο οποίο έγινε η ανάκλαση. Οι διαστάσεις αυτών των δομών προσδιορίζονται από τη μέτρηση της καθυστέρησης της ηχούς, τον χρόνο δηλαδή που χρειάζεται το φως ή ο ήχος για να επιστρέψει από διαφορετικά βάθη στον υπό εξέταση ιστό.

Στους υπερήχους, η απεικόνιση βάθους ονομάζεται A-mode scanning (στο OCT A-scan), ενώ η απεικόνιση διατομών B-mode scanning (στο OCT B-scan). Η σημαντικότερη διαφορά μεταξύ υπερήχων και οπτικής απεικόνισης OCT έγκειται στο γεγονός ότι η ταχύτητα του φωτός είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή του ήχου. Συγκεκριμένα η ταχύτητα του φωτός στο κενό ισούται με 3×10^8 m/sec, σε αντίθεση με την ταχύτητα του ήχου που φτάνει μόλις τα 1500 m/sec. Η παράμετρος αυτή συμβάλλει στην αρκετά πιο γρήγορη λήψη εικόνων μέσω της απεικονιστικής μεθόδου OCT (6-30 sec) σε σχέση με τους υπερήχους (15-30 min). Επιπλέον, στην απεικόνιση με χρήση υπερήχων, η μέτρηση αποστάσεων με διακριτική ικανότητα 100 μ m απαιτεί χρονική διακριτική ικανότητα περίπου 100 nsec. Αντιθέτως, στην απεικόνιση OCT, μία μέτρηση αποστάσεων με τυπική διακριτική ικανότητα 10 μ m απαιτεί χρονική διακριτική ικανότητα περίπου 30 fsec, αρκετά μικρότερη από αυτή των υπερήχων.

1.6 Βάθος διείσδυσης ακτινοβολίας στην τεχνική OCT

Το βάθος διείσδυσης εξαρτάται από τις οπτικές ιδιότητες του και το μήκος κύματος της ακτινοβολίας. Είναι γνωστό πως αυξάνοντας το μήκος κύματος, επιτυγχάνεται απορρόφηση του φωτός σε βαθύτερες στιβάδες του δείγματος. Επιπλέον έχει παρατηρηθεί πως όσο μεγαλύτερο είναι το μήκος κύματος, για ιστό με δεδομένες οπτικές ιδιότητες, τόσο μικρότερο είναι το ποσοστό της σκέδασης, γεγονός το οποίο επηρεάζει θετικά την αντίθεση και τη διακριτική ικανότητα της τελικής εικόνας, ενώ

το βάθος διείσδυσης της δέσμης φωτός στο δέρμα μπορεί να αυξηθεί έως και τα 2-3 mm. [10]



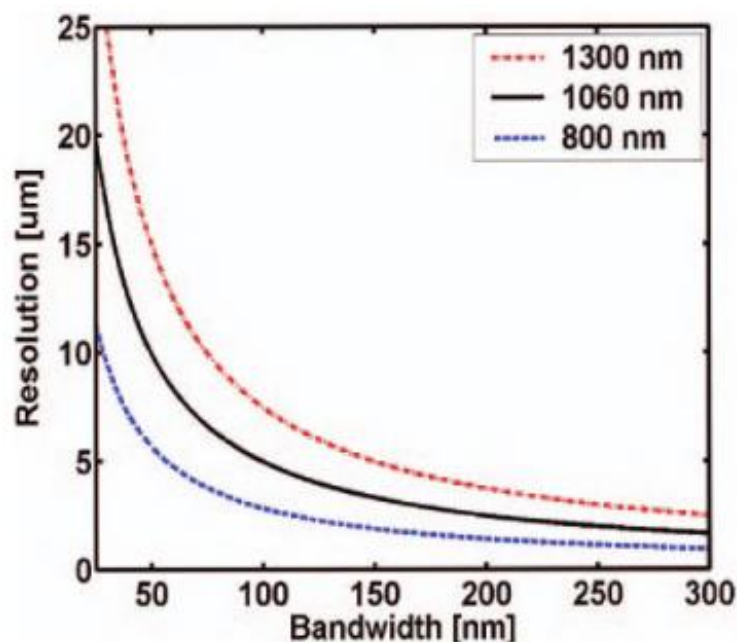
Εικόνα 7: Απεικόνιση OCT με βάση το βάθος διείσδυσης της ακτινοβολίας. Σε ιστούς οι οποίοι χαρακτηρίζονται από υψηλό ποσοστό σκέδασης χρησιμοποιούνται μεγάλα μήκη κύματος διότι εξασθενούν λιγότερο. Οι επιφανειακές στιβάδες (g) απεικονίζονται εξίσου καλά και στα 850 και στα 1300 nm, όμως βαθύτερες στιβάδες ιστού (c) απεικονίζονται καλύτερα στα 1300 nm. [4]

Στους βιολογικούς ιστούς, το βάθος διείσδυσης στην απεικόνιση OCT επηρεάζεται σημαντικά από τη σκέδαση της ακτινοβολίας. Στο εύρος μηκών κύματος 800 – 2000 nm, η σκέδαση καθώς και η απορρόφηση από το νερό είναι οι κυρίαρχοι μηχανισμοί στους οποίους οφείλεται η μείωση του βάθους διείσδυσης στα 2-3 mm. Αφού η σκέδαση εξαρτάται κατά κύριο λόγο από το μήκος κύματος και μειώνεται για μεγάλες τιμές του, έχει παρατηρηθεί πως καλύτερη απεικόνιση μπορεί να επιτευχθεί στο μήκος κύματος των 1300 nm. Η απορρόφηση από τους βιολογικούς ιστούς κυριαρχεί σε μήκη κύματος > 1400 nm λόγω της απορρόφησης από το νερό. Σημειώνεται πως το ποσοστό νερού που περιέχεται στους περισσότερους βιολογικούς ιστούς κυμαίνεται μεταξύ 50% και 90%. Επομένως μία απεικόνιση OCT σε αυτή την περιοχή του φάσματος δεν θα έδινε την απεικόνιση του δείγματος έως το προβλεπόμενο βάθος. Επιπλέον, στους περισσότερους βιολογικούς ιστούς η μελανίνη και η αιμοσφαιρίνη είναι τα κύρια συστατικά τα οποία απορροφούν ισχυρά στο ορατό καθώς και στο κοντινό υπέρυθρο. Αυτοί θεωρούνται και οι

σημαντικότεροι λόγοι που η απεικόνιση βιολογικών ιστών στα 1300 nm θεωρείται η καταλληλότερη σε σχέση με άλλα μήκη κύματος. [4]

1.7 Εγκάρσια και αξονική διακριτική ικανότητα

Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη παράγραφο, η αξονική διακριτική ικανότητα ενός απεικονιστικού συστήματος χαμηλής συνοχής προσδιορίζεται μέσω της μέτρησης καθυστέρησης της ηχούς. Η αξονική διακριτική ικανότητα σχετίζεται με το μήκος συμφωνίας (coherence length) και είναι αντιστρόφως ανάλογη του εύρους ζώνης της πηγής φωτός [4]. Επομένως όσο πιο μεγάλο είναι το εύρος ζώνης (bandwidth) τόσο καλύτερη θα είναι η αξονική διακριτική ικανότητα. Για αυτό το λόγο σε τέτοιου είδους απεικονιστικές μεθόδους προτιμώνται πηγές φωτός οι οποίες έχουν μεγάλο εύρος ζώνης.

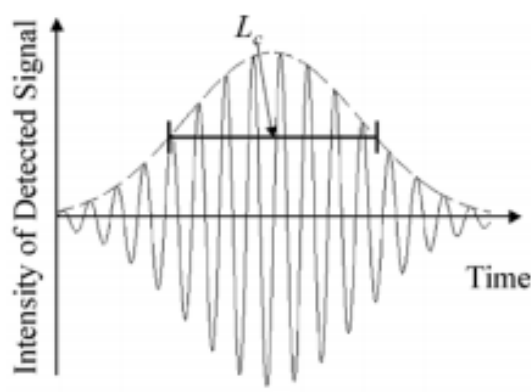


Εικόνα 8: Διάγραμμα αξονικής διακριτικής ικανότητας – εύρους μηκών κύματος της πηγής ακτινοβολίας για μήκη κύματος 800, 1060 και 1300 nm. Η αξονική διακριτική ικανότητα μειώνεται με την αύξηση του εύρους μηκών κύματος, ενώ το εύρος αυξάνεται σημαντικά με την αύξηση του μήκους κύματος. [4]

Το μήκος συμφωνίας (L_c) αντιστοιχεί στο FWHM του τελικού ιντερφερογράμματος (Εικόνα 9) και είναι αντιστρόφως ανάλογο του εύρους ζώνης μηκών κύματος της πηγής [12]. Το μήκος συμφωνίας συνδέεται άμεσα με την αξονική διακριτική ικανότητα και για έναν παλμό κανονικής (Gaussian) κατανομής δίνεται από τη σχέση:

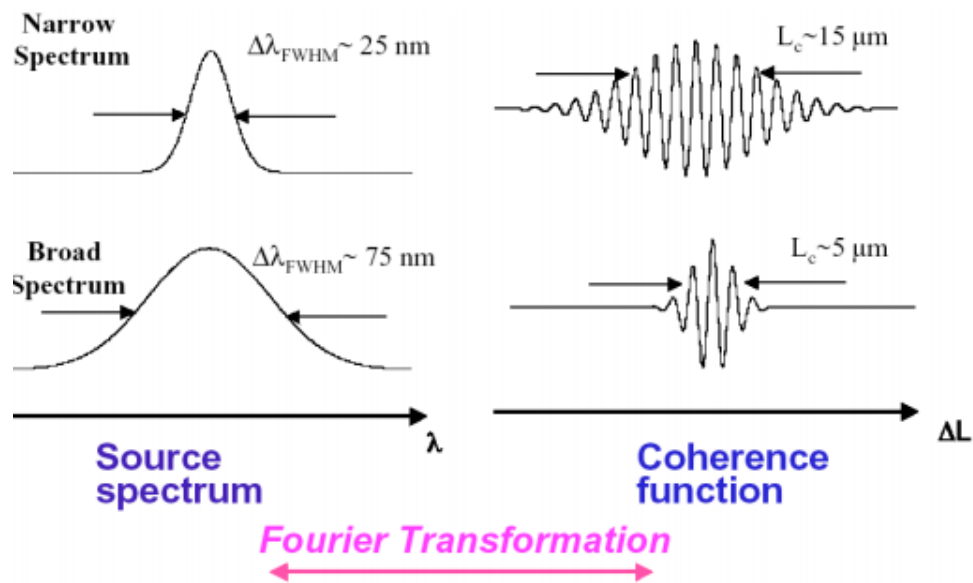
$$L_c = \frac{2 \ln 2}{\pi} \cdot \frac{\lambda^2}{\Delta\lambda}$$

Όπου $\Delta\lambda$ είναι το FWHM του τελικού φάσματος και λ είναι η κεντρική τιμή του μήκους κύματος της πηγής που χρησιμοποιείται.



Εικόνα 9: Ιντερφερόγραμμα για ένα απεικονιστικό σύστημα OCT με low coherence πηγή ακτινοβολίας. Η τελική του μορφή είναι ένα Gaussian διάγραμμα στο οποίο παρατηρείται και το coherence length. [12]

Το coherence length ενός laser (ή led) εξαρτάται από το σχήμα της καμπύλης Gauss. Μία καμπύλη η οποία έχει μικρό πλάτος (narrow bandwidth) αντιστοιχεί σε μεγάλο coherence length, ενώ αντίθετα καμπύλη με μεγάλο πλάτος (broad bandwidth) αντιστοιχεί σε μικρό coherence length (Εικόνα 10). [13]

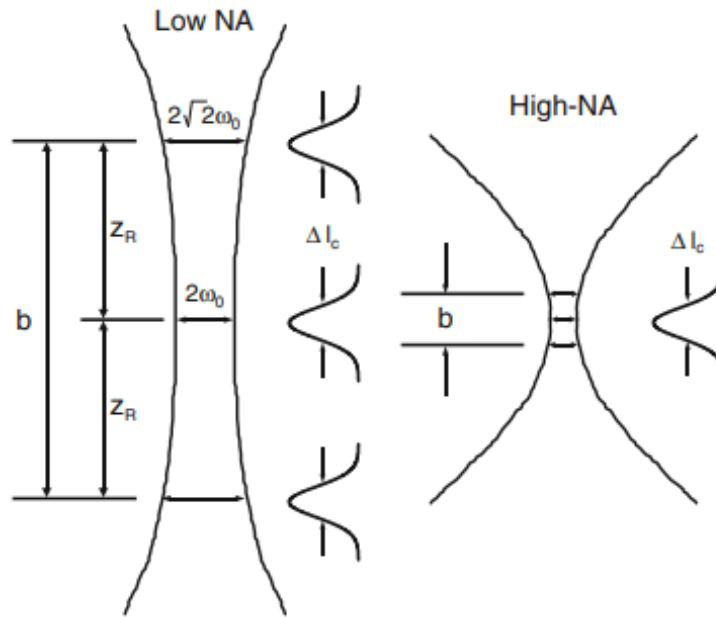


Εικόνα 10: Μεταβολή του coherence length ανάλογα με το εύρος της καμπύλης Gauss του τελικού ιντερφερογράμματος. Όσο μεγαλύτερο είναι το πλάτος της καμπύλης τόσο μικρότερο το coherence length. Η μετάβαση από το φάσμα ακτινοβολίας στην coherence function και αντιστρόφως γίνεται μέσω του μετασχηματισμού Fourier. [14]

Η εγκάρσια διακριτική ικανότητα στην απεικόνιση OCT από την άλλη, προσδιορίζεται από το μέγεθος του σημείου εστίασης της δέσμης φωτός (Δx). Το σημείο αυτό είναι αντιστρόφως ανάλογο του NA (numerical aperture) και δίνεται από τη σχέση :

$$\Delta x = \frac{4\lambda}{\pi} \cdot \frac{f}{d} = \frac{4\lambda}{\pi} \cdot \frac{1}{NA} \quad \text{με} \quad NA = \frac{f}{d} \quad \text{(Εξίσωση 2)}$$

Όπου d είναι το μέγεθος του σημείου εστίασης στον φακό, και f είναι η εστιακή απόσταση. Από την Εξίσωση 2 συμπεραίνουμε πως για να έχουμε καλή εγκάρσια διακριτική ικανότητα, απαιτείται μεγάλη τιμή NA (High NA).



Εικόνα 11: Εγκάρσια διακριτική ικανότητα στην απεικόνιση OCT. Στην απεικόνιση OCT χρησιμοποιείται χαμηλό numerical aperture (NA) και η παράμετρος b (confocal parameter) είναι πολύ μεγαλύτερη από το coherence length, ούτως ώστε να παραχθούν εικόνες διατομής του δείγματος. Υψηλό NA οδηγεί σε καλύτερη εγκάρσια διακριτική ικανότητα μειώνοντας όμως το βάθος του πεδίου. [4]

Την ίδια στιγμή, η εγκάρσια διακριτική ικανότητα εξαρτάται και από το βάθος του πεδίου (confocal parameter, b). Η παράμετρος b αφορά το μήκος εκείνο στο οποίο το εύρος της δέσμης είναι σχεδόν ομοιόμορφο [12]. Ισούται με το διπλάσιο του εύρους Rayleigh (z_R) και δίνεται από τη σχέση :

$$b = 2z_R = \frac{\pi \Delta x^2}{\lambda} \quad \text{(Εξίσωση 3)}$$

Παρατηρώντας τις Εξισώσεις 2 και 3 διαπιστώνουμε πως με την αύξηση του NA του φωτός που εισέρχεται στο φακό, έχουμε υψηλή εγκάρσια διακριτική ικανότητα (μικρότερο Δx), μειώνεται όμως και το βάθος του πεδίου (Εικόνα 11). Για να επιτευχθεί επομένως μία πολύ καλή εγκάρσια διακριτική ικανότητα θα πρέπει να αυξηθεί το αριθμητικό άνοιγμα του αντικειμένου (NA), με ταυτόχρονη μείωση του βάθους b [4,15].

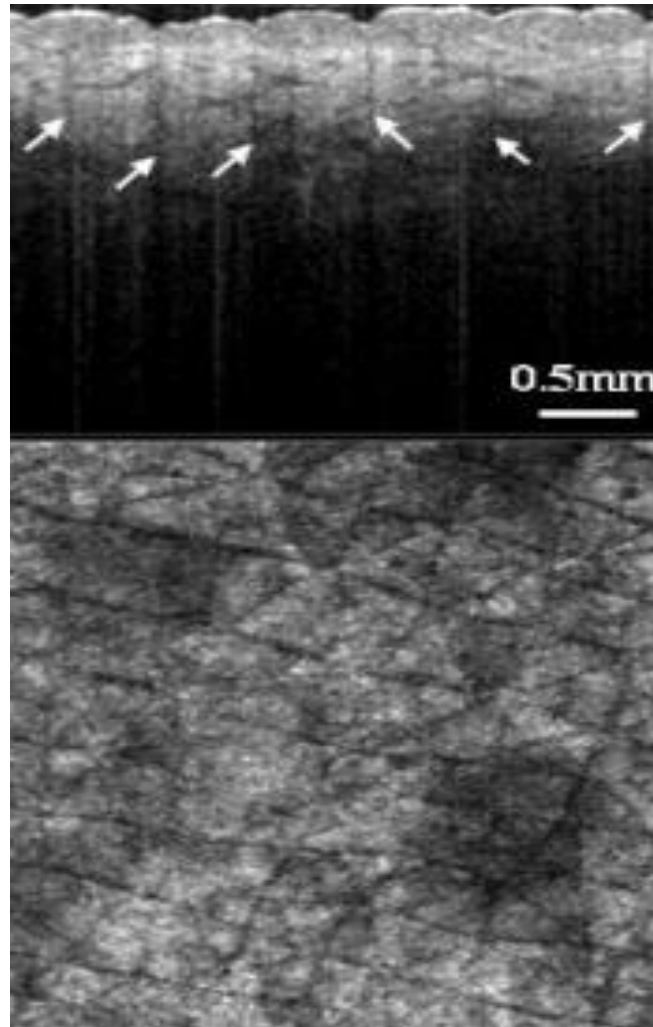
1.8 Μείωση των artifacts στην 3D-OCT απεικόνιση του δέρματος in vivo

Όπως έχει προαναφερθεί, το OCT αποτελεί ένα σύστημα απεικόνισης με εξαιρετικά υψηλή διακριτική ικανότητα. Όσον αφορά το δέρμα, δομές όπως η επιδερμίδα, το χόριο, οι φλέβες και οι θύλακες των τριχών μπορούν να απεικονιστούν αρκετά ευδιάκριτα με αυτήν την τεχνική. Επιπλέον, αρκετές μελέτες έχουν χρησιμοποιήσει το OCT προκειμένου να διαπιστώσουν τυχόν αλλοιώσεις του δέρματος. [15]

Στην τελική εικόνα του OCT παρατηρούνται artifacts. Τα artifacts είναι ψευδείς δομές, και η παρουσία τους δημιουργεί μία ανακριβή απεικόνιση της πραγματικής μορφολογίας του δέρματος, δυσχεραίνοντας την κλινική διάγνωση. Δύο βασικοί τύποι ψευδοδομών που παρατηρούνται στην OCT απεικόνιση αποτελούν η αλλοίωση στην ένταση και στη μορφολογία

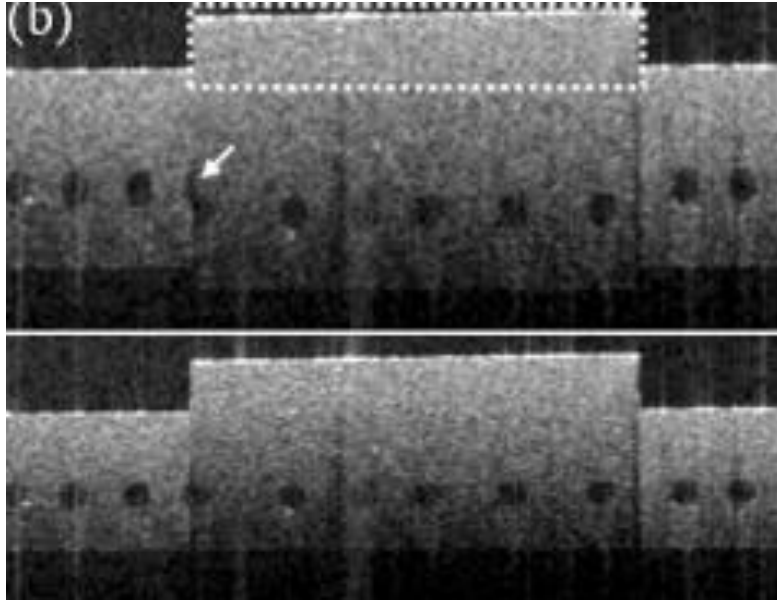
Οι αλλοιώσεις στην ένταση εμφανίζονται ως κατακόρυφες ραβδώσεις, λόγω της χαμηλής έντασης οπισθοσκεδαζόμενης ακτινοβολίας από τις διάφορες στιβάδες του δέρματος. Οι ραβδώσεις αυτές σχετίζονται με την ανάκλαση και την απόκλιση της δέσμης φωτός λόγω της ανομοιογενούς επιφάνειας του δέρματος, καθώς και με την αλλαγή του δείκτη διάθλασης από το δέρμα στον αέρα.

Με την αύξηση του βάθους παρατηρείται επίσης αύξηση στο πλάτος των ραβδώσεων, γεγονός το οποίο αλλοιώνει την τοπογραφία της επιφάνειας του δέρματος όπως φαίνεται και στην Εικόνα 12. Σημαντικό πρόβλημα λόγω της ύπαρξης τέτοιου είδους artifacts είναι η επικάλυψη δομών σε στιβάδες του δέρματος και η εμφάνιση μη γνώριμων χαρακτηριστικών στην τελική εικόνα, ιδίως όταν έχουμε εικόνες OCT *en face*, δηλαδή απεικονίσεις κάθετες στην πορεία της δέσμης ακτινοβολίας. [16]



Εικόνα 12: Artifacts έντασης σε απεικόνιση δέρματος με τεχνική OCT. Άνω εικόνα: Artifacts υπό τη μορφή κατακόρυφων γραμμών οι οποίες αυξάνονται με την αύξηση του βάθους. Κάτω εικόνα: En face εικόνα δέρματος και δημιουργία μη γνώριστων χαρακτηριστικών λόγω των artifacts. [16]

Όσον αφορά τη μορφολογία, παρατηρούνται δύο τύποι αλλοιώσεων. Ο πρώτος τύπος αλλοίωσης εμφανίζεται διότι τα συστήματα OCT δημιουργούν εικόνες βασισμένα στο οπτικό μήκος διαδρομής και όχι στο φυσικό μήκος διαδρομής του φωτός. Το οπτικό μήκος διαδρομής είναι συνάρτηση του δείκτη διάθλασης του μέσου, επομένως το φως διασχίζει διαφορετικές επιφάνειες αέρα και ιστού έως ότου φτάσει σε κάποια δομή στο εσωτερικό του δέρματος, αλλάζοντας το οπτικό μήκος διαδρομής. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την κατακόρυφη μετατόπιση των δομών σε σχέση με την πραγματική τους θέση, καθώς και την παραμόρφωση δομών στις υποκείμενες στιβάδες του δέρματος (Εικόνα 13). [15,16]

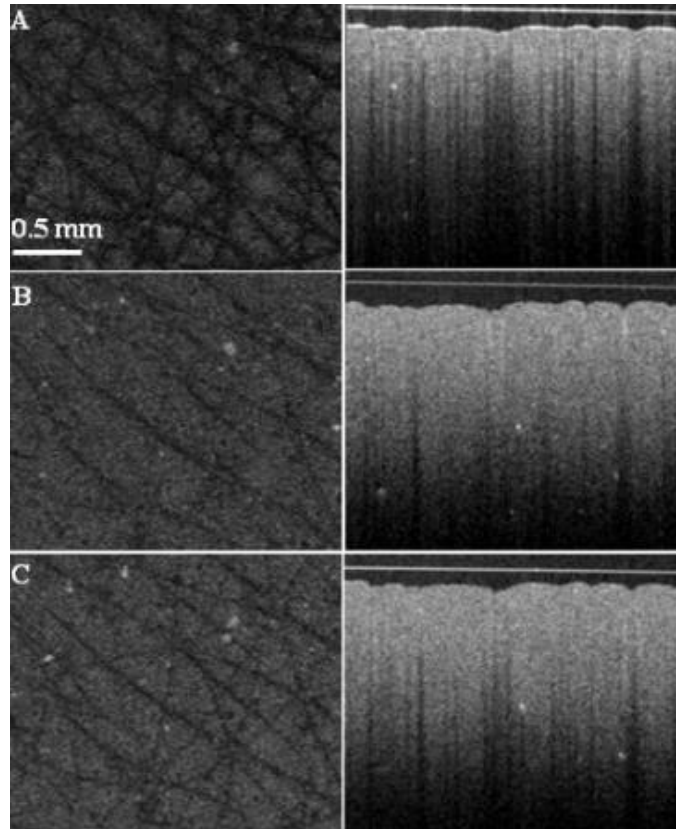


Εικόνα 13: Μορφολογική αλλοίωση λόγω του οπτικού μήκους διαδρομής. Το αποτέλεσμα είναι η κατακόρυφη μετατόπιση δομών σε σχέση με την πραγματική τους θέση καθώς και η παραμόρφωσή τους. [15]

Στο δεύτερο τύπο αλλοίωσης οι δομές μετατοπίζονται κατά την οριζόντια διεύθυνση, και αυτό διότι η μορφή της επιφάνειας του δέρματος καθώς και η διάθλαση του φωτός επηρεάζουν τη γωνία διάδοσης της ακτινοβολίας στις υποκείμενες στιβάδες.

Τέτοιου είδους artifacts (έντασης και μορφολογίας) παρατηρούνται κυρίως σε εικόνες OCT που προέρχονται από δέρμα με ρυτίδες, όπως στα χέρια, στα πόδια και στην εσωτερική πλευρά της παλάμης. Για την αποφυγή της εμφάνισής τους, συνιστάται η χρήση γλυκερόλης ή υδρογέλης (συνήθως αποκαλούμενα ως index matching gels) μεταξύ δείγματος και probe, διότι τα υλικά αυτά παρουσιάζουν παρόμοιο δείκτη διάθλασης με αυτό του δέρματος. [16]

Μελέτες έχουν δείξει [15,16] πως η χρήση των δύο αυτών υλικών έχει μειώσει κατά μεγάλο ποσοστό τις αλλοιώσεις στην ένταση, με τη μεγαλύτερη μείωση να παρατηρείται ύστερα από τοποθέτηση γλυκερόλης μεταξύ δέρματος και probe. (Εικόνα 14)



Εικόνα 14: Αριστερά: En face εικόνες σε βάθος 1.5 mm από την επιφάνεια του δέρματος. Δεξιά: Εικόνες διατομής από ομοίωμα σιλκόνης με χρήση TiO_2 ως σκεδαστές. (A) Το ομοίωμα είναι εκτεθειμένο στον αέρα. (B) Το ομοίωμα έχει καλυφτεί εξ ολοκλήρου από γλυκερόλη και (C) Το ομοίωμα έχει καλυφτεί από στρώμα τζελ υπερήχων. Η μείωση των artifacts στην ένταση είναι εμφανής κατά τη χρήση γλυκερόλης. [16]

Παρόλο όμως που η γλυκερόλη και το υδατικό τζελ υπερήχων μειώνουν σε μεγάλο ποσοστό τα artifacts στην απεικόνιση, η χρήση τους μπορεί να προκαλέσει και προβλήματα. Το σημαντικότερο είναι η παγίδευση φυσαλίδων αέρα ανάμεσα από το δείγμα και το probe και η εμφάνιση σκίασης κατά την απεικόνιση.

1.9 Λόγος σήματος προς θόρυβο (SNR) και Ευαισθησία (S)

Το απεικονιστικό σύστημα OCT χαρακτηρίζεται από δύο βασικές παραμέτρους, το λόγο σήματος προς θόρυβο (SNR) και την ευαισθησία (S). [17,18] Ο λόγος σήματος προς θόρυβο ορίζει το λόγο της μέσης τιμής του τετραγώνου του ρεύματος $\langle i_{ph}^2 \rangle$ στον φωτοπολλαπλασιαστή, προς τη συνολική διακύμανση του ρεύματος φωτός (σ_i^2) :

$$SNR = \frac{\langle i_{ph}^2 \rangle}{\sigma_i^2} \quad \text{(Εξίσωση 4)}$$

Επειδή κάποια σήματα μπορεί να έχουν μεγάλο δυναμικό εύρος, μπορούν να εκφραστούν σε λογαριθμική κλίμακα. Επομένως ο λόγος SNR μπορεί να οριστεί και μέσω της σχέσης :

$$SNR = 10 \log_{10} \left(\frac{\langle i_{ph}^2 \rangle}{\sigma_i^2} \right) = 20 \log_{10} \left(\frac{i_{ph}}{\sigma_i} \right) \quad \text{(Εξίσωση 5)}$$

Η ευαισθησία από την άλλη ορίζεται ως ο λόγος της ισχύος ενός σήματος που προέρχεται από ένα τέλεια ανακλαστικό κάτοπτρο ($R = 1$), προς την ισχύ του σήματος που προέρχεται από δείγμα χαμηλότερης ανακλαστικότητας (R_{min}). Θεωρώντας ότι η ισχύς είναι ανάλογη της ανακλαστικότητας, η ευαισθησία ορίζεται ως:

$$S = \frac{1}{R_{min}} |_{SNR=1} \quad \text{(Εξίσωση 6)}$$

1.10 Πηγές φωτός στα απεικονιστικά συστήματα OCT

Όπως φαίνεται από την Εξίσωση 6, η ευαισθησία εξαρτάται σημαντικά από την ισχύ της πηγής του φωτός [19]. Η πιο δημοφιλής φωτεινή πηγή που χρησιμοποιείται στις τεχνικές OCT είναι οι δίοδοι SLD (Superluminescent Diode). Οι SLDs είναι πηγές φωτός οι οποίες βασίζονται στο φαινόμενο της υπερφωταύγειας. Συνδυάζουν την υψηλή ισχύ και φωτεινότητα των λέιζερ διόδου με την χαμηλή συνοχή των συμβατικών διόδων φωτός (light-emitting diode, LED).

Το κεντρικό μήκος κύματος που χρησιμοποιείται κυμαίνεται σε ένα εύρος τιμών μεταξύ $\lambda = 675-1700$ nm, το φασματικό εύρος της πηγής παρουσιάζει τιμές $\Delta\lambda$ μεγαλύτερες των 70 nm, ενώ η ισχύς εξόδου υπερβαίνει τα 50 mW. Η υψηλή τιμή ισχύος καθιστά την πηγή αυτή κατάλληλη σε μεγάλο βαθμό για απεικονιστικά συστήματα OCT, διότι ενισχύει την ευαισθησία.

Μία από τις πιο υποσχόμενες πηγές φωτός για υψηλή διακριτική ικανότητα και υψηλό δυναμικό εύρος στα απεικονιστικά συστήματα OCT θεωρούνται τα λέιζερ Τιτανίου με προσμίξεις ζαφειρίου (Kerr-lens mode-locked Ti: sapphire laser). Η κεντρική τιμή του μήκους κύματος των Titanium:sapphire λέιζερ ισούται με $\lambda = 800$ nm - το φασματικό εύρος της πηγής παρουσιάζει τιμές $\Delta\lambda$ μεγαλύτερες των 400 nm - ενώ η ισχύς εξόδου κυμαίνεται σε ένα εύρος τιμών 0.3-1 W. Το μεγάλο φασματικό εύρος σε συνδυασμό με τους μικρούς σε διάρκεια παλμούς που παράγονται (μικρότεροι από δύο οπτικούς κύκλους) συμβάλλουν σε μία πολύ υψηλή αξονική διακριτική ικανότητα στην απεικόνιση OCT. [20]

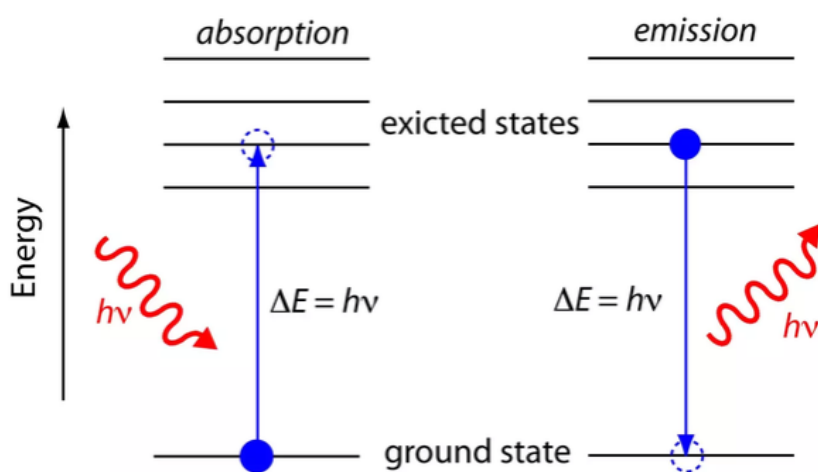
Στην ίδια κατηγορία κατατάσσεται και το Chromium:forsterite λέιζερ [20] το οποίο παρουσιάζει κεντρική τιμή μήκους κύματος $\lambda = 1280$ nm, φασματικό εύρος πηγής μεγαλύτερο των 120 nm, ενώ η ισχύς εξόδου υπερβαίνει τα 800 mW. Τα χαρακτηριστικά αυτά καθιστούν τη συγκεκριμένη πηγή κατάλληλη για απεικόνιση σε μεγάλα βάθη και ειδικά σε υψηλής σκέδασης μέσα, όπως είναι το δέρμα.

Οι δύο τελευταίοι τύποι πηγών ακτινοβολίας OCT χρησιμοποιούνται σε περιπτώσεις μελέτης υλικών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 : Οπτικές ιδιότητες ιστών

2.1 Εισαγωγή

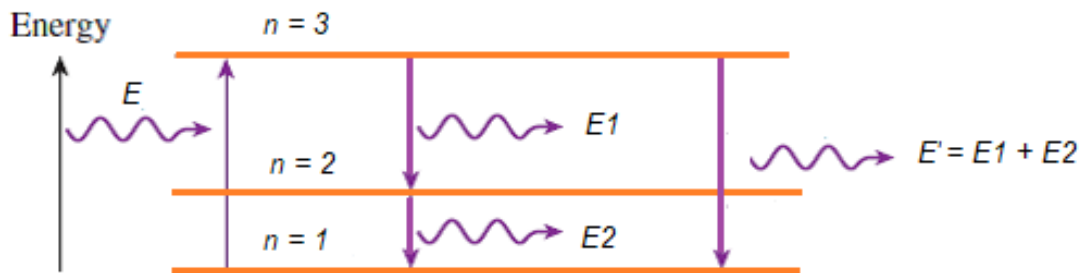
Καθώς τα φωτόνια διαδίδονται μέσα στους ιστούς, υπόκεινται σε σκεδάσεις και απορροφήσεις από τα μόρια του ιστού. Στην περίπτωση της απορρόφησης, τα φωτόνια θα απορροφηθούν μόνο εάν η ενέργειά τους $h\nu$ συμπίπτει με το ενεργειακό χάσμα ΔE μεταξύ της αρχικής και τελικής κατάστασης του ατόμου ή του μορίου (Εικόνα 15). Το άτομο απορροφά ένα φωτόνιο συγκεκριμένης ενέργειας, με αποτέλεσμα ένα ή περισσότερα ηλεκτρόνια να μεταβούν στην αμέσως επόμενη στάθμη υψηλότερης ενέργειας. Μετά από κάποιο χρονικό διάστημα το ηλεκτρόνιο που βρίσκεται στη διεγερμένη στάθμη αποδιεγείρεται προς τη βασική στάθμη εκπέμποντας σε τυχαία διεύθυνση ένα φωτόνιο ενέργειας ίσης με την αρχική. [21]



Εικόνα 15: Διαδικασίες απορρόφησης και εκπομπής φωτονίου που διαδίδεται μέσα σε ιστούς. [22]

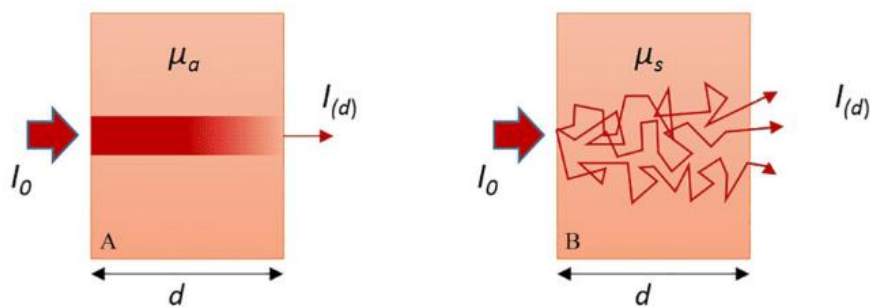
Εάν όμως το άτομο απορροφήσει φωτόνιο μεγαλύτερης ενέργειας από την απαιτούμενη προκειμένου να διεγερθεί, τότε ένα ή περισσότερα ηλεκτρόνια μπορούν να μεταπηδήσουν απευθείας στην δεύτερη, τρίτη κ.ο.κ διεγερμένη κατάσταση. Μετά από κάποιο χρονικό διάστημα, το διεγερμένο ηλεκτρόνιο είτε θα

μεταπηδήσει πρώτα στην ενδιάμεση και στη συνέχεια στη βασική ενεργειακή στάθμη εκπέμποντας δύο φωτόνια διαφορετικής ενέργειας, είτε θα αποδιεγερθεί κατευθείαν στη βασική ενεργειακή στάθμη εκπέμποντας ένα φωτόνιο με ενέργεια ίση με το άθροισμα της ενέργειας των δύο φωτονίων.



Εικόνα 16 : Απορρόφηση και αποδιέγερση φωτονίου σε δύο βήματα. [23]

Κατά τη σκέδαση, η οποία είναι πιο συχνή στους ιστούς λόγω των διαφορετικών δεικτών διάθλασης μεταξύ των επιμέρους δομών τους, τα φωτόνια αλληλεπιδρούν με την ύλη και αλλάζουν διεύθυνση χάνοντας (ανελαστική σκέδαση) ή όχι (ελαστική σκέδαση) ενέργεια. Όσο μεγαλύτερη σκέδαση έχει ένα μέσο, τόσο περισσότερο θα εκτρέπονται τα φωτόνια από την αρχική τους διεύθυνση.



Εικόνα 17: Διάδοση ακτινοβολίας (φωτόνια). Αριστερά: σε υψηλά απορροφητικό μέσο. Δεξιά: σε υψηλά σκεδαστικό μέσο. [21]

Οι οπτικές ιδιότητες ενός ιστού περιγράφονται μέσω του συντελεστή απορρόφησης (μ_a), του συντελεστή σκέδασης (μ_s) (cm^{-1}), του μειωμένου συντελεστή σκέδασης

(μ_s') (cm^{-1}), του πραγματικού δείκτη διάθλασης του ιστού (n) και της ανισοτροπίας (g).

2.2 Απορρόφηση

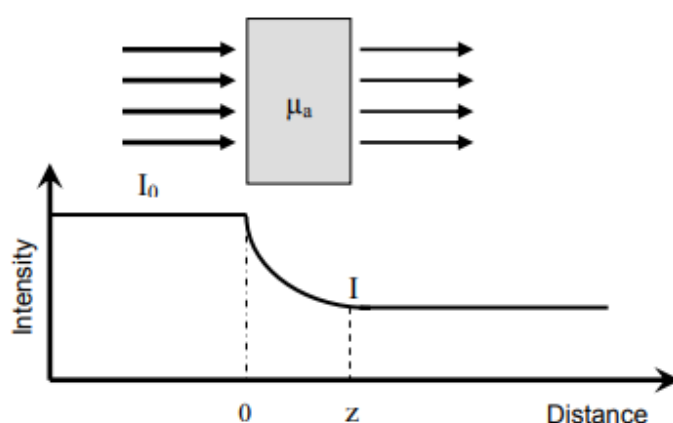
Ο συντελεστής απορρόφησης μ_a περιγράφει την πιθανότητα του μέσου ανά μονάδα μήκους να απορροφήσει τα φωτόνια [24]. Σε ομοιογενή δείγματα, ο συντελεστής απορρόφησης μπορεί να υπολογιστεί από τον νόμο του Lambert-Beer:

$$I = I_0 \cdot e^{-\mu_a x} \quad \text{(Εξίσωση 7)}$$

Όπου I_0 είναι η αρχική ένταση του φωτός που προσπίπτει στο δείγμα και x είναι το μήκος διαδρομής του φωτός στο μέσο. Ο συντελεστής απορρόφησης υπολογίζεται μέσω της σχέσης :

$$\mu_a = \frac{4\pi\kappa}{\lambda} \quad \text{(Εξίσωση 8)}$$

Όπου λ είναι το μήκος κύματος του φωτός και κ είναι το φανταστικό μέρος του συνολικού δείκτη διάθλασης n' που περιγράφεται στη συνέχεια.



Εικόνα 18: Απορρόφηση ακτινοβολίας σε ένα ομοιογενές μέσο σύμφωνα με τον νόμο Lambert-Beer.[24]

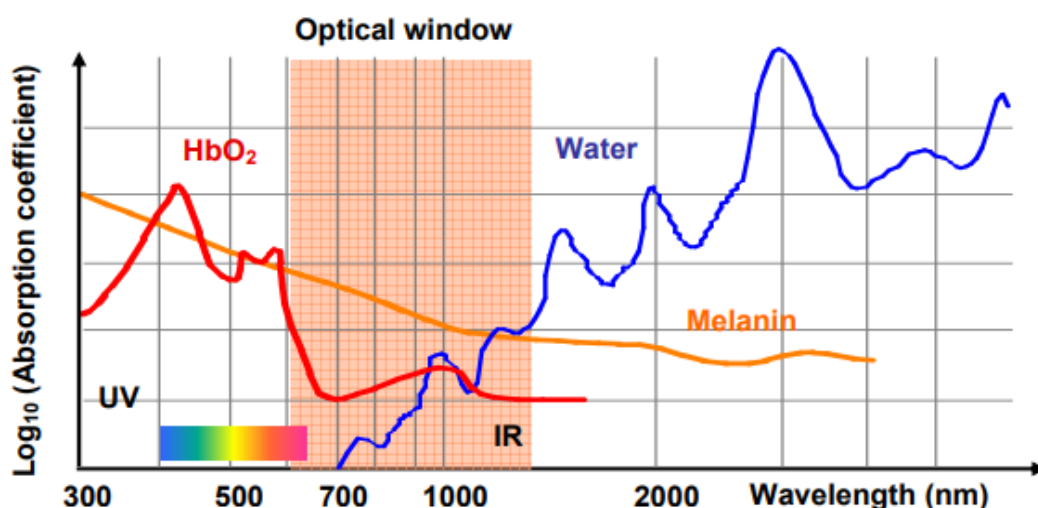
Σε μέσα όπως οι βιολογικοί ιστοί, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από μεγάλη ανομοιογένεια, χρησιμοποιείται η σχέση :

$$\mu_a = \ln(10) \cdot \varepsilon_x^\lambda C_x \quad \text{(Εξίσωση 9)}$$

με ε_x^λ να είναι ο μοριακός συντελεστής εξασθένησης και C_x η συγκέντρωση του απορροφητή. Στην περίπτωση των βιολογικών ιστών οι απορροφητές είναι συνήθως χρωμοφόρα μόρια και το νερό.

Από την εξίσωση συμπεραίνουμε λοιπόν πως ο συντελεστής απορρόφησης εξαρτάται έντονα από το μήκος κύματος, και τα διαφορετικά χρωμοφόρα που υπάρχουν στους ιστούς έχουν και διαφορετικό φάσμα απορρόφησης. [24]

Ο κύριος απορροφητής στους ιστούς θεωρείται το νερό. Το νερό αποτελεί το βασικό συστατικό των ιστών καθώς βρίσκεται σε ποσοστό περίπου 75% και απορροφά στο φάσμα της UV ακτινοβολίας ($\lambda < 200 \text{ nm}$) αλλά και στο υπέρυθρο ($\lambda > 1300 \text{ nm}$). Επιπλέον σημαντικά χρωμοφόρα στους ιστούς είναι η αιμογλοβίνη και η μελανίνη. Η αιμογλοβίνη απορροφά κυρίως στα 430, 540 και 570 nm, ενώ η μελανίνη, ως η κύρια ασπίδα προστασίας του δέρματος από την υπεριώδη ακτινοβολία, μειώνεται με την αύξηση του μήκους κύματος, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 19.



Εικόνα 19: Φάσμα απορρόφησης σημαντικών χρωμοφόρων σε ιστούς ανθρώπινου δέρματος ως συνάρτηση του μήκους κύματος ακτινοβολίας. [24]

Στο κοντινό υπέρυθρο μεταξύ των μηκών κύματος 700-1400 nm, η εξασθένιση του φωτός οφείλεται σε μεγαλύτερο βαθμό στην σκέδαση παρά στην απορρόφηση. Για μήκη κύματος μικρότερα από 700 nm η εξασθένιση οφείλεται στην απορρόφηση από τη μελανίνη, ενώ για μήκη κύματος μεγαλύτερα από 1400 nm, οφείλεται στην απορρόφηση από το νερό .

Η περιοχή χαμηλής απορρόφησης μεταξύ 630 και 1300 nm ονομάζεται οπτικό παράθυρο ιστού. Σε αυτό το εύρος μήκους κύματος έχουμε τη μικρότερη απορρόφηση και παρατηρείται το μεγαλύτερο βάθος διείσδυσης του φωτός στους ιστούς. Εκτός της περιοχής αυτής, το φως απορροφάται ισχυρά από την αιμοσφαιρίνη και τη μελανίνη (στην περιοχή του ορατού) ενώ στην περιοχή του υπέρυθρου μέγιστη απορρόφηση προκαλείται κυρίως λόγω του νερού.

2.3 Σκέδαση

Η σκέδαση διακρίνεται σε δύο κατηγορίες, την ελαστική και την ανελαστική σκέδαση. Εάν η συχνότητα του προσπίπτοντος φωτονίου συμπίπτει με τη συχνότητα του σκεδαζόμενου τότε η σκέδαση ονομάζεται ελαστική και δεν παρατηρείται απώλεια ενέργειας. Ειδιάλλως έχουμε ανελαστική σκέδαση η οποία συνοδεύεται από απώλεια ενέργειας. [25]

Η σκέδαση Rayleigh και η σκέδαση Mie αποτελούν δύο είδη ελαστικής σκέδασης. Η σκέδαση Rayleigh συμβαίνει όταν το μέγεθος των σκεδαστών (μόρια και σωματίδια πολύ μικρών διαστάσεων) είναι πολύ μικρότερο από το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Αντιθέτως, η σκέδαση Mie λαμβάνει χώρα όταν το μέγεθος των σωματιδίων είναι συγκρίσιμο ή αρκετά μεγαλύτερο από το μήκος κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας. Το μέγεθος των σφαιρικών σωματιδίων δίνεται από τη σχέση:

$$x = \frac{2\pi r}{\lambda} \quad \text{(Εξίσωση 10)}$$

Όπου λ είναι το μήκος κύματος του προσπίπτοντος φωτός και r η ακτίνα του σφαιρικού σωματιδίου. Επομένως σύμφωνα με την εξίσωση για τη σκέδαση Mie ισχύει ότι $x \geq 1$ ενώ για τη σκέδαση Rayleigh $x \leq 1$.

Ποιο από τα δύο είδη σκέδασης επικρατεί, εξαρτάται από το μήκος κύματος ακτινοβολίας για δεδομένο δείγμα ιστού. Στην απεικόνιση OCT, όπου το μήκος κύματος ακτινοβολίας αφορά το φάσμα του υπερύθρου (και για απεικονίσεις δέρματος ειδικότερα τα 1300 nm), με βάση και την Εξίσωση 10 επικρατέστερη είναι η σκέδαση Mie.

Στην σκέδαση Mie η ένταση του σκεδαζόμενου φωτός αυξάνεται αντιστρόφως ανάλογα με την μείωση του μήκους κύματος λ^2 , ενώ στη σκέδαση Rayleigh αντιστρόφως ανάλογα με τη μείωση του λ^4 .

Κατά την ελαστική σκέδαση τα φαινόμενα που λαμβάνουν χώρα κατά την αλληλεπίδραση φωτονίων – ύλης είναι τα εξής:

- ανάκλαση και διάθλαση του φωτός λόγω των διαφορετικών δεικτών διάθλασης μεταξύ των διεπιφανειών
- ανάκλαση του φωτός από σωματίδια στους ιστούς τα οποία κυμαίνονται από οργανικά μόρια έως ολόκληρα κύτταρα
- απορρόφηση του φωτός από άτομα ή μόρια και επανακτινοβολήση στο ίδιο μήκος κύματος αλλά σε διαφορετική διεύθυνση

Όλες αυτές οι διαδικασίες αλλάζουν την διεύθυνση διάδοσης του φωτονίου σε σχέση με αυτή του προσπίπτοντος, όμως δεν χαρακτηρίζονται από απώλεια ενέργειας.

Η ανελαστική σκέδαση συμβαίνει όταν η προσπίπτουσα ακτινοβολία αλληλεπιδρά με τα δονητικά επίπεδα των μορίων, προκαλώντας μεταβάσεις μεταξύ αυτών των επιπέδων και αλλάζοντας με αυτό τον τρόπο το αρχικό μήκος κύματος του φωτός.

Η σκέδαση περιγράφεται από τον συντελεστή μ_s , ο οποίος ορίζεται ως η πιθανότητα του μέσου ανά μονάδα μήκους διαδρομής να επανεκπέμψει τα φωτόνια σε νέες

διευθύνσεις αποτρέποντας με αυτόν τον τρόπο την ευθύγραμμη πορεία τους. Αποτελεί δηλαδή έναν μέσο όρο του πόσες φορές ένα φωτόνιο μπορεί να αλλάξει την κατεύθυνσή του ανά μονάδα διαδρομής.

Η ενεργός διατομή σκέδασης ορίζεται ως :

$$C_s = A_s \cdot \delta_s \quad \text{(Εξίσωση 11)}$$

με A_s να αποτελεί το εμβαδόν διατομής του σκεδαζόμενου υλικού και δ_s την απόδοση σκέδασης.

Μέσω της ενεργού διατομής λοιπόν, ο συντελεστής σκέδασης περιγράφεται από τη σχέση :

$$\mu_s = C_s \cdot \rho_s \quad \text{(Εξίσωση 12)}$$

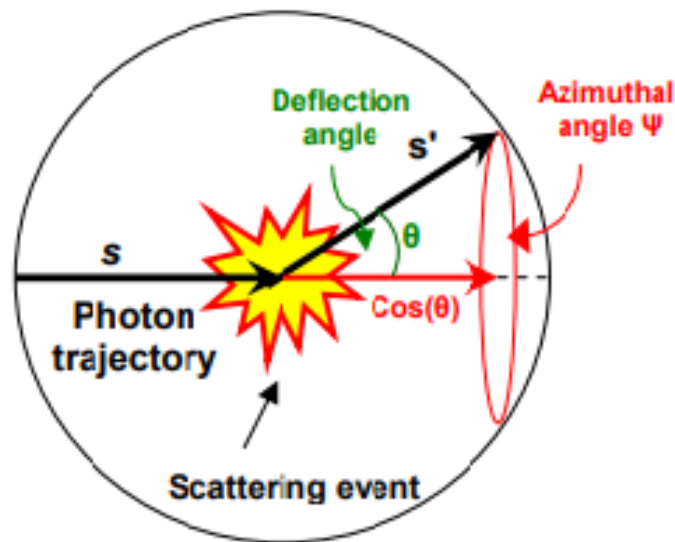
Όπου ως ρ_s αναφέρεται η πυκνότητα του σκεδαστικού υλικού.

Η μέση απόσταση που διανύει ένα φωτόνιο μεταξύ γεγονότων σκέδασης ονομάζεται *μέση ελεύθερη διαδρομή* (mean free path) και ορίζεται ως :

$$mfp = \frac{1}{\mu_s} \quad \text{(Εξίσωση 13)}$$

2.4 Συνάρτηση σκέδασης $\rho(\theta)$ και παράγοντας ανισοτροπίας (g)

Όταν ένα φωτόνιο υπόκειται σε σκέδαση από ένα σκεδαστικό υλικό, τότε αλλάζει η αρχική του διεύθυνση κατά γωνία θ , όπως φαίνεται στην Εικόνα 20.



Εικόνα 20: Ένα γεγονός σκέδασης μπορεί να προκαλέσει αλλαγή στη διεύθυνση του φωτονίου κατά γωνία θ σε σχέση με την αρχική του διεύθυνση. [24]

Η γωνιακή εξάρτηση της σκέδασης περιγράφεται μέσω της συνάρτησης σκέδασης $\rho(\theta)$ και για διάδοση φωτός σε βιολογικούς ιστούς δίνεται από τη σχέση :

$$\rho(\theta) = \frac{1}{4\pi} \cdot \frac{1-g^2}{(1+g^2-2g\cos\theta)^{3/2}} \quad \text{(Εξίσωση 14)}$$

$$\text{έτσι ώστε } \int_0^\pi \rho(\theta) \cdot 2\pi\sin\theta \, d\theta = 1$$

Ως g ορίζεται ο παράγοντας ανισοτροπίας και προσδιορίζει τη γωνιακή διασπορά του φωτός που σκεδάζεται. Επειδή στους βιολογικούς ιστούς το φως δεν σκεδάζεται σε όλες τις πιθανές κατευθύνσεις, αλλά κατευθύνεται κυρίως κατά την εμπρόσθια διεύθυνση (ανισοτροπική σκέδαση) είναι προτιμότερο να οριστεί μία μέση γωνία σκέδασης, η οποία περιγράφεται μέσω του παράγοντα ανισοτροπίας ως εξής:

$$g = \int_0^\pi \rho(\theta) \cos\theta \sin\theta d\theta = \langle \cos\theta \rangle \quad \text{ή ισοδύναμα}$$

$$g = \int_{-1}^1 \rho(\cos\theta) \cos\theta d(\cos\theta) \quad \text{(Εξίσωση 15)}$$

Ο παράγοντας ανισοτροπίας παίρνει τις εξής τιμές [24]:

- $g = -1$ (για εξ ολοκλήρου οπισθοσκέδαση) έως 1 (για εξ ολοκλήρου εμπρόσθια σκέδαση)
- $g = 0$ για ισοτροπική σκέδαση
- $g = 0.8$ έως 0.95 για τους περισσότερους βιολογικούς ιστούς
- $g = 0.7$ έως 0.99 για in vitro ιστούς στην περιοχή του ορατού και του κοντινού υπέρυθρου.

2.5 Ο ανηγμένος συντελεστής σκέδασης (μ'_s)

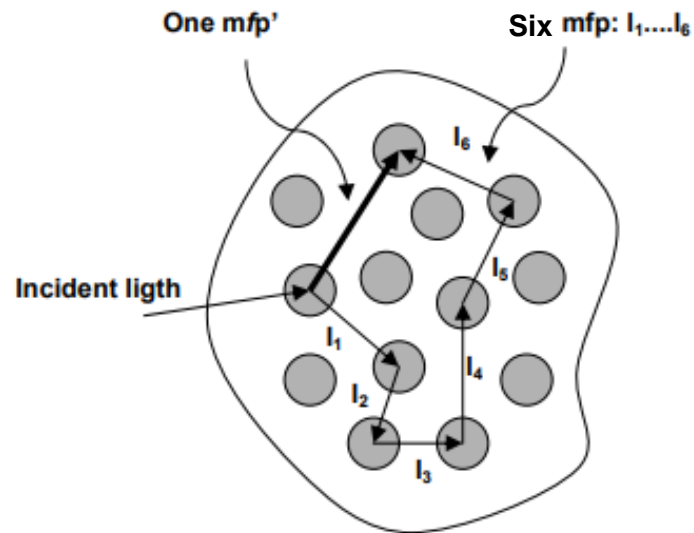
Για μία πιο ακριβή περιγραφή της σκέδασης, ο συντελεστής σκέδασης και ο παράγοντας ανισοτροπίας συνδυάζονται σε μία σχέση η οποία περιγράφει τον ανηγμένο συντελεστή σκέδασης ως εξής [24]:

$$\mu'_s = \mu_s \cdot (1 - g) \quad \text{(Εξίσωση 16)}$$

Ο σκοπός του ανηγμένου συντελεστή σκέδασης είναι να περιγράψει τη διάχυση των φωτονίων σε μία τυχαία διαδρομή με βήμα $1/\mu'_s$, όπου κάθε βήμα θα αφορά μία ισοτροπική σκέδαση (Εικόνα 21). Συνεπώς αντιστοίχως με πριν ορίζεται η μειωμένη μέση ελεύθερη διαδρομή (mfp') ως:

$$mfp' = \frac{1}{\mu'_s} \quad \text{(Εξίσωση 17)}$$

Ο συγκεκριμένος τρόπος περιγραφής της διάδοσης του φωτός είναι ιδιαίτερα χρήσιμος σε περιπτώσεις όπου πριν την απορρόφηση προηγούνται αρκετά φαινόμενα σκέδασης ($\mu_a \ll \mu_s'$).



Εικόνα 21: Η ισοδυναμία του $mfp'=1/\mu_s'$ με το $mfp=1/\mu_s$. Έξι βήματα mfp ισοδυναμούν με ένα mfp' . Ως six mfp ορίζεται η σειρά των βημάτων. [24]

Με τη βοήθεια των συντελεστών απορρόφησης (μ_a) και σκέδασης (μ_s) καθώς και της ανισοτροπίας (g) μπορούν να οριστούν δύο επιπλέον συντελεστές περιγραφής των οπτικών ιδιοτήτων των ιστών:

- ο συνολικός συντελεστής εξασθένισης $\mu_{tot} = \mu_a + \mu_s$ καθώς και
- ο ενεργός συντελεστής εξασθένισης $\mu_{eff} = \sqrt{3\mu_a[\mu_a + \mu_s(1 - g)]}$

2.6 Ο δείκτης διάθλασης (n) του μέσου απορρόφησης

Ο συνολικός δείκτης διάθλασης ενός μέσου υπολογίζεται από τη σχέση $n = n' + ik$, όπου το πραγματικό μέρος n' περιγράφει την εναπόθεση ενέργειας στο μέσο, ενώ το φανταστικό μέρος k δείχνει την εξασθένιση της έντασης ακτινοβολίας καθώς αυτή διαδίδεται σε μέσο πάχους L και προσδιορίζει το συντελεστή απορρόφησης μ_a . [25]

Στην περίπτωση ενός ιστού, η τιμή του πραγματικού δείκτη διάθλασης n' εξαρτάται από το ποσοστό του νερού (W) που υπάρχει σε αυτόν και υπολογίζεται από τη σχέση:

$$n' = n'_{\text{dry}} - (n'_{\text{dry}} - n'_{\text{water}}) \cdot W \quad (\text{Εξίσωση 18})$$

όπου n'_{dry} είναι ο δείκτης διάθλασης της ξηρής μάζας του ιστού και n'_{water} είναι ο δείκτης διάθλασης του νερού. Έχει υπολογιστεί ότι $n'_{\text{water}} = 1.33$ και $n'_{\text{dry}} = 1.50$.

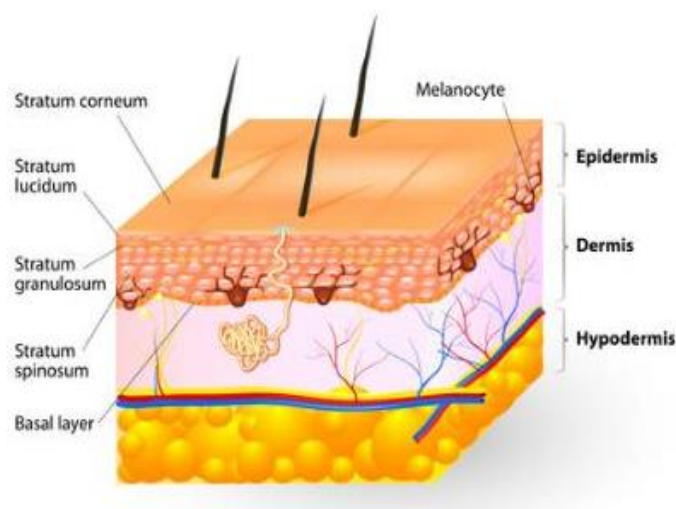
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 : Δέρμα

3.1 Η ανατομία του δέρματος

Το δέρμα αποτελεί το μεγαλύτερο ανθρώπινο όργανο, τόσο ως προς το βάρος του όσο και ως προς την επιφάνεια του σώματος που καλύπτει. Είναι η μαλακή εξωτερική κάλυψη των ιστών και προστατεύει τους μύες, τα οστά, τους συνδέσμους καθώς και τα εσωτερικά όργανα των οργανισμών. Το δέρμα διασυνδέεται με το περιβάλλον και αποτελεί γραμμή άμυνας από εξωτερικούς παράγοντες, όπως για παράδειγμα τα παθογόνα μικρόβια, ενώ παράλληλα προστατεύει το σώμα και ρυθμίζει τη θερμοκρασία του. Εκτιμάται πως το δέρμα ενός ενήλικα έχει έκταση περίπου 1.60 m² και αποτελεί το 8% του σωματικού του βάρους. [26]

Το δέρμα δεν είναι ομογενές, αλλά αποτελείται από μία ποικιλία κυττάρων τα οποία περιλαμβάνουν τριχοειδείς θύλακες, αδένες που εκκρίνουν ιδρώτα, αρτηρίες και φλέβες, καθώς και νευρικά και μυϊκά κύτταρα. Οι τρεις κυριότερες στιβάδες του δέρματος είναι:

- Η επιδερμίδα (epidermis)
- Το χόριο (corium ή dermis)
- Ο υποδόριος ή λιπώδης ιστός (subcutaneous tissue ή hypodermis)



Εικόνα 22: Η ανατομία του δέρματος. [26]

Η επιδερμίδα (*epidermis*), αποτελεί την εξωτερική στιβάδα του δέρματος με πάχος 50-150 μm. Στην επιφάνεια του δέρματος συναντούμε λιπίδια, τρίχες και πόρους, και είναι η στιβάδα στην οποία παράγονται ινώδεις πρωτεΐνες όπως η κερατίνη, το κύριο συστατικό των μαλλιών και των νυχιών. Η επιδερμίδα διαιρείται σε 5 στιβάδες: την ανώτερη στιβάδα *stratum corneum*, το *stratum lucidum*, το *stratum granulosum*, το *stratum spinosum* και τη βασική στιβάδα *stratum basale*.

Στην κορυφή της επιδερμίδας βρίσκεται το *stratum corneum*, μία στιβάδα η οποία αποτελείται από επίπεδα, νεκρά, επιδερμικά κύτταρα. Η παρουσία των νεκρών αυτών κυττάρων οφείλεται κυρίως στην απουσία αγγείων αίματος. Το *stratum corneum* αποτελεί για το δέρμα ένα προστατευτικό κάλυμμα το οποίο προστατεύει τους ιστούς από τραυματισμούς και απώλεια νερού. Το πάχος του είναι περίπου 10-20 μm στα περισσότερα σημεία του σώματος, εκτός από τα πέλματα των ποδιών και τις παλάμες, όπου εκεί είναι αρκετά πυκνότερο (500-600 μm).

Η στιβάδα *stratum lucidum* βρίσκεται μόνο στις περιοχές που καλύπτουν τα πέλματα και τις παλάμες. Είναι μία λεπτή, διαυγής στιβάδα νεκρών κυττάρων με μεγάλη διαθλαστική ικανότητα. Η τρίτη στιβάδα - το *stratum granulosum* αποτελείται από 2 έως 4 στρώματα κυττάρων και έχει πάχος περίπου 3 μm. Στην στιβάδα αυτή, οι ίνες κερατίνης που δημιουργούνται γεμίζουν τα κύτταρα και μειώνουν με αυτόν τον τρόπο την υγρασία τους. Το *stratum spinosum* αποτελείται από 14 στρώματα κυττάρων τα οποία ονομάζονται ακανθωτά, διότι έχουν μικρά αγκάθια στο εξωτερικό των μεμβρανών τους. Το πάχος της στιβάδας είναι τυπικά από 50 έως 150 μm. Τέλος, η βαθύτερη στιβάδα της επιδερμίδας είναι το *stratum basale* και αποτελείται μόνο από ένα στρώμα κυττάρων. Η στιβάδα αυτή διαθέτει μελανοκύτταρα όπου παράγεται η μελανίνη.

Η δεύτερη κύρια στιβάδα του δέρματος βρίσκεται κάτω από την επιδερμίδα και ονομάζεται χόριο - είναι παχύτερη από την επιδερμίδα (1-4 mm) και αποτελείται από μεγαλύτερου μεγέθους κύτταρα. Το χόριο είναι ένας ευρύς συνδετικός ιστός στον οποίο οφείλεται η ελαστικότητα και η υποστήριξη του δέρματος. Αποτελείται από δύο επιμέρους στιβάδες: το *papillary layer* και το *reticular layer*. Η πρώτη στιβάδα αποτελείται από νευρικά κύτταρα, και πληθώρα αιμοφόρων αγγείων και

φλεβών. Η δεύτερη στιβάδα αποτελείται από ίνες ελαστίνης οι οποίες παρέχουν την απαιτούμενη ελαστικότητα του δέρματος, καθώς και από ίνες κολλαγόνου οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη δομή και τη στήριξη του δέρματος.

Η τρίτη και τελευταία κύρια στιβάδα του δέρματος είναι ο λιπώδης ή υποδόριος ιστός. Είναι μία ελαστική στιβάδα με μεγάλη ποσότητα λιπωδών κυττάρων που απορροφούν τους κραδασμούς προστατεύοντας τα αγγεία του αίματος και τα νεύρα. Έχει πάχος 4-9 mm, το οποίο διαφέρει από άνθρωπο σε άνθρωπο και εξαρτάται από την κατανομή του λίπους στο σώμα.

3.2 Οπτικές ιδιότητες δέρματος

3.2.1 Συντελεστής απορρόφησης (μ_a) και ανηγμένος συντελεστής σκέδασης (μ_s)

Η φασματική περιοχή μεταξύ 600 και 1300 nm, αποτελεί την περιοχή του φάσματος με το μεγαλύτερο ενδιαφέρον. Σε αυτό το εύρος μηκών κύματος, οι τιμές του συντελεστή απορρόφησης μ_a κυμαίνονται μεταξύ 0.1 και 10 cm^{-1} . Πιο συγκεκριμένα, για μήκος κύματος 1300 nm, το οποίο όπως έχει προαναφερθεί θεωρείται το καταλληλότερο μήκος κύματος για απεικόνιση δέρματος με χρήση OCT, ο συντελεστής απορρόφησης για το ανθρώπινο δέρμα ισούται με $\mu_a = 10 \text{ cm}^{-1}$. [27]

Επιπλέον, για κάθε στιβάδα του δέρματος ο συντελεστής παίρνει τις εξής ακόλουθες τιμές [28]:

Πίνακας Ι : Τιμές συντελεστή απορρόφησης για τις τρεις στιβάδες του δέρματος στα 1300 nm.

Στιβάδα δέρματος	Συντελεστής απορρόφησης (μ_a) (cm^{-1})
Επιδερμίδα	0.7
Χόριο	0.9
Λιπώδης ή υποδόριος ιστός	1

Όσον αφορά στον ανηγμένο συντελεστή σκέδασης μ'_s , στο φασματικό εύρος 600-1300 nm οι ιδιότητες σκέδασης του δέρματος περιγράφονται από τη σχέση [29]:

$$\mu'_s = \mu_s \cdot (1 - g) = A\lambda^{-w_1} + B\lambda^{-w_2} \quad \text{(Εξίσωση 19)}$$

όπου A και B είναι σταθερές, η τιμή των οποίων μεταβάλλεται αναλόγως με την περιοχή του δέρματος ή του ιστού που εξετάζεται και w εξαρτάται από το μήκος κύματος.

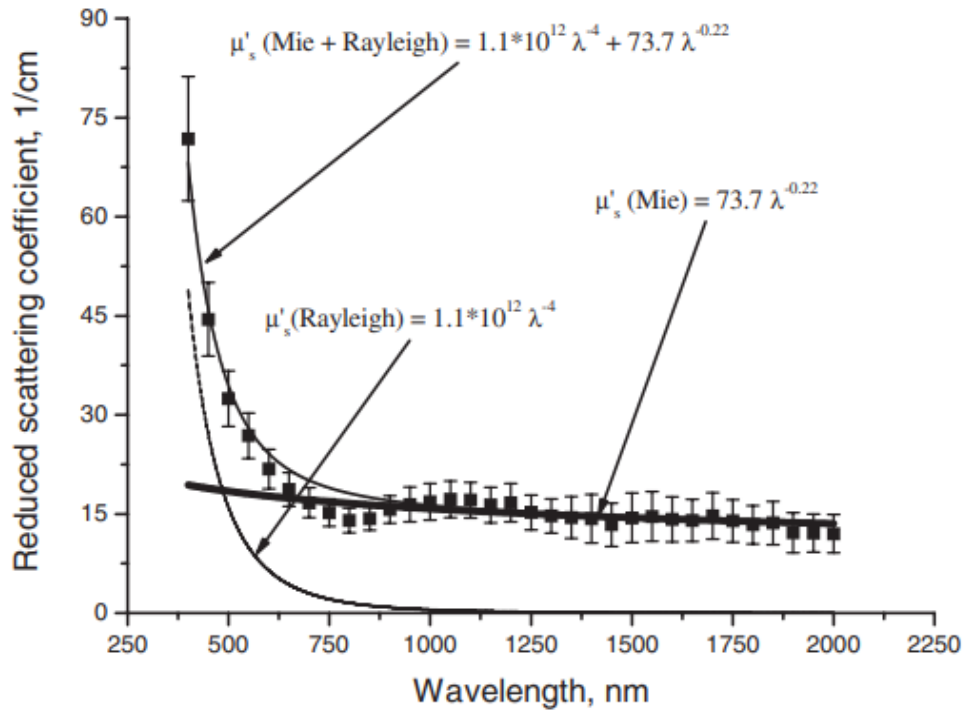
Για μήκη κύματος μεγαλύτερα από 1200 nm, το επικρατέστερο είδος σκέδασης είναι η σκέδαση Mie, γεγονός το οποίο επιβεβαιώνεται και από την Εικόνα 23. Ο ανηγμένος συντελεστής σκέδασης περιγράφεται επομένως από τη σχέση [29]:

$$\mu'_s(\lambda) = 73.7 \cdot \lambda^{-0.22} \quad \text{(Εξίσωση 20)}$$

και για μήκη κύματος από 1000 – 2200 nm οι τιμές του κυμαίνονται μεταξύ 3 και 16 cm^{-1} . Πιο συγκεκριμένα, για μήκος κύματος 1300 nm, ο συντελεστής ισούται με [30]:

$$\mu'_s(\lambda) = 73.7 \cdot \lambda^{-0.22} = 73.7 \cdot 1300^{-0.22} = 15.2 \text{ cm}^{-1} \quad \text{(Εξίσωση 21)}$$

με ένα εύρος τιμών από 8 – 23 cm^{-1} . [29]



Εικόνα 23: Εξάρτηση του ανηγμένου συντελεστή σκέδασης από το μήκος κύματος για σκέδαση Rayleigh και σκέδαση Mie. [29]

Με βάση την εξίσωση $\mu'_s = a \cdot \left(\frac{500}{\lambda}\right)^b$ και τα δεδομένα του Πίνακα II για τις παραμέτρους a και b , προκύπτει το ακόλουθο εύρος τιμών για τον ανηγμένο συντελεστή σκέδασης :

Πίνακας II : Εύρος τιμών ανηγμένου συντελεστή σκέδασης σε μήκος κύματος ακτινοβολίας 1300 nm για το ανθρώπινο δέρμα. Ο συντελεστής a αναφέρεται στην τιμή του συντελεστή για μήκος κύματος $\lambda=500$ nm ($\mu'_s(\lambda=500\text{nm})$), ενώ ο συντελεστής b είναι η δύναμη σκέδασης .

Δέρμα	a (cm^{-1})	b	$500/\lambda$	μ'_s (cm^{-1})
1	48.9	1.548	0.385	11.2
2	47.8	2.453	0.385	4.6
3	37.2	1.390	0.385	9.9
4	60.1	1.722	0.385	11.6
5	29.7	0.705	0.385	15.2

Για τις τρεις στιβάδες του δέρματος, ο ανηγμένος συντελεστής σκέδασης παίρνουν τις εξής τιμές [28]:

Πίνακας III : Τιμές ανηγμένου συντελεστή σκέδασης για τις τρεις στιβάδες του δέρματος στα 1300 nm.

Στιβάδα δέρματος	Ανηγμένος συντελεστής σκέδασης (μ_s') (cm^{-1})
Επιδερμίδα	24.5
Χόριο	18
Λιπώδης ή υποδόριος ιστός	17

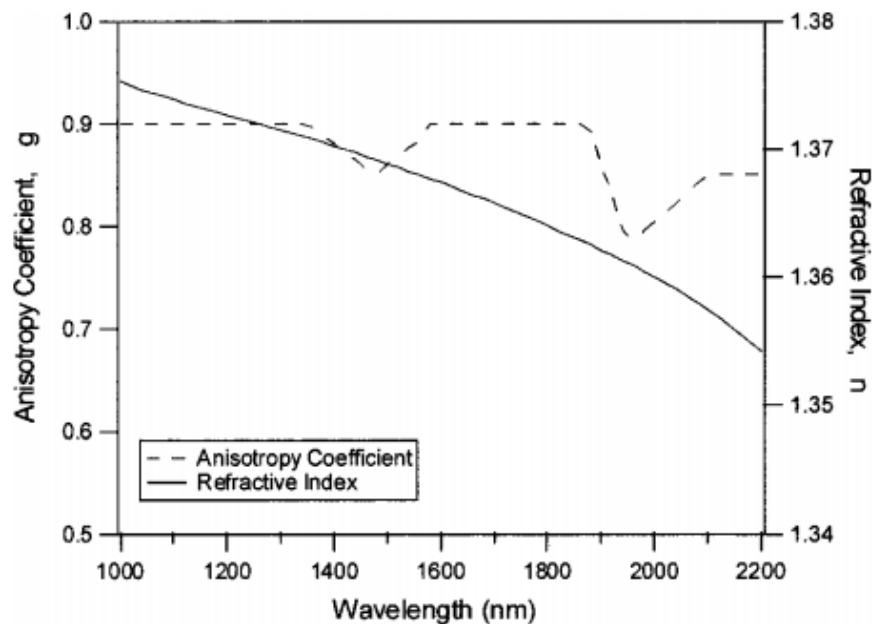
3.2.2 Δείκτης διάθλασης (n) και ανισοτροπία (g)

Ο προσδιορισμός του δείκτη διάθλασης σε ένα μέσο όπως το δέρμα, είναι σημαντικός στην κατανόηση της διασποράς του φωτός στις διάφορες στιβάδες του και μπορεί να δώσει επιπλέον πληροφορίες στη διάγνωση και τη θεραπεία. Για παράδειγμα, ο δείκτης διάθλασης του stratum corneum σχετίζεται με το ποσοστό της υγρασίας που υπάρχει στους ιστούς. Επιπλέον, οι τιμές του δείκτη διάθλασης παρουσιάζουν μικρές διαφοροποιήσεις, αναλόγως με τη στιβάδα του δέρματος που εξετάζεται. Οι διαφορετικές τιμές του είναι υπεύθυνες για την αύξηση της αντίθεσης ιδιαίτερα σε εικόνες οι οποίες έχουν αποκτηθεί μέσω της απεικόνισης OCT. [29]

Ο δείκτης διάθλασης του δέρματος κυμαίνεται σε ένα εύρος 1.35 - 1.55 και η τιμή του εξαρτάται από το ποσοστό της υγρασίας που υπάρχει στο δέρμα. Αναλόγως με το μήκος κύματος ακτινοβολίας που χρησιμοποιείται, η τιμή του υπολογίζεται από τη σχέση:

$$n = 0.7(A - B\lambda + C\lambda^2 - D\lambda^3 + E\lambda^4 - F\lambda^5) + 0.3 \times 1.5 \quad \text{(Εξίσωση 22)}$$

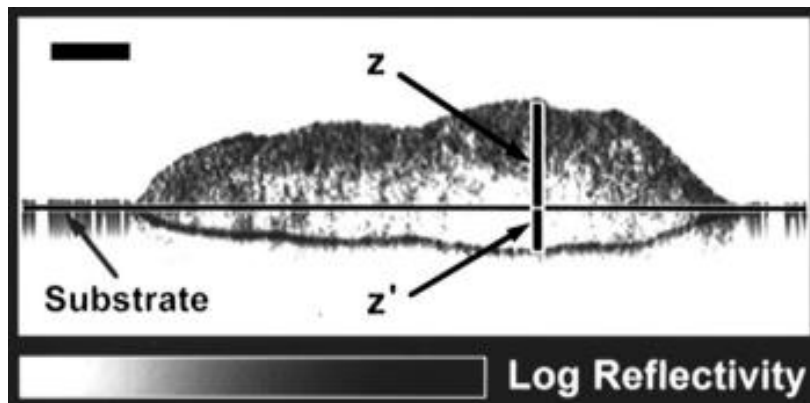
Όπου $A = 1.58$, $B = 8.45 \times 10^{-4}$, $C = 1.10 \times 10^{-6}$, $D = 7.19 \times 10^{-10}$, $E = 2.32 \times 10^{-13}$, $F = 2.98 \times 10^{-17}$ και το μήκος κύματος λ είναι σε nm [30]. Με βάση αυτή τη σχέση προκύπτει πως ο δείκτης διάθλασης του δέρματος κατά την απεικόνιση OCT σε μήκος κύματος 1300 nm ισούται με $n = 1.37$. Το αποτέλεσμα αυτό επαληθεύεται και από την Εικόνα 24 .



Εικόνα 24: Οι τιμές του συντελεστή ανισοτροπίας (συμπαγής γραμμή) και του δείκτη διάθλασης (διακεκομμένη γραμμή) συναρτήσει του μήκους κύματος. [30]

Υπάρχουν δύο μέθοδοι προσδιορισμού του δείκτη διάθλασης στο ανθρώπινο δέρμα μέσω της τεχνικής OCT. Η πρώτη μέθοδος (*ex vivo*) κάνει χρήση του οπτικού μήκους διαδρομής της ακτινοβολίας σε ένα δείγμα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για διαφορετικούς τύπους ιστού. Η δεύτερη μέθοδος (*focus tracking method*), μπορεί να χρησιμοποιηθεί για *ex vivo* και *in vivo* μετρήσεις κάνοντας χρήση του σημείου εστίασης της δέσμης καθώς το δείγμα κινείται κατά μήκος του οπτικού άξονα.

Κατά την πρώτη μέθοδο το δείγμα τοποθετείται επάνω σε μία ανακλαστική επιφάνεια και μέσω της απεικόνισης OCT παίρνουμε μία τελική εικόνα της ακόλουθης μορφής.



Εικόνα 25: Εικόνα OCT από ανθρώπινο δέρμα τοποθετημένο επάνω σε ανακλαστική επιφάνεια. Οι δύο κάθετοι άξονες αντιπροσωπεύουν τα z και z' . Η οριζόντια γραμμή στο πάνω αριστερό μέρος της εικόνας αναφέρεται σε κλίμακα απεικόνισης 500 μ m. [31]

Στον Πίνακα IV φαίνονται μερικές ενδεικτικές τιμές δεικτών διάθλασης, υπολογισμένοι και από τις δύο μεθόδους, με βάση την απεικόνιση OCT και για μήκος κύματος ακτινοβολίας 1300 nm.

Πίνακας IV: Ex vivo και in vivo τιμές του δείκτη διάθλασης μέσω απεικόνισης OCT για τις στιβάδες της επιδερμίδας, του χορίου και του υποδόριου ιστού για τις δύο μεθόδους μέτρησης με OCT στα 1300 nm. [31]

Στιβάδα δέρματος	Ex vivo	In vivo (δεύτερη μέθοδος)
Dermis	1.40 \pm 0.007 (πρώτη μέθοδος) 1.41 \pm 0.03 (δεύτερη μέθοδος)	-
stratum corneum	-	1.51 \pm 0.02
epidermis	-	1.34 \pm 0.01

Η οπτική ανισοτροπία του δέρματος οφείλεται κατά κύριο λόγο στις ίνες κολλαγόνου που υπάρχουν στο στιβάδα του χορίου. Καθώς η ακτινοβολία αλληλεπιδρά με τις ίνες, διασκορπίζεται σε τυχαίες κατευθύνσεις και τα φωτόνια αλλάζουν διεύθυνση κατά τυχαίο εύρος γωνιών. Σύμφωνα με την Εικόνα 24, για μήκος κύματος 1300 nm, ο συντελεστής ανισοτροπίας του δέρματος ισούται με $g = 0.9$. [30]

3.3 Μοντέλα περιγραφής ανιχνευόμενου σήματος OCT

Οι συντελεστές σκέδασης και απορρόφησης περιγράφονται με βάση την πιθανότητα αλληλεπίδρασης του φωτός ανά μονάδα μήκους διαδρομής. Το άθροισμά τους δίνει το συνολικό συντελεστή εξασθένησης ($\mu_{tot} = \mu_a + \mu_s$), ο οποίος περιγράφει την εξασθένηση της ακτινοβολίας λόγω των οπτικών ιδιοτήτων του δέρματος. Αντίθετα, ο συντελεστής εξασθένησης OCT (μ_{OCT}) περιγράφει την απώλεια του σήματος OCT, λόγω απορρόφησης και σκέδασης, συναρτήσει του βάθους. Συνεπώς όλες οι οπτικές ιδιότητες του δέρματος μπορούν να συνοψιστούν στον συντελεστή εξασθένησης μ_{OCT} . Υπάρχουν τρία μοντέλα [32] τα οποία μπορούν να περιγράψουν όλες τις οπτικές ιδιότητες με μία μοναδική παράμετρο, μ_{OCT} :

- Single-scattering model (μοντέλο απλής σκέδασης)
- Multiple-scattering model (μοντέλο πολλαπλής σκέδασης)
- Full electromagnetic wave model

Ανάμεσα στα τρία αυτά μοντέλα, το πρώτο είναι αυτό που χρησιμοποιείται με τη μεγαλύτερη συχνότητα.

3.3.1 Single-scattering model

Το μοντέλο αυτό αποτελεί το πιο απλό μοντέλο περιγραφής της εξασθένησης σήματος OCT συναρτήσει του βάθους. Σύμφωνα με το συγκεκριμένο μοντέλο, η δέσμη ακτινοβολίας διαδίδεται μετωπικά και εξασθενεί λόγω απορρόφησης και σκέδασης μέσα σε ένα δείγμα σύμφωνα με τον νόμο του Beer, έως ότου ένα γεγονός οπισθοσκέδασης την επιστρέψει στην πηγή ακτινοβολίας. Κάθε ανιχνευόμενη ακτινοβολία που προέρχεται από το δείγμα έχει υποστεί μόνο μία σκέδαση κατά την αλληλεπίδρασή του με αυτό. Η μέση τιμή του ανιχνευόμενου σήματος OCT περιγράφεται από τη σχέση:

$$\langle A(z) \rangle = A_0 \cdot e^{-\mu_{OCT} \cdot z} \quad \text{(Εξίσωση 23)}$$

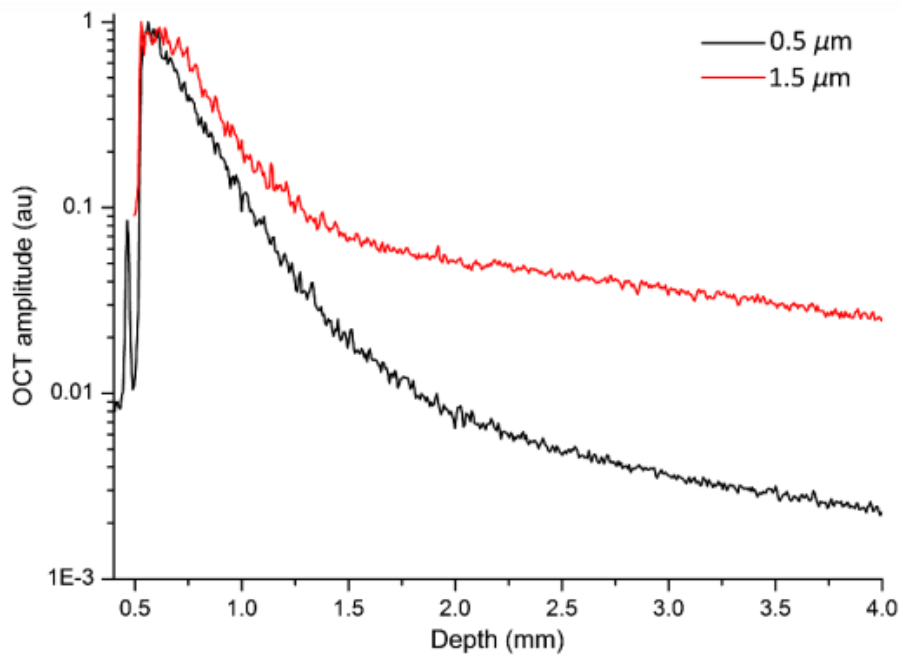
όπου $A(z)$ είναι το πλάτος του ανιχνευόμενου σήματος OCT, A_0 είναι το πλάτος του σήματος OCT σε βάθος $z=0$ (στην επιφάνεια του δείγματος) και μ_{OCT} είναι ο συντελεστής εξασθένισης. Το μοντέλο αυτό περιγράφει τη μέση τιμή του ανιχνευόμενου σήματος και όχι την απόλυτη τιμή του, λόγω των πιθανών διαφορετικών δεικτών διάθλασης μέσα στο δείγμα (π.χ. δέρμα).

3.3.2 Multiple-scattering model

Ένα μοντέλο το οποίο συνεισφέρει αρκετά στο πλάτος του ανιχνευόμενου σήματος OCT είναι το μοντέλο πολλαπλών σκεδάσεων. Σε ιστούς στους οποίους κυριαρχεί η σκέδαση κατά τη διάδοση, όπως για παράδειγμα στο αίμα, το φαινόμενο πολλαπλών σκεδάσεων είναι αναμενόμενο. Οι πολλαπλές σκεδάσεις οδηγούν σε χαμηλότερη διακριτική ικανότητα και εισάγει ένα επιπρόσθετο σήμα σε αυτό της απλής σκέδασης. Η συνεισφορά τους αυξάνει κυρίως:

- ✓ Για μεγάλα βάθη
- ✓ Για δείγματα με υψηλή σκέδαση κατά την μπροστινή κατεύθυνση
- ✓ Για δείγματα με υψηλό συντελεστή σκέδασης και χαμηλό NA

Στην Εικόνα 26 παρατηρείται η διαφορά στο σήμα OCT μεταξύ ενός ιστροπικού και ενός ανιστροπικού δείγματος διαμέτρων 0.5 και 1.5 μm αντίστοιχα, με σκοπό να απεικονιστεί η συνεισφορά των πολλαπλών σκεδάσεων. Οι γραφικές παραστάσεις έχουν προκύψει ύστερα από απεικόνιση με OCT στα 1300 nm.



Εικόνα 26: Μεταβολή σήματος OCT συναρτήσει του βάθους διείσδυσης για ισοτροπικό ($g=0.1$) (μαύρη γραμμή) και ανισοτροπικό δείγμα ($g=0.9$) (κόκκινη γραμμή) για μήκος κύματος 1300 nm. Ο συντελεστής ανισοτροπίας του δείγματος διαμέτρου 0.5 μm είναι πολύ μικρός, γι' αυτό και προσεγγιστικά το δείγμα θεωρείται ισοτροπικό. [32]

Μελέτες [33,34] έχουν δείξει πως για μέσα σκέδασης με $\mu_s < 0.6 \text{ cm}^{-1}$ το μοντέλο απλής σκέδασης δίνει καλή εκτίμηση του μ_s . Σε δείγματα με ελεγχόμενες οπτικές ιδιότητες, το μοντέλο πολλαπλών σκεδάσεων αρχίζει να συνεισφέρει σημαντικά στο σήμα OCT για δείγματα με συντελεστή σκέδασης $\mu_s > 1 \text{ cm}^{-1}$ και ανισοτροπία $g > 0.8$ [35]. Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη παράγραφο, το δέρμα αποτελεί ένα ανισοτροπικό μέσο με συντελεστή σκέδασης $\mu_s = 15.2 \text{ cm}^{-1}$ και σταθερά ανισοτροπίας $g = 0.9$. Επομένως σε μία απεικόνιση δέρματος είναι απαραίτητο να ληφθεί υπόψη η συνεισφορά των πολλαπλών σκεδάσεων στο τελικό σήμα OCT. Παρόλο που στην παρούσα μελέτη βασιστήκαμε στο single-scattering model για λόγους απλούστευσης, σε μία μελλοντική επέκταση της μελέτης θα ήταν απαραίτητη η εφαρμογή του μοντέλου πολλαπλών σκεδάσεων.

3.3.3 Full electromagnetic wave model

Το μοντέλο αυτό χρησιμοποιείται για την προσομοίωση 2-D και 3-D OCT εικόνων. Σε σύγκριση με δύο προηγούμενα μοντέλα, το συγκεκριμένο μοντέλο δεν λαμβάνει υπόψη τα σκεδαζόμενα σωματίδια μέσα στο υπό μελέτη δείγμα, καθιστώντας το με αυτό τον τρόπο ικανό να χρησιμοποιηθεί για μία ποικιλία συστημάτων, διαφορετικών γεωμετριών και παραμέτρων του δείγματος χωρίς να απαιτούνται προσεγγίσεις. Το βασικό μειονέκτημα τέτοιου είδους μοντέλων είναι πως θεωρούνται αρκετά ακριβά υπολογιστικά, ιδίως για δείγματα με υψηλό NA, γεγονός το οποίο περιορίζει τον όγκο και την πολυπλοκότητα των δειγμάτων που μπορούν να αναλυθούν. Επομένως λόγω της πολυπλοκότητας και του μεγάλου κόστους, τέτοια μοντέλα δεν ενδείκνυνται για μελέτη δειγμάτων και συνεπώς βιολογικών ιστών όπως το δέρμα, σε σχέση με τα μοντέλα σκέδασης που προαναφέρθηκαν. Με επιπλέον ανάπτυξη στην ισχύ των ηλεκτρονικών συστημάτων μπορούν όμως να συσχετίσουν πολύ καλά τη μικροσκοπική δομή και τις μακροσκοπικές παραμέτρους των βιολογικών ιστών προς απεικόνιση.[32]

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ – ΜΕΡΟΣ (Α)

- [1] M. Schwartz, A. Levine, O. Markowitz, Optical coherence tomography in dermatology, *Cutis.* 100 (2017) 163–166. <https://doi.org/10.3109/9781420003307-38>.
- [2] Y. Pan, D.L. Farkas, NONINVASIVE IMAGING OF LIVING HUMAN SKIN WITH DUAL-WAVELENGTH OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY IN TWO AND THREE DIMENSIONS, 3 (2021) 446–455.
- [3] L. Petersen, (12) United States Patent, 1 (2001).
- [4] W. Drexler, M. Liu, A. Kumar, T. Kamali, A. Unterhuber, R.A. Leitgeb, Optical coherence tomography today: speed, contrast, and multimodality, *J. Biomed. Opt.* 19 (2014) 071412. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.19.7.071412>.
- [5] M. Mogensen, B.M. Nürnberg, J.L. Forman, J.B. Thomsen, L. Thrane, G.B.E. Jemec, In vivo thickness measurement of basal cell carcinoma and actinic keratosis with optical coherence tomography and 20-MHz ultrasound, *Br. J. Dermatol.* 160 (2009) 1026–1033. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2008.09003.x>.
- [6] T. Gambichler, V. Jaedicke, S. Terras, Optical coherence tomography in dermatology: Technical and clinical aspects, *Arch. Dermatol. Res.* 303 (2011) 457–473. <https://doi.org/10.1007/s00403-011-1152-x>.
- [7] J. Olsen, J. Holmes, G.B.E. Jemec, Advances in optical coherence tomography in dermatology—a review, *J. Biomed. Opt.* 23 (2018) 1. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.23.4.040901>.
- [8] G. Gaitanis, I.D. Bassukas, Immunocryosurgery for non-superficial basal cell carcinoma: A prospective, open-label phase III study for tumours ≤ 2 cm in diameter, *Acta Derm. Venereol.* 94 (2014) 38–44. <https://doi.org/10.2340/00015555-1609>.
- [9] D.L. Mago, CAMPUS MONTERREY SCHOOL OF ENGINEERING DIVISION OF MECHATRONICS AND INFORMATION TECHNOLOGIES GRADUATE PROGRAM DOCTOR OF PHILOSOPHY in INFORMATION TECHNOLOGIES AND COMMUNICATIONS MAJOR IN OPTICS Implementation of a two-photon Michelson interferometer for Q, (2012).
- [10] D.P. Popescu, L.P. in. Choo-Smith, C. Flueraru, Y. Mao, S. Chang, J. Disano, S. Sherif, M.G. Sowa, Optical coherence tomography: Fundamental principles, instrumental designs and biomedical applications, *Biophys. Rev.* 3 (2011) 155–169. <https://doi.org/10.1007/s12551-011-0054-7>.
- [11] M. Wojtkowski, B. Kaluzny, R.J. Zawadzki, New directions in ophthalmic optical coherence tomography, *Optom. Vis. Sci.* 89 (2012) 524–542. <https://doi.org/10.1097/OPX.0b013e31824eecb2>.

- [12] T.S. Ralston, D.L. Marks, F. Kamalabadi, S.A. Boppart, Deconvolution methods for mitigation of transverse blurring in optical coherence tomography, *IEEE Trans. Image Process.* 14 (2005) 1254–1264. <https://doi.org/10.1109/TIP.2005.852469>.
- [13] P.C. Scribe, D. Handler, Coherence Length Measurement System Product Requirements Document ASML / Tao Chen Faculty Advisor : Professor Thomas Brown, (2017) 1–17.
- [14] M. Freiberger, A time domain optical coherence tomograph for laboratory investigations on phantoms and human skin, *Medizintechnik.* (2005).
- [15] Y.M. Liew, R.A. McLaughlin, F.M. Wood, D.D. Sampson, Reduction of image artifacts in three-dimensional optical coherence tomography of skin in vivo, *J. Biomed. Opt.* 16 (2011) 116018. <https://doi.org/10.1117/1.3652710>.
- [16] Y.M. Liew, R.A. McLaughlin, A. Curatolo, D.D. Sampson, Assessment and correction of imaging artifacts in skin imaging using fibre-based optical coherence tomography, 35th Aust. Conf. Opt. Fibre Technol. ACOFT 2010. (2010). <https://doi.org/10.1109/acoft.2010.5929920>.
- [17] P. Carvalho, Optical coherence tomography - Layout Simulation Using MATLAB, Univ. Coimbra Dep. Física. (2016). <http://hdl.handle.net/10316/31107>.
- [18] A. Agrawal, T.J. Pfefer, P.D. Woolliams, P.H. Tomlins, G. Nehmetallah, Methods to assess sensitivity of optical coherence tomography systems, *Biomed. Opt. Express.* 8 (2017) 902. <https://doi.org/10.1364/boe.8.000902>.
- [19] L. Carrion, M. Lestrade, Z. Xu, G. Touma, R. Maciejko, M. Bertrand, Comparative study of optical sources in the near infrared for optical coherence tomography applications, *J. Biomed. Opt.* 12 (2007) 014017. <https://doi.org/10.1117/1.2710242>.
- [20] S.A. Boppart, Optical coherence tomography: Technology and applications for neuroimaging, *Psychophysiology.* 40 (2003) 529–541. <https://doi.org/10.1111/1469-8986.00055>.
- [21] M.Z. Vardaki, N. Kourkoumelis, Tissue Phantoms for Biomedical Applications in Raman Spectroscopy: A Review, *Biomed. Eng. Comput. Biol.* 11 (2020) 117959722094810. <https://doi.org/10.1177/1179597220948100>.
- [22] What exactly is happening during an absorption or emission of, say, a photon by an electron? (Mathematics appreciated.) - Quora, (n.d.). <https://www.quora.com/What-exactly-is-happening-during-an-absorption-or-emission-of-say-a-photon-by-an-electron-Mathematics-appreciated> (accessed May 28, 2021).
- [23] Solved: Photon P in Figure Q28.35 moves an electron from energy le... | Chegg.com, (n.d.). <https://www.chegg.com/homework-help/photon-p-figure-q2835-moves-electron-energy-level-n-1-energy-chapter-28-problem-35mcq->

- solution-9780321908865-exc (accessed May 28, 2021).
- [24] J.L. Boulnois, Photophysical processes in recent medical laser developments: A review, *Lasers Med. Sci.* 1 (1986) 47–66. <https://doi.org/10.1007/BF02030737>.
- [25] S.L. Jacques, Erratum: Optical properties of biological tissues: A review (*Physics in Medicine and Biology* (2013) 58), *Phys. Med. Biol.* 58 (2013) 5007–5008. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/58/14/5007>.
- [26] U. of I. Maria Varaka, No Title, n.d.
- [27] R.R. Anderson, J.A. Parrish, The optics of human skin, *J. Invest. Dermatol.* 77 (1981) 13–19. <https://doi.org/10.1111/1523-1747.ep12479191>.
- [28] E. Salomatina, B. Jiang, J. Novak, A.N. Yaroslavsky, Optical properties of normal and cancerous human skin in the visible and near-infrared spectral range, *J. Biomed. Opt.* 11 (2006) 064026. <https://doi.org/10.1117/1.2398928>.
- [29] A.N. Bashkatov, E.A. Genina, V.I. Kochubey, V. V. Tuchin, Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm, *J. Phys. D. Appl. Phys.* 38 (2005) 2543–2555. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/38/15/004>.
- [30] T.L. Troy, S.N. Thennadil, Optical properties of human skin in the near infrared wavelength range of 1000 to 2200 nm, *J. Biomed. Opt.* 6 (2001) 167. <https://doi.org/10.1117/1.1344191>.
- [31] G.J. Tearney, M.E. Brezinski, B.E. Bouma, M.R. Hee, J.F. Southern, J.G. Fujimoto, Determination of the refractive index of highly scattering human tissue by optical coherence tomography, *Opt. Lett.* 20 (1995) 2258. <https://doi.org/10.1364/ol.20.002258>.
- [32] P. Gong, M. Almasian, G. van Soest, D.M. de Bruin, T.G. van Leeuwen, D.D. Sampson, D.J. Faber, Parametric imaging of attenuation by optical coherence tomography: review of models, methods, and clinical translation, *J. Biomed. Opt.* 25 (2020) 1. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.25.4.040901>.
- [33] D.J. Faber, F.J. van der Meer, M.C.G. Aalders, T.G. van Leeuwen, Quantitative measurement of attenuation coefficients of weakly scattering media using optical coherence tomography, *Opt. Express.* 12 (2004) 4353. <https://doi.org/10.1364/opex.12.004353>.
- [34] A.I. Kholodnykh, I.Y. Petrova, M. Motamedi, R.O. Esenaliev, Accurate measurement of total attenuation coefficient of thin tissue with optical coherence tomography, *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* 9 (2003) 210–221. <https://doi.org/10.1109/JSTQE.2003.814194>.
- [35] M. Almasian, N. Bosschaart, T.G. van Leeuwen, D.J. Faber, Validation of quantitative attenuation and backscattering coefficient measurements by optical coherence tomography in the concentration-dependent and multiple scattering regime, *J. Biomed. Opt.* 20 (2015) 121314. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.20.12.121314>.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ (B)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 : Υλικά και Μέθοδοι

4.1 Ανάλυση εικόνων OCT υγιούς δέρματος και BCC

Για τις ανάγκες της παρούσας διπλωματικής εργασίας χρησιμοποιήθηκε το OCT NITID (Dermalumics, Spain). Είναι ένα ιντερφερόμετρο οπτικής ίνας (fibre-optic interferometer) με πηγή φωτός που εκπέμπει σε μήκος κύματος 1300nm. Η αξονική και εγκάρσια διακριτική ικανότητά του ισούται με 11μm και 12μm αντίστοιχα, ενώ το βάθος διείσδυσης του φωτός φτάνει τα 1.5mm. Δίνει τη δυνατότητα δημιουργίας δυσδιάστατων εικόνων του δέρματος σε πραγματικό χρόνο, με μέγεθος 9 x 1.5mm. [1]

Η παρούσα εργασία είχε ως σκοπό τον προσδιορισμό των οπτικών ιδιοτήτων (υγιές και πάσχον, BCC), καθώς και του πάχους του ανθρωπίνου δέρματος.

Για τον προσδιορισμό των οπτικών ιδιοτήτων του δέρματος με τη χρήση OCT χρησιμοποιήθηκε η προσέγγιση του curve – fitting (CF), μέθοδος η οποία αρχικά προτάθηκε από τον Faber [2]. Η διάκριση μεταξύ υγιούς δέρματος και BCC βασίζεται στις διαφορές του ολικού συντελεστή εξασθένησης (μ_{tot}) και απαιτεί τον ακριβή υπολογισμό του. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της συσχέτισης του σήματος OCT συναρτήσει του βάθους διείσδυσης του φωτός και του μ_{tot} , και εφαρμόζοντας το μοντέλο σε μία περιοχή ενδιαφέροντος της εικόνας OCT.

Στο μοντέλο απλής σκέδασης (single – scattering model) που εφαρμόζεται κατά κύριο λόγο σε απεικονίσεις δέρματος OCT, μόνο το φως το οποίο οπισθοσκεδάζεται μία φορά συνεισφέρει στο σήμα OCT. Η ένταση του σήματος δίνεται από τον νόμο του Lambert - Beer:

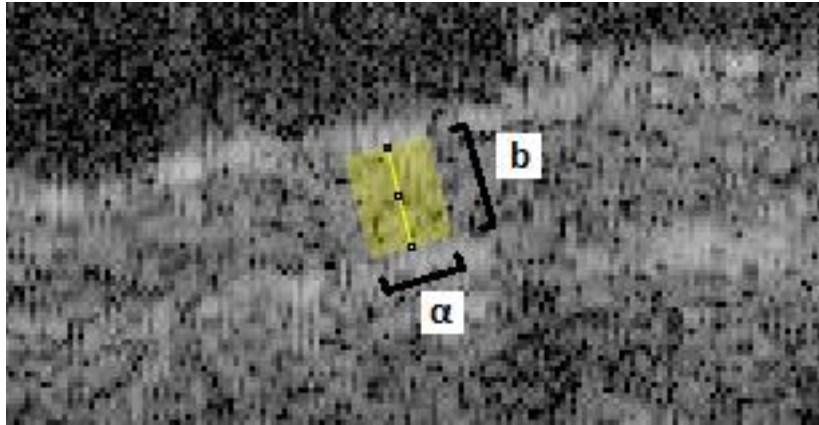
$$I(z) \propto e^{-2\mu_{tot} \cdot z}$$

όπου ο παράγοντας 2 αφορά τη διπλή εξασθένηση του φωτός κατά τη διαδρομή του στο εσωτερικό του δέρματος (κατά την είσοδο και κατά την οπισθοσκέδαση).

Στην παρούσα εργασία το curve – fitting εφαρμόστηκε στις εικόνες OCT δέρματος με τη βοήθεια του λογισμικού ImageJ. Στις εικόνες OCT παρατηρείται έντονα το φαινόμενο speckle noise, επομένως η χρήση παραμέτρων όπως despeckle και smoothing, πριν τη βασική επεξεργασία των εικόνων, θεωρείται απαραίτητη προκειμένου να βελτιωθεί η ποιότητα της εικόνας. Η μείωση του θορύβου στις εικόνες επιτυγχάνεται με τη χρήση διδιάστατων median filters. Τέτοιου είδους φίλτρα μπορούν να μειώσουν το θόρυβο στις εικόνες OCT διατηρώντας ταυτόχρονα σχετικά αναλλοίωτη τη δομή και μορφολογία την απεικονιζόμενης περιοχής. Η επεξεργασία των εικόνων στην παρούσα εργασία έγινε με χρήση προγραμματισμού αφού το λογισμικό ImageJ δεν υποστηρίζει μεταβλητές despeckle και smoothing. Η υλοποίηση έγινε σε γλώσσα προγραμματισμού Python με χρήση της βιβλιοθήκης OpenCV (<https://opencv.org/>) με χρήση του αλγόριθμου Non-local Means (συνάρτηση: cv.fastNlMeansDenoising()) [3].

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, η εικόνα αρχικά χωρίζεται σε περιοχές $(2k + 1) \times (2k + 1)$, όπου k είναι ο αριθμός pixel της περιοχής. Το gray level του κεντρικού pixel (P) της περιοχής αντικαθίσταται από τον μέσο όρο των gray level μόνο γειτονικών pixel (K) που έχουν τιμές παρόμοιες με αυτές του P . Ένα averaging σε λίγα pixel (μικρό K) οδηγεί σε μικρή μείωση θορύβου και διατήρηση των λεπτομερειών της μορφολογίας της περιοχής. Αντιθέτως, με averaging σε πολλά pixel (μεγάλο K) επιτυγχάνεται μία αρκετά ικανοποιητική μείωση θορύβου, οδηγώντας όμως σε απώλεια πληροφορίας, πιθανά σημαντικής για την κλινική διάγνωση [4].

Ύστερα από την εφαρμογή των παραμέτρων despeckle και smoothing, προχωρήσαμε στην επεξεργασία των εικόνων OCT με χρήση του λογισμικού ImageJ. Έγινε βαθμονόμηση κλίμακας για μετατροπή των pixel της εικόνας OCT σε πραγματικές διαστάσεις βάθους (mm) στο δέρμα, και ορίστηκε το εύρος και το μήκος της περιοχής ενδιαφέροντος στα 16 και 0.11 mm αντίστοιχα.



Εικόνα 27: Περιοχή ενδιαφέροντος στο εσωτερικό της επιδερμίδας με σκοπό τον προσδιορισμό του συντελεστή μ_{tot} . Με (α) παριστάνεται το εύρος ενώ με (β) το μήκος της περιοχής.

Συγκεκριμένα για το μήκος της περιοχής ενδιαφέροντος, αυτό επιλέχθηκε με βάση τη βιβλιογραφία [5,6] και πρέπει να είναι μεταξύ 0.11 και 0.2mm.

Η μέθοδος curve – fitting επιβάλλει οι περιοχές ενδιαφέροντος στην εικόνα OCT να αποτελούνται (κατά ύψος) από τουλάχιστον 15 pixels [5]. Η αντιστοίχιση του αριθμού pixel σε mm της περιοχής έγινε με βάση τον ακόλουθο υπολογισμό:

- Όλες οι εικόνες που επεξεργαστήκαμε έχουν διαστάσεις 1275 x 512 pixel.
- Το μήκος σάρωσης ισούται με 9 mm.

Τα 1275 pixel αντιστοιχούν σε 9mm περιοχής δέρματος.

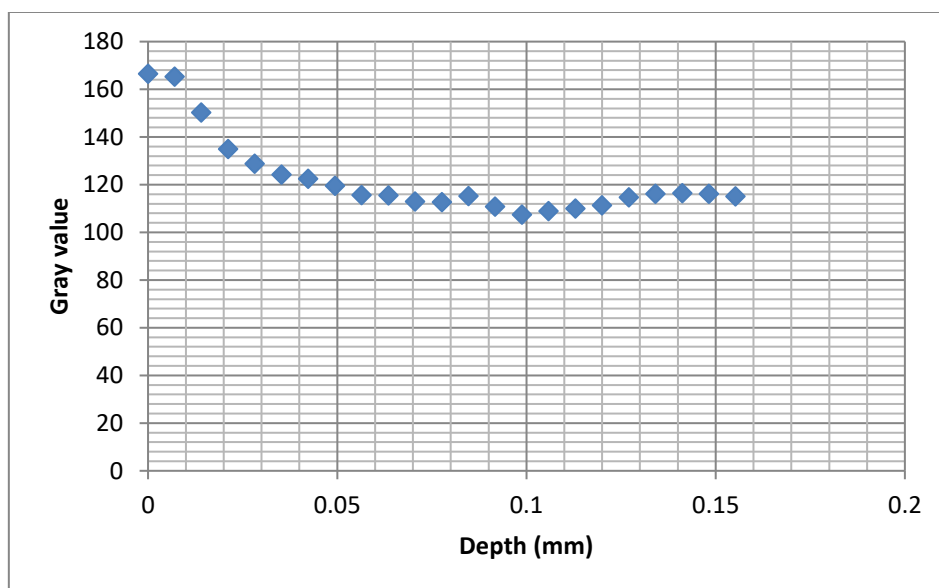
Τα 15 pixel θα αντιστοιχούν σε x mm περιοχής δέρματος.

- Επομένως καταλήξαμε πως το μήκος της περιοχής πρέπει να είναι μεγαλύτερο από 0.11 mm.

Το μήκος της περιοχής στο εσωτερικό του BCC ή της επιδερμίδας θα πρέπει να φτάνει έως το βάθος των 0.2 mm, δηλαδή αρκετά επιφανειακά, διότι από τη βιβλιογραφία [6] αυτό θεωρείται το προβλεπόμενο βάθος για single scattering.

Στη συνέχεια προχωρήσαμε σε υπολογισμό του ολικού συντελεστή εξασθένισης για υγιείς και BCC περιοχές των εικόνων OCT. Εφαρμόσαμε εκθετικό fit στα δεδομένα

που προέκυψαν από το λογισμικό ImageJ, διότι η ένταση του φωτός που διαδίδεται μέσα σε ένα μέσο ακολουθεί τον νόμο εκθετικής μείωσης του Lambert – Beer [2].



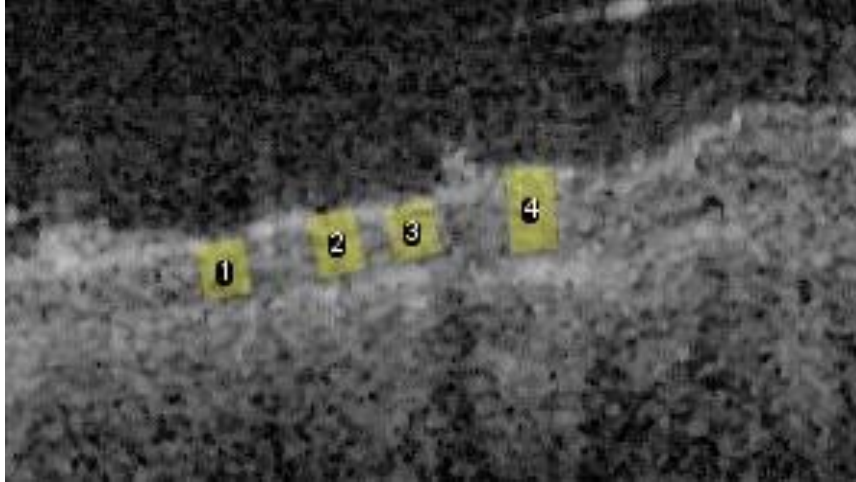
Διάγραμμα 1 : Γραφική παράσταση των τιμών gray value των pixel συναρτήσει του βάθους διείσδυσης του φωτός. Τα δεδομένα δείχνουν εκθετική μείωση με αύξηση του βάθους στο εσωτερικό της επιδερμίδας, γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με τον νόμο του Lambert – Beer.

Η ακριβής τιμή του συντελεστή σε κάθε περιοχή ενδιαφέροντος, προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας την σχέση[7]:

$$\mu_{tot} = \frac{\ln \left(10^{I_1/10} \right) - \ln \left(10^{I_2/10} \right)}{2(z_2 - z_1)}$$

Όπου ως z_1 ορίζεται το βάθος στην επιφάνεια της επιδερμίδας (το οποίο ισούται με μηδέν), z_2 το βάθος διείσδυσης της ακτινοβολίας στο εσωτερικό της επιδερμίδας έως το σημείο ακριβώς επάνω από τη διαχωριστική επιφάνεια επιδερμίδας – χορίου (DEJ), ενώ I_1 και I_2 είναι οι αντίστοιχες τιμές mean gray values των pixel σε βάθη z_1 και z_2 .

Έχοντας ακολουθήσει τα βήματα με τη σειρά που περιγράφηκαν, στην εικόνα OCT οι περιοχές μέτρησης έχουν την ακόλουθη μορφή:



Εικόνα 28: Τελική μορφή περιοχών ενδιαφέροντος στο εσωτερικό του δέρματος.

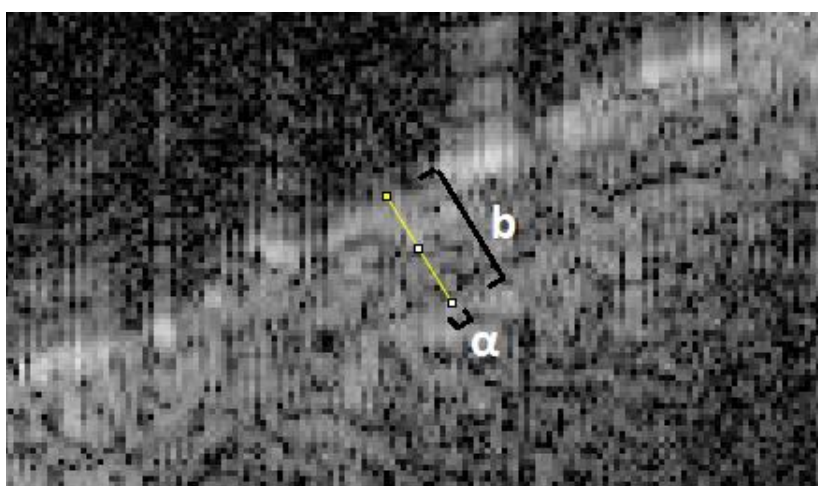
4.2 Ανάλυση εικόνων OCT υγιούς δέρματος ύστερα από τοποθέτηση index matching gel στην επιφάνειά του

Σε συνέχεια της ανάλυσης προχωρήσαμε στον προσδιορισμό του πάχους της επιδερμίδας καθώς και του ολικού συντελεστή εξασθένισης (μ_{tot}), ύστερα από την τοποθέτηση λεπτής στρώσης index matching gel πάνω στο δέρμα. Συγκεκριμένα, τα gel τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα εξής:

- Βαζελίνη (Vaseline)
- Προπυλέν-γλυκόλη (PG)
- Προπυλέν-γλυκόλη + ολεϊκό οξύ (PG + OA)
- Υγρή Βαζελίνη (Liquid Vaseline)

Αρχικά έγινε η επεξεργασία των εικόνων με despeckle και smoothing μέσω της γλώσσας προγραμματισμού Python, και στη συνέχεια με χρήση του λογισμικού

ImageJ και εφαρμόζοντας τη μέθοδο curve – fitting, υπολογίστηκε ο συντελεστής μ_{tot} . Όσον αφορά το πάχος της επιδερμίδας σε κάθε περιοχή ενδιαφέροντος, αυτό προσδιορίστηκε μέσω μέτρησης της απόστασης από την επιφάνεια του δέρματος έως τη διαχωριστική επιφάνεια επιδερμίδας – χορίου (DEJ). Επιπλέον, ορίστηκε το εύρος καθώς και το μήκος της περιοχής ενδιαφέροντος ίσο με 1 και 0.11mm αντίστοιχα, με το μήκος της περιοχής να κυμαίνεται και σε αυτή την περίπτωση μεταξύ των τιμών 0.11 – 0.2mm, παρομοίως με την παράγραφο 4.1.



Εικόνα 29: Περιοχή ενδιαφέροντος με σκοπό τον προσδιορισμό του πάχους της επιδερμίδας. Με (α) παριστάνεται το εύρος ενώ με (β) το μήκος της περιοχής.

Για τους υπολογισμούς μας χρησιμοποιήθηκαν εικόνες δέρματος με και χωρίς index matching gel, προκειμένου να γίνει η σύγκριση τιμών και να προσδιοριστεί η ποσοστιαία μεταβολή τόσο του συντελεστή εξασθένησης όσο και του πάχους της επιδερμίδας. Συγκεκριμένα, η απεικόνιση του δέρματος ύστερα από την τοποθέτηση του gel έγινε σε δύο στάδια, ακριβώς μετά την τοποθέτηση ($t = 0 \text{ min}$) και μετά το πέρας χρονικού διαστήματος 90 λεπτών ($t = 90 \text{ min}$).

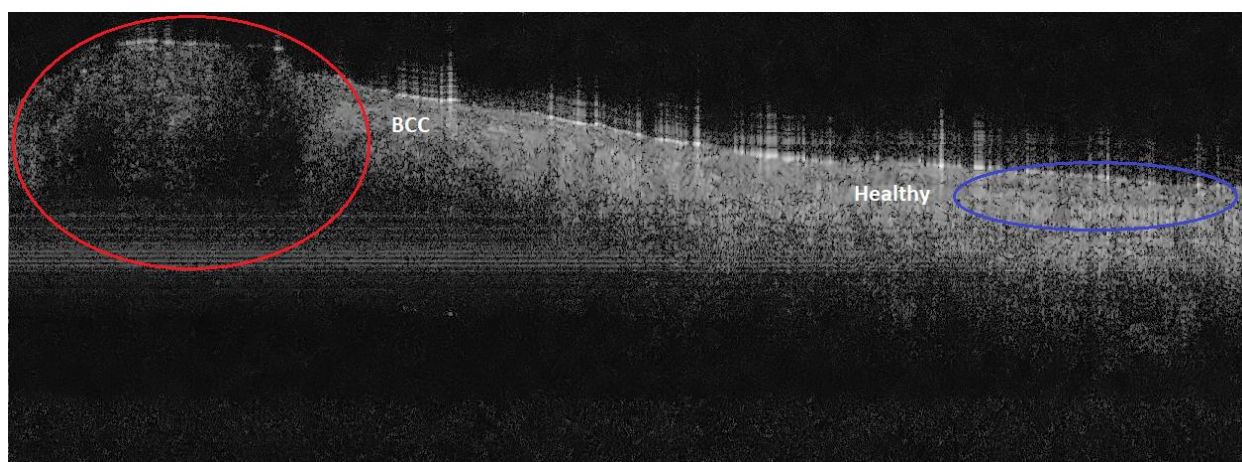
Οι εικόνες OCT καθώς και τα αποτελέσματα για τον ολικό συντελεστή εξασθένησης και το πάχος επιδερμίδας, παρατίθενται στο Παράρτημα Εικόνων και Πινάκων αντίστοιχα. Συγκεκριμένα, με βάση το επίθεμα που τοποθετήθηκε στο δέρμα, οι εικόνες OCT του παραρτήματος διαχωρίζονται ως εξής:

- Vaseline : Εικόνες Π'1 έως Π'3
- PG : Εικόνες Π'4 έως Π'6
- PG + OA : Εικόνες Π'7 έως Π'9
- Liquid Vaseline : Εικόνες Π'10 έως Π'12
- Vaseline – 90min : Εικόνες Π'13 έως Π'15
- PG – 90min : Εικόνες Π'16 έως Π'18
- PG + OA – 90min : Εικόνες Π'19 έως Π'21
- Liquid Vaseline – 90min : Εικόνες Π'22 έως Π'26

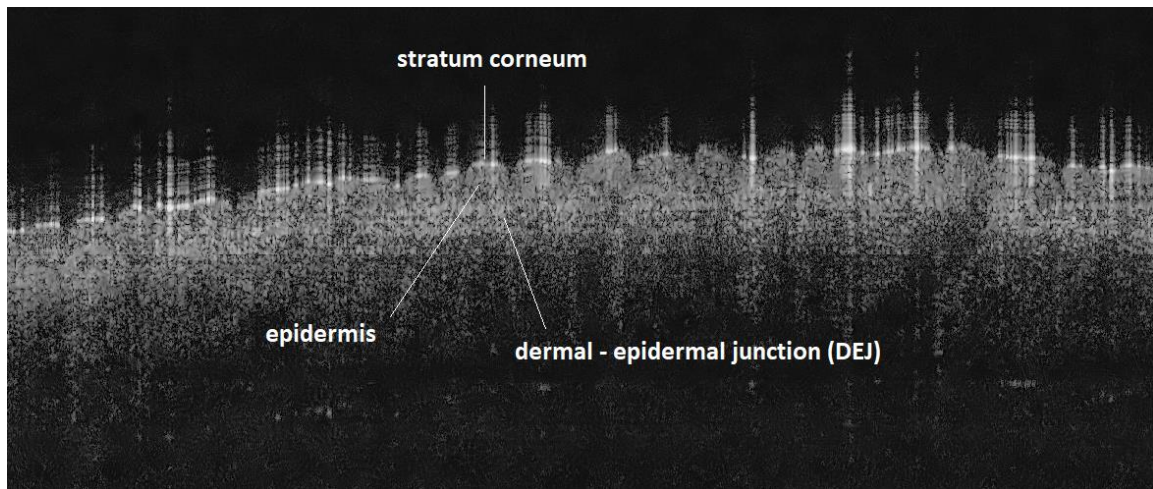
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 : ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1 Αποτελέσματα ανάλυσης εικόνων OCT (I) – Υγιές και πάσχον δέρμα με BCC

Για τις ανάγκες της παρούσας διπλωματικής εργασίας χρησιμοποιήθηκαν 31 εικόνες/δείγματα οι οποίες προήλθαν από ασθενείς της Κλινικής Δερματικών και Αφροδίσιων Νόσων του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων (ΠΓΝΙ) και αφορούν περιοχές υγιούς δέρματος και πάσχοντος δέρματος με βασικοκυτταρικό καρκίνωμα, BCC. Σημειώνεται πως οι 12 (Εικόνες Π3 έως Π14 του Παραρτήματος) απεικονίζουν μόνο υγιές δέρμα, ενώ οι υπόλοιπες 19 περιέχουν τόσο υγιείς όσο και BCC περιοχές. Η εκτίμηση της παθολογίας των επιμέρους περιοχών στις εικόνες OCT από ασθενείς με ιστοπαθολογικά επιβεβαιωμένο BCC, έγινε από εξειδικευμένο δερματολόγο.



Εικόνα 30: Περιοχές υγιούς δέρματος (μπλε) και BCC (κόκκινο), όπως αυτές εκτιμήθηκαν από εξειδικευμένο δερματολόγο.



Εικόνα 31: Η ανατομία του υγιούς δέρματος.

Οι εικόνες OCT που επεξεργαστήκαμε καθώς και τα αποτελέσματα του ολικού συντελεστή εξασθένισης για υγιές δέρμα και BCC, παρατίθενται στο Παράρτημα Εικόνων και Πινάκων αντίστοιχα.

5.1.1 Στατιστική ανάλυση τιμών ολικού συντελεστή εξασθένισης (μ_{tot}) για υγιές δέρμα και BCC

Με χρήση του προγράμματος SPSS έγινε στατιστική ανάλυση των τιμών του συντελεστή για υγιές δέρμα και BCC, με σκοπό να διαπιστώσουμε εάν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους. Τα δύο δείγματα (μ_{tot} και περιοχή δέρματος) είναι ανεξάρτητα, και επειδή οι περιοχές υγιούς δέρματος και πάσχοντος αφορούν περιοχές που προέρχονται από την ίδια εικόνα OCT, έγινε χρήση του μη παραμετρικού τεστ Paired t - test. Εξετάστηκε το ερώτημα εάν το υγιές δέρμα έχει υψηλότερο ολικό συντελεστή εξασθένισης από το BCC και τα αποτελέσματα που προέκυψαν ήταν τα εξής:

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Healthy	56.5458	62	20.86591	2.64997
	BCC	43.9915	62	17.48021	2.21999

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Healthy & BCC	62	.099	.442

Paired Samples Test

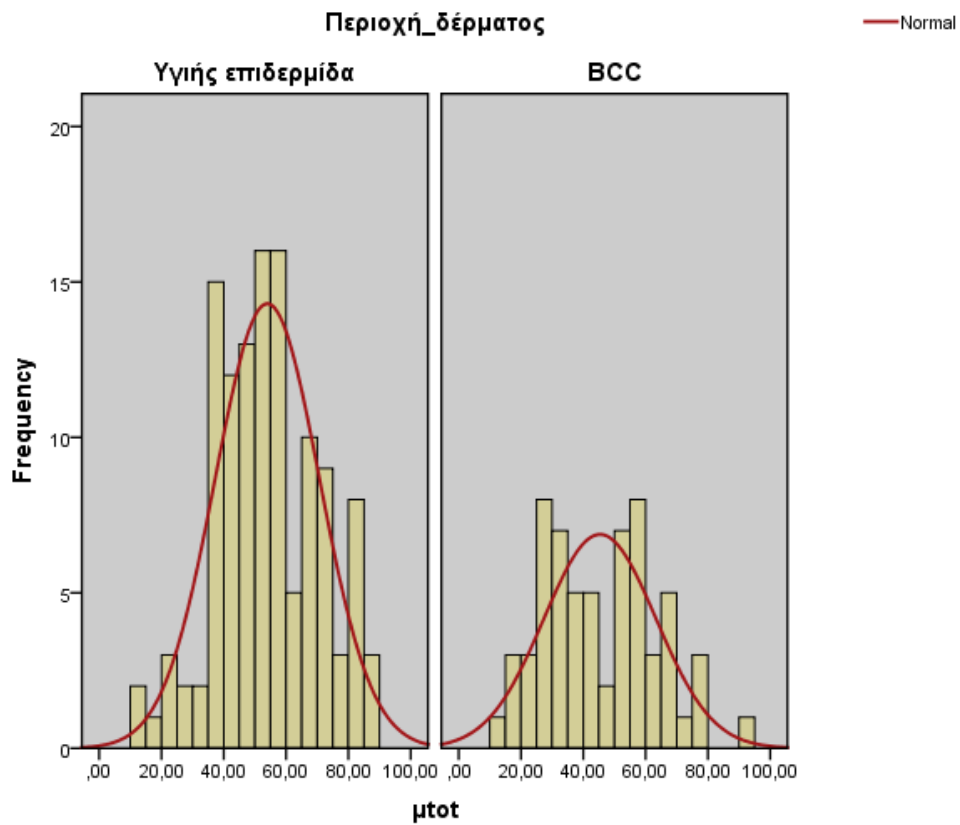
		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Healthy - BCC	12.55435	25.85320	3.28336	5.98887	19.11984	3.824	61	.000

Στον Πίνακα Paired Samples Statistics παρατηρείται διαφορά μεταξύ των δύο μέσων όρων (56.55 mm^{-1} για την υγιή επιδερμίδα και 43.99 mm^{-1} για BCC). Αυτό αποτελεί μία αρχική ένδειξη ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο δειγμάτων.

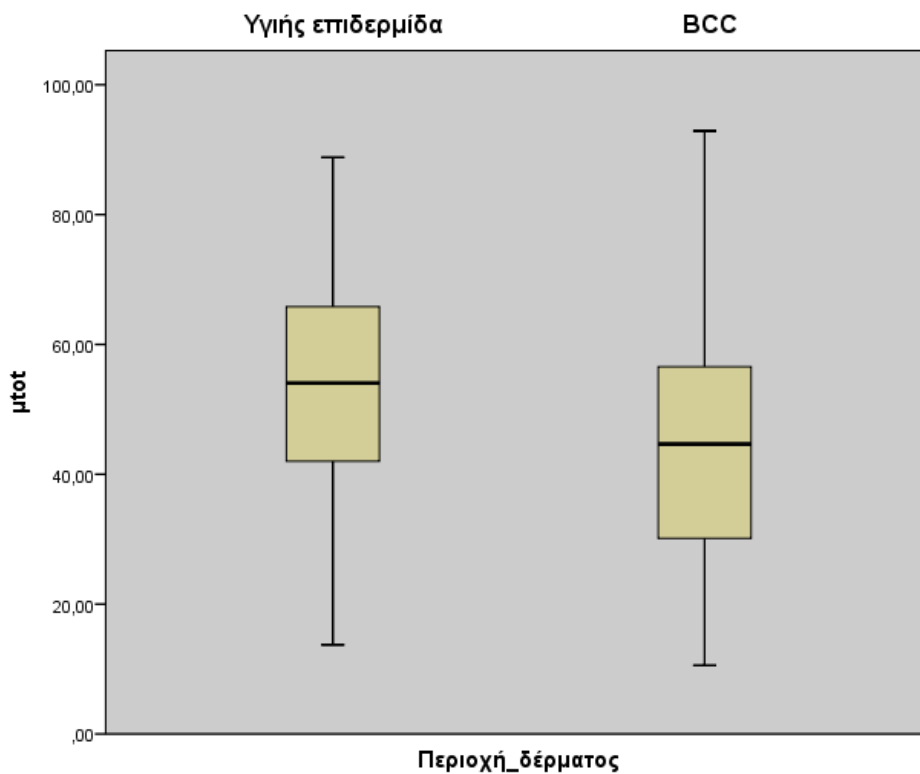
Επιλέγουμε ως επίπεδο σημαντικότητας το 5%. Στον πίνακα Paired Samples Test παρατηρούμε πως η τιμή p είναι μικρότερη από 0.001, επομένως καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά του ολικού συντελεστή σκέδασης μεταξύ υγιούς δέρματος και BCC.

Από τα ακόλουθα διαγράμματα παρατηρούμε πως τα δεδομένα για το υγιές δέρματος και BCC ακολουθούν κανονική κατανομή καθώς υπάρχει συμμετρία γύρω από την μέση τιμή.

Συγκεκριμένα από τα ιστογράμματα φαίνεται πως και οι δύο γραφικές παραστάσεις είναι συμμετρικές, ενώ στα box-plots που ακολουθούν οι τιμές δεν αποκλίνουν προς το 1^ο ή 3^ο τεταρτημόριο.



Διάγραμμα 2 : Ιστόγραμμα συχνότητων για τον ολικό συντελεστή εξασθένησης σε υγιή επιδερμίδα και BCC.



Διάγραμμα 3: Θηκόγραμμα για τον ολικό συντελεστή εξασθένησης σε υγιή επιδερμίδα και BCC

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης δείχνουν ότι ο ολικός συντελεστής εξασθένησης του BCC είναι μικρότερος από το υγιές δέρμα, δεδομένα τα οποία έρχονται σε συμφωνία με μέρος της βιβλιογραφίας [8]. Το γεγονός ότι οι τιμές του μ_{tot} για το BCC είναι μικρότερες από του υγιούς, σημαίνει πως το φως διεισδύει πολύ ευκολότερα σε ιστό BCC, ίσως λόγω της πιο συμπαγούς μικροδομής του σε σχέση με τον υγιές ιστό. Μία ακόμα πιθανή εξήγηση του μειωμένου συντελεστή εξασθένησης στο BCC θα μπορούσε να είναι ο λόγος πυρήνας προς κυτταρόπλασμα ο οποίος παρατηρείται ιδιαίτερα αυξημένος στο BCC λόγω της μεγέθυνσης του πυρήνα των καρκινικών κυττάρων, και έχει συνδεθεί άμεσα με τη μείωση του συντελεστή εξασθένησης στο BCC [9].

Σημαντικό ρόλο επίσης στη διαφορά τιμών παίζει η ύπαρξη κολλαγόνου. Το κολλαγόνο είναι η βασικότερη πρωτεΐνη του δέρματος και αποτελεί το 70% της

ξηρής μάζας του. Η ύπαρξη καρκινικών όγκων στο δέρμα αλλοιώνει τη δομή των πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένου του κολλαγόνου, καθώς η δομή τους γίνεται συμπαγείς. Οι ίνες του κολλαγόνου ωστόσο είναι ένας από τους βασικότερους σκεδαστές στους ιστούς [10] και επομένως είναι λογικό η αλλοίωσή τους να οδηγεί σε μείωση του συντελεστή εξασθένησης στους BCC ιστούς.

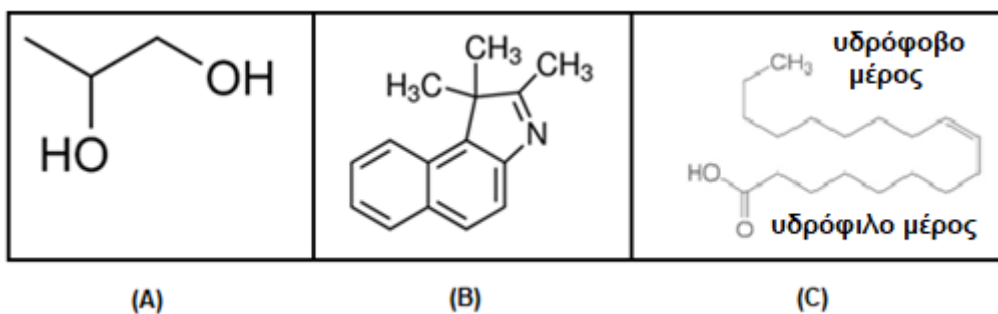
5.2 Αποτελέσματα ανάλυσης εικόνων OCT (II) – Τοποθέτηση index matching gel σε υγιές δέρμα

Για τις ανάγκες της παρούσας ανάλυσης χρησιμοποιήθηκαν 35 εικόνες/δείγματα οι οποίες μετρήθηκαν με το OCT NITID στην Κλινική Δερματικών και Αφροδίσιων Νόσων του ΠΓΝΙ και αφορούν αποκλειστικά περιοχές υγιούς δέρματος στο δεξί αντιβράχιο του ίδιου ατόμου. Σημειώνεται πως οι 9 (Εικόνες Π'6 έως Π'14 του Πίνακα I - Παράρτημα) απεικονίζουν γειτονικές περιοχές υγιούς δέρματος του εθελοντή χωρίς index matching gel, ενώ οι υπόλοιπες 26 αφορούν απεικονίσεις δέρματος ύστερα από την τοποθέτηση index matching gel.

Τα διαφορετικά gel τα οποία τοποθετήθηκαν στην επιφάνεια του δέρματος ήταν:

- Βαζελίνη (Vaseline)
- Προπυλέν-γλυκόλη (PG)
- Προπυλέν-γλυκόλη + ολεϊκό οξύ (PG + OA)
- Υγρή Βαζελίνη (Liquid Vaseline)

Η Βαζελίνη (Vaseline ή αλλιώς Petroleum jelly), (Εικ. 31(B)) είναι ένα semi – solid μείγμα υδρογονανθράκων (με αριθμό μορίων ανθράκων μεγαλύτερο του 25) με μοριακό βάρος 209.28 Da και έντονη λιπιδική φύση. Καθώς έχει σημείο τήξης κοντά σε αυτό του δέρματος (40°C), κατά την εφαρμογή του στο δέρμα αποκτά μία αρκετά μαλακή υφή, δημιουργώντας έτσι ένα στρώμα προστασίας από βακτήρια και αλλεργιογόνα. Ταυτόχρονα ελαχιστοποιεί τις απώλειες της υγρασίας του δέρματος συμβάλλοντας στην ενυδάτωσή του [11]. Η Προπυλέν-γλυκόλη (PG) (Εικ. 31(A)) κατατάσσεται στην κατηγορία των διολών και αποτελείται από δύο ομάδες υδροξυλίου (-OH), καθιστώντας το ένα έντονα υδρόφιλο μόριο, με μοριακό βάρος 76.09 Da [12]. Τέλος, το ολεϊκό οξύ (OA) (Εικ. 31(C)) ανήκει στην κατηγορία των λιπαρών οξέων. Αποτελεί ταυτόχρονα υδρόφιλο και υδρόφοβο μόριο καθώς απαρτίζεται από μία υδροφοβική ουρά και ένα υδρόφιλο κεφάλι, ενώ το μοριακό του βάρος ισούται με 282.47 Da [13].



Εικόνα 32: Χημική δομή των index matching gel που τοποθετήθηκαν στο δέρμα: (A) Προπυλεν-γλυκόλη (PG) (MW = 76.09 Da), (B) Βαζελίνη (Vaseline) (MW = 209.28 Da) και (C) Ολεϊκό οξύ (OA) (MW = 282.47 Da)

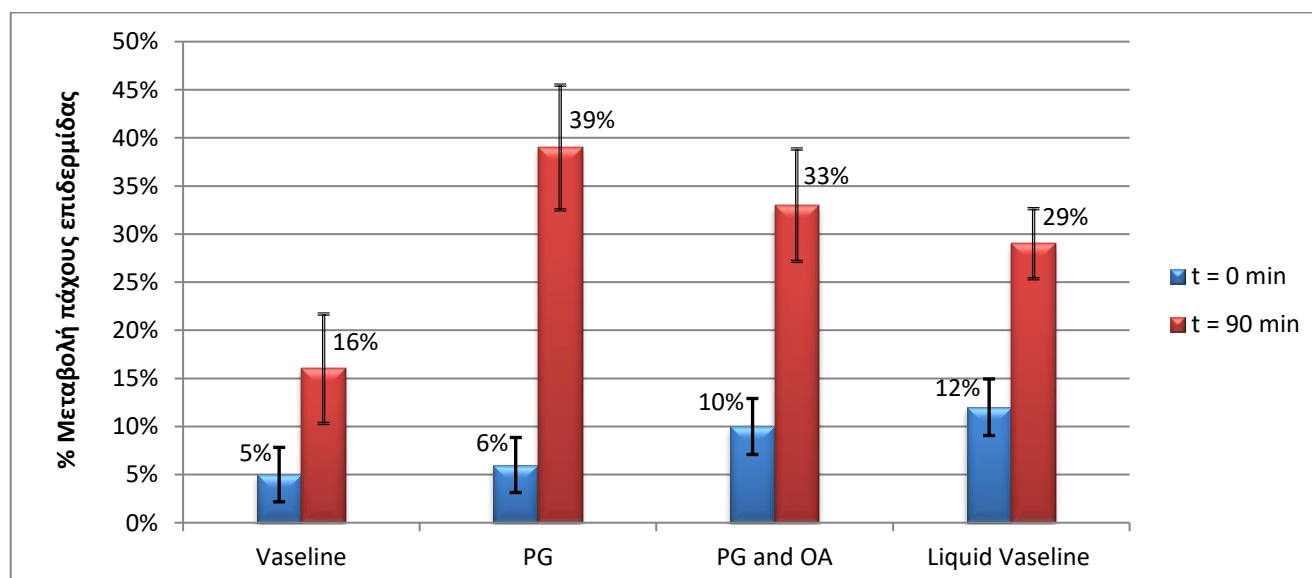
Στην παρούσα ανάλυση μελετήθηκε η ποσοστιαία μεταβολή του πάχους της επιδερμίδας καθώς και του συνολικού συντελεστή εξασθένισης (μ_{tot}) ύστερα από την τοποθέτηση του εκάστοτε gel. Τα αποτελέσματα (Πίνακες I-II και Διαγράμματα 1-2) αναφέρονται σε δύο χρονικές στιγμές μέτρησης, η πρώτη κατά την εφαρμογή του index matching gel ($t = 0$ min) και η δεύτερη μετά το πέρας χρονικού διαστήματος 90 λεπτών ($t = 90$ min).

5.2.1 Επίδραση των διαφορετικών gel στο πάχος της επιδερμίδας

Για να εξεταστεί η επίδραση των διαφορετικών gel στο πάχος της επιδερμίδας, υπολογίστηκε αρχικά η μέση τιμή του πάχους της χωρίς την τοποθέτηση gel, και βρέθηκε ίση με 0.153 mm, ενώ στη συνέχεια έγιναν αντίστοιχοι υπολογισμοί για περιοχές δέρματος ύστερα από την τοποθέτηση gel. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν φαίνονται στον Πίνακα V και στο Διάγραμμα 4.

Πίνακας V : Μέση τιμή, ποσοστιαία μεταβολή σε σφάλμα ποσοστιαίας μεταβολής του πάχους υγιούς επιδερμίδας μετά από εφαρμογή του index matching gel για διαφορετικούς χρόνους.

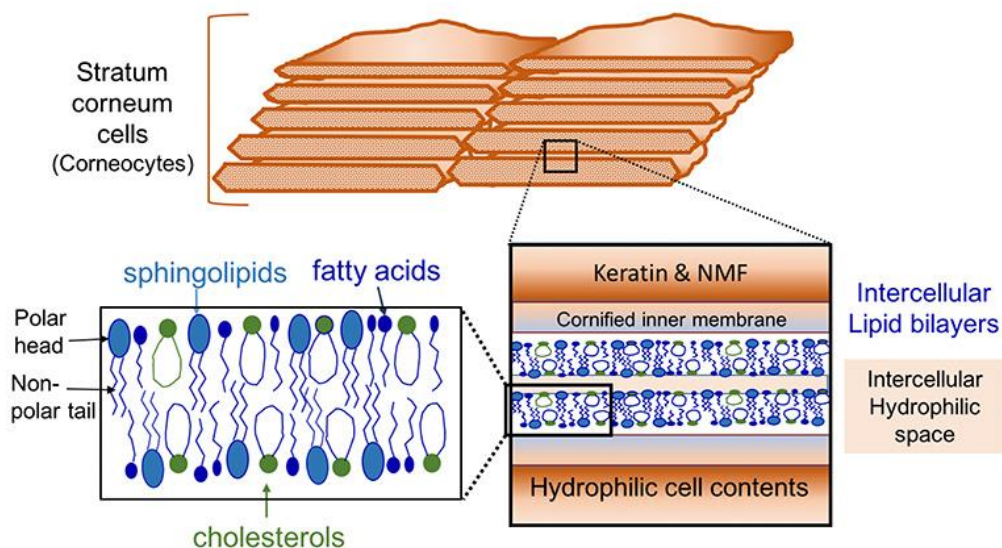
Index matching gel	Πάχος επιδερμίδας (mm)	% Μεταβολή	SE (% Μεταβολής)
Vaseline - 0 min	0.160	5%	2.83%
Vaseline - 90 min	0.177	16%	5.69%
PG - 0 min	0.162	6%	2.86%
PG - 90 min	0.213	39%	6.48%
PG and OA - 0 min	0.168	10%	2.91%
PG and OA - 90 min	0.203	33%	5.84%
Liquid Vaseline - 0 min	0.171	12%	2.94%
Liquid Vaseline - 90 min	0.198	29%	3.64%



Διάγραμμα 4 : Διάγραμμα ποσοστιαίας μεταβολής πάχους υγιούς επιδερμίδας μετά την τοποθέτηση index matching gel σε διαφορετικούς χρόνους απεικόνισης, με τιμή αναφοράς το πάχος υγιούς επιδερμίδας χωρίς τοποθέτηση gel. Με μπλε χρώμα παρουσιάζεται η μεταβολή σε χρόνο t = 0 min, ενώ με κόκκινο χρώμα η μεταβολή σε χρόνο t = 90 min.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Διαγράμματος 4, το πάχος της επιδερμίδας αυξάνεται ύστερα από την εφαρμογή όλων των gel, με την αύξηση αυτή να γίνεται εντονότερη μετά το πέρας χρονικού διαστήματος 90 λεπτών. Σε χρόνο $t = 0 \text{ min}$ παρατηρείται μικρότερη μεταβολή του πάχους ύστερα από τοποθέτηση Vaseline και PG (+5% και +6% αντίστοιχα), με την PG+OA και Liquid Vaseline να προκαλούν διπλάσια μεταβολή (+10% και +12% αντίστοιχα). Μετά από 90 λεπτά, η PG προκαλεί τη μεγαλύτερη αύξηση του πάχους (+39%) σε βάθος χρόνου, με τη Vaseline να παρουσιάζει και σε αυτή την περίπτωση τη μικρότερη αύξηση στο πάχος της επιδερμίδας (+16%).

Η κεράτινη στιβάδα (stratum corneum) ως το πιο επιφανειακό στρώμα, είναι αυτό το οποίο καθορίζει ποιες ουσίες μπορούν να διεισδύσουν στο εσωτερικό του δέρματος και σε τι ποσοστό. Αποτελείται από ένα στρώμα κυττάρων, τα κερατινοκύτταρα (corneocytes), καθώς και από στρώματα λιπιδίων (intercellular lipid layers) μέσα σε μεσοκυττάριο υδρόφιλο περιβάλλον που τα περικλείει. (Εικόνα 33).

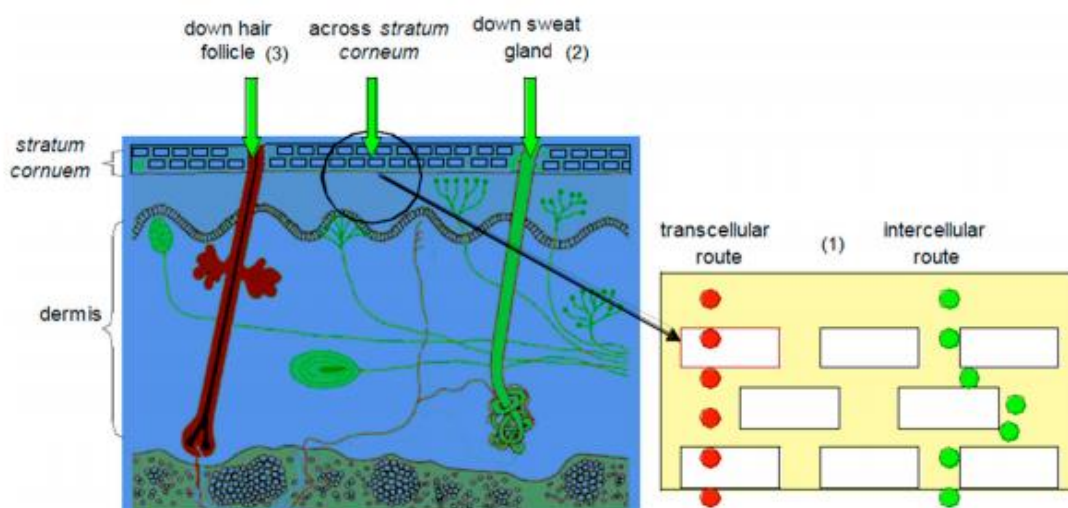


Εικόνα 33: Η ανατομία του stratum corneum [14].

Το στρώμα λιπιδίων το οποίο βρίσκεται ανάμεσα από τα υδρόφιλα κερατινοκύτταρα του stratum corneum αποτελείται από μία υδρόφιλη και δύο

λιπόφιλες περιοχές. Εξαιτίας των λιπόφιλων περιοχών, το stratum corneum επιτρέπει τη διείσδυση λιποδιαλυτών μορίων σε μεγαλύτερο βαθμό από υδατοδιαλυτά αντίστοιχων υλικών που έρχονται σε επαφή με το δέρμα, με εξαίρεση ουσίες οι οποίες έχουν εξαιρετικά υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια. Οι ουσίες αυτές λόγω της υδρόφιλης περιοχής δεν μπορούν να διαπεράσουν εύκολα το stratum corneum και να καταλήξουν στο στρώμα της επιδερμίδας. Ουσίες οι οποίες έχουν μεγάλη περιεκτικότητα σε νερό μπορούν επίσης να διεισδύσουν, όμως σε αρκετά μικρό ποσοστό, μέσω των πόρων του δέρματος και των θυλάκων της τρίχας καθώς αποτελούν μόλις το 0.1% της συνολικής επιφάνειας της επιδερμίδας [15].

Ανάλογα με τη χημική της σύσταση, κάθε ουσία ακολουθεί διαφορετική διαδρομή προκειμένου να περάσει από το stratum corneum σε ενδότερα στρώματα της επιδερμίδας. Υπάρχουν τρεις τρόποι διάχυσης μίας ουσίας, είτε διαδερμικά, διαμέσου των κερατινοκυττάρων (intracellular/transcellular route) ή διασχίζοντας το στρώμα λιπιδίων που τα περιβάλλει (intercellular route), είτε μέσω των θυλάκων της τρίχας είτε μέσω των πόρων του δέρματος (Εικόνα 34) [16].



Εικόνα 34: Αναπαράσταση των διαφορετικών τρόπων διάχυσης μίας ουσίας στα υποστρώματα του δέρματος. (1) Διαμέσου των κερατινοκυττάρων (transcellular route) ή του στρώματος λιπιδίων (intercellular route), (2) Διαμέσου των πόρων του δέρματος, (3) Διαμέσου των θυλάκων της τρίχας [16].

Λόγω της υδρόφιλης φύσης των κερατινοκυττάρων, τα υδρόφιλα μόρια μπορούν να διαπεράσουν το stratum corneum διαδερμικά πολύ πιο εύκολα ακολουθώντας τη διαδρομή αυτή (intracellular route) . Το στρώμα λιπιδίων που τα περιβάλλει, λόγω της υδρόφοβης φύσης του, καθιστά δύσκολη τη μετάβαση μορίων με αντίστοιχη χημική σύσταση. Όσον αφορά το μονοπάτι διαμέσου των στρωμάτων λιπιδίων, αρχικά υπήρχε η πεποίθηση πως οι ουσίες που ακολουθούν τη διαδρομή αυτή είναι λιπιδικής φύσεως. Τα στρώματα αυτά αποτελώντας περισσότερο από το 1% του stratum corneum, συμβάλλουν στη μείωση της απώλειας νερού του δέρματος, επομένως η ισορροπία μεταξύ της λιπιδικής φύσης των στρωμάτων και της διατήρησης της υγρασίας του stratum corneum συμβάλλει σημαντικά στην διάχυση των περισσότερων ουσιών στο εσωτερικό του δέρματος [16,17]. Τέλος οι πόροι του δέρματος και οι θύλακες των τριχών παρέχουν ένα επιπλέον μονοπάτι για τη διάχυση ουσιών. Οι ουσίες αυτές χαρακτηρίζονται από υψηλό μοριακό βάρος και επιλέγουν τη συγκεκριμένη οδό καθώς η μετάβασή τους σε ενδότερα στρώματα μέσω του stratum corneum δεν ευνοείται [16].

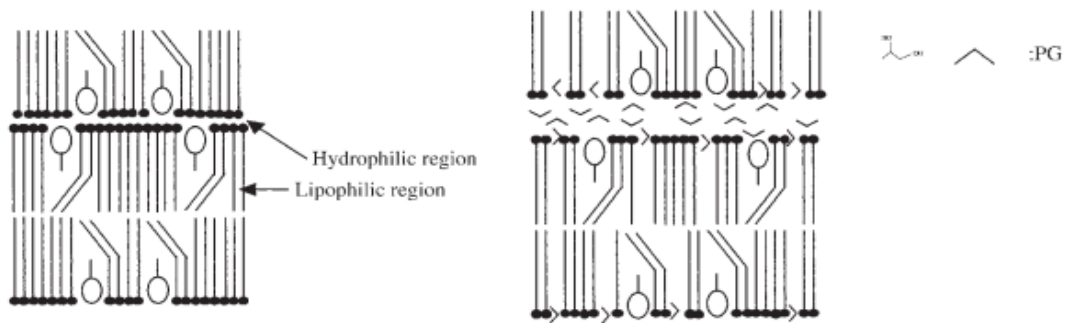
Το stratum corneum αποτελείται από 15-20 στρώματα κερατινοκυττάρων και στην φυσιολογική του κατάσταση έχει πάχος 10-30 μm . Όταν όμως ενυδατωθεί, το πάχος του μπορεί να φτάσει έως και τα 40 μm , παρουσιάζοντας εξαιρετική διαπερατότητα [18]. Η αύξηση του πάχους του stratum corneum συνδέεται με την παρατεταμένη επαφή του δέρματος με υδατικά διαλύματα και εξαρτάται από μία πληθώρα παραγόντων όπως οι φυσικοχημικές ιδιότητες της ουσίας (λιποφιλικότητα, υδροφιλικότητα, μοριακό βάρος), η περιοχή τοποθέτησης, καθώς και η διάρκεια έκθεσης της περιοχής στην ουσία. Με βάση τη δομή του stratum corneum, η διάχυση μιας ουσίας στο εσωτερικό του εξαρτάται έντονα από τις φυσικοχημικές ιδιότητες της ουσίας και συγκεκριμένα από τον παράγοντα λιποφιλικότητα (ή την υδροφιλικότητα), ενώ ο παράγοντας μοριακό βάρος είναι μικρότερης σημασίας.

Το πάχος του ανώτερου στρώματος της επιδερμίδας αυξάνεται μετά την απορρόφηση υδρόφιλων μορίων, καθώς διογκώνεται ο μεσοκυττάριος υδρόφιλος χώρος και έτσι τα μόρια της ουσίας μπορούν να διαπεράσουν πιο εύκολα τη στοιβάδα [16]. Όσον αφορά τον παράγοντα μοριακό βάρος, προκειμένου ο συντελεστής διάχυσης να είναι υψηλός, η ουσία που έρχεται σε επαφή με το δέρμα

πρέπει να έχει χαμηλό μοριακό βάρος (< 600 Da) [18]. Σημειώνεται πως τα gel που τοποθετήθηκαν στην επιφάνεια του δέρματος για τις ανάγκες της παρούσας εργασίας έχουν τιμές μοριακού βάρους εντός του συγκεκριμένου ορίου (Εικόνα 32). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία [19] η Liquid Vaseline έχει παρόμοια σύσταση με τη Vaseline.

Gel όπως η Vaseline, λόγω της λιπιδικής τους φύσης παρουσιάζουν μεγάλη ομοιότητα στη χημική τους σύσταση με αυτή των λιπιδίων του stratum corneum. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία [20] η Vaseline μπορεί να διεισδύσει στο δέρμα σε βάθος έως και 30μm, αλλά όχι σε βαθύτερα στρώματα λόγω του υψηλού μοριακού της βάρους [21]. Εάν αναλογιστούμε ότι το πάχος του stratum corneum κυμαίνεται από 10 έως 30μm, τότε καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως η μεταβολή του πάχους της επιδερμίδας ύστερα από την τοποθέτηση του συγκεκριμένου index matching gel περιμένουμε να είναι αρκετά μικρή, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τα αποτελέσματα του Διαγράμματος 4, όπου τα ποσοστά μεταβολής του πάχους είναι τα μικρότερα σε σχέση με τα υπόλοιπα gel και για τους δύο χρόνους απεικόνισης (5% και 16% αντίστοιχα). Αντιθέτως, για τα index matching gels PG, PG+OA και Liquid Vaseline, τα οποία είναι λιγότερο λιπόφιλα, παρατηρείται μεγαλύτερη αύξηση του πάχους και κατά τη χρονική στιγμή της τοποθέτησης αλλά και μετά από χρονικό διάστημα 90 min, με την απεικόνιση PG – 90 min να ανέρχεται σε ποσοστό αύξησης 39% σε σχέση με το δέρμα πριν την εφαρμογή του gel.

Συγκεκριμένα, η PG λόγω της εξαιρετικά υδρόφιλης φύσης της ενσωματώνεται στις πολικές ομάδες των λιπιδικών στοιβάδων οι οποίες είναι υδρόφιλες, και επιδρά απευθείας στην υδατική περιοχή ανάμεσα στα λιπιδικά μεσοκυττάρια στρώματα [17]. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη διόγκωση του μεσοκυττάριου υδρόφιλου χώρου του stratum corneum και κατ' επέκταση την αύξηση στο πάχος της επιδερμίδας (Εικόνα 35) [22].



Εικόνα 35: Διόγκωση του μεσοκυττάριου υδρόφιλου χώρου του stratum corneum ύστερα από την τοποθέτηση PG στην επιφάνεια του δέρματος [22].

Όταν όμως η PG συνδυαστεί με OA, τότε η διείσδυση στα υποστρώματα του δέρματος γίνεται αποδοτικότερη χάρη στη δομή του μορίου του ολεϊκού οξέος (Εικόνα 32). Το μόριο αυτό αποτελείται από μία υδροφοβική ουρά και ένα υδρόφιλο κεφάλι. Λόγω της υδροφοβικής ουράς του μπορεί να αλληλεπιδράσει με τα στρώματα λιπιδίων του stratum corneum, δημιουργώντας μία ελεύθερη διαδρομή για την PG, η οποία ως υδρόφιλη μπορεί να διαπεράσει το stratum corneum και να διεισδύσει σε ενδότερα στρώματα του δέρματος, όπως την επιδερμίδα [23,24].

Μελέτες έχουν δείξει πως η PG διαχέεται πλήρως στο εσωτερικό του δέρματος εντός χρονικού διαστήματος 1 h. Όταν όμως συνδυαστεί με το OA τότε η διάχυση της PG πραγματοποιείται σε πολύ μικρότερο χρονικό διάστημα, αφήνοντας το OA στην επιφάνεια του δέρματος. Το OA αρχίζει να δημιουργεί αλλαγές στο στρώματα λιπιδίων του stratum corneum από τα 5 πρώτα λεπτά [25] βοηθώντας την PG να διεισδύσει στο εσωτερικό, και διαχέεται πλήρως στις 2-3 h. Η χρονική διαφορά στη διάχυση των gel αποδίδεται στο μέγεθος των δύο μορίων. Η PG ως μικρότερο μόριο από το OA μπορεί να διαπεράσει πιο εύκολα το stratum corneum και να διαχυθεί σε αυτό σε μικρότερο χρονικό διάστημα από το OA [26]. Οι πληροφορίες αυτές έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του Διαγράμματος 4, καθώς κατά την εφαρμογή των δύο gel ($t = 0 \text{ min}$) παρατηρείται αύξηση του πάχους της επιδερμίδας (6% για PG και 10% για PG+OA) λόγω διάχυσης της υδρόφιλης PG στον μεσοκυττάριο υδρόφιλο χώρο του stratum corneum, ενώ μετά το πέρας 90 min η

αύξηση αυτή γίνεται εντονότερη για την εφαρμογή PG σε σχέση με αυτή για PG+OA (39% για PG έναντι 33% για PG+OA), λόγω του ότι η πρόσληψη του PG+OA από το stratum corneum φτάνει σε κορεσμό σε βάθος χρόνου 2 ωρών. Επιπλέον σημειώνεται πως και στις δύο περιπτώσεις, η μεταβολή του πάχους της επιδερμίδας ύστερα από το πέρας χρονικού διαστήματος 90 min είναι η μεγαλύτερη σε σχέση με τη χρήση Vaseline και Liquid Vaseline.

Επομένως, παρόλο που ο συνδυασμός PG με OA θεωρείται αποδοτικότερος για τη διάσπαση λιπιδίων του stratum corneum και κατ' επέκταση τη διάχυσή τους στο εσωτερικό του δέρματος, ένα χρονικό διάστημα 90 λεπτών δεν είναι αρκετό για αύξηση του πάχους της επιδερμίδας συγκριτικά με την PG μόνη της. Επιπλέον από το Διάγραμμα 4, παρατηρούμε πως όσο πιο υδρόφιλο είναι το μόριο, τόσο μεγαλύτερη είναι η μεταβολή στο πάχος της επιδερμίδας, με τη Vaseline ως εξαιρετικά υδρόφοβο και την PG ως εξαιρετικά υδρόφιλο μόριο να πετυχαίνουν τη μικρότερη (16%) και τη μεγαλύτερη (39%) ποσοστιαία μεταβολή του πάχους μετά από 90 λεπτά.

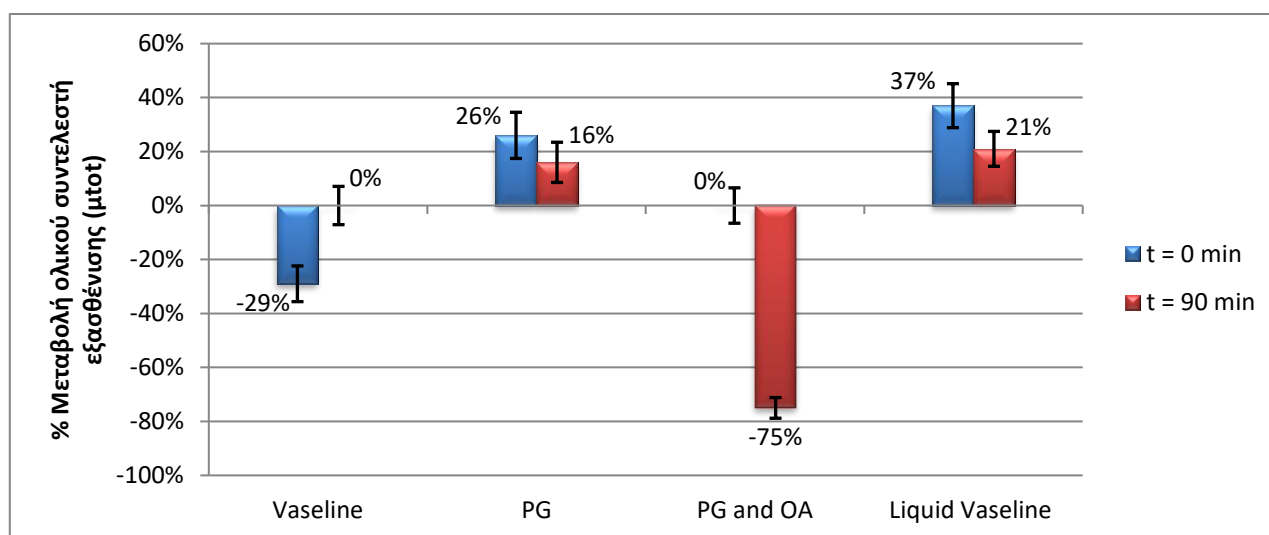
Τέλος, όσον αφορά την τοποθέτηση Liquid Vaseline, λόγω της πιο υδρόφιλης φύσης της σε σχέση με την απλή Vaseline, μπορεί να διεισδύσει κατά ένα ποσοστό στο μεσοκυττάριο υδρόφιλο χώρο του stratum corneum, να τον διογκώσει και συνεπώς να συμβάλλει στην αύξηση του πάχους της επιδερμίδας. Αυτό είναι εμφανές και από τα αποτελέσματα της ανάλυσης, όπου η Liquid Vaseline παρουσιάζει μεγαλύτερα ποσοστά μεταβολής του πάχους σε σχέση με την απλή Vaseline και κατά την τοποθέτηση του gel ($t = 0 \text{ min}$) αλλά και μετά από το πέρας χρονικού διαστήματος 90 min (12% και 29% στη Liquid Vaseline έναντι 5% και 16% στη Vaseline).

5.2.2 Επίδραση των διαφορετικών gel στον ολικό συντελεστή εξασθένισης (μ_{tot})

Για να εξεταστεί η επίδραση των διαφορετικών gel στον ολικό συντελεστή εξασθένισης, υπολογίστηκε αρχικά η μέση τιμή του συντελεστή χωρίς την τοποθέτηση gel, και βρέθηκε ίσος με 56.57 mm^{-1} , ενώ στη συνέχεια έγιναν αντίστοιχοι υπολογισμοί για περιοχές δέρματος ύστερα από την τοποθέτηση gel. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν φαίνονται στον Πίνακα VI και στο Διάγραμμα 5.

Πίνακας VI : Μέση τιμή και ποσοστιαία μεταβολή του ολικού συντελεστή εξασθένισης υγιούς επιδερμίδας μετά από εφαρμογή του index matching gel σε διαφορετικούς χρόνους.

Υλικό	μ_{tot} (mm^{-1})	% Μεταβολή	SE (% Μεταβολής)
Vaseline - 0 min	40.19	-29%	6.62%
Vaseline - 90 min	56.60	0%	7.09%
PG - 0 min	71.24	26%	8.56%
PG - 90 min	65.38	16%	7.45%
PG + OA - 0 min	56.59	0%	6.56%
PG + OA - 90 min	13.86	-75%	3.83%
Liquid Vaseline - 0 min	77.44	37%	8.15%
Liquid Vaseline - 90 min	68.38	21%	6.47%



Διάγραμμα 5 : Διάγραμμα ποσοστιαίας μεταβολής ολικού συντελεστή εξασθένισης υγιούς επιδερμίδας μετά την τοποθέτηση index matching gel σε διαφορετικούς χρόνους απεικόνισης, με τιμή αναφοράς τον συντελεστή υγιούς επιδερμίδας χωρίς τοποθέτηση gel. Με μπλε χρώμα παρουσιάζεται η μεταβολή σε χρόνο $t = 0 \text{ min}$, ενώ με κόκκινο χρώμα η μεταβολή σε χρόνο $t = 90 \text{ min}$.

Ο ολικός συντελεστής εξασθένησης του φωτός ($\mu_{\text{tot}} = \mu_s' + \mu_a$) αποτελεί άθροισμα του συντελεστή απορρόφησης (μ_a) και του συντελεστή σκέδασης (μ_s'). Το βάθος διείσδυσης του φωτός σε ένα βιολογικό ιστό εξαρτάται από τα γεγονότα απορρόφησης και σκέδασης που συμβαίνουν στο εσωτερικό του. Στο φάσμα του υπερύθρου, η σκέδαση υπερिσχύει της απορρόφησης μειώνοντας το βάθος διείσδυσης του φωτός στον ιστό. Το φως κατά την είσοδο και διαδρομή του στο εσωτερικό του δέρματος υφίσταται πολλαπλές σκεδάσεις λόγω της διαφοράς των δεικτών διάθλασης στη διεπιφάνεια μεταξύ αέρα και δέρματος, αλλά και μεταξύ των στοιχείων στο εσωτερικό του ίδιου του ιστού [27].

Η τοποθέτηση index matching gel στην επιφάνεια εξομαλύνει τις διαφορές στο δείκτη διάθλασης μεταξύ αέρα και δέρματος, όπου παρατηρούνται και οι περισσότερες απώλειες, μειώνοντας σε σημαντικό βαθμό τις σκεδάσεις του φωτός, καθώς αυτό προσπαθεί να διεισδύσει στο δέρμα, ενισχύοντας ταυτόχρονα το σήμα OCT. Επιπλέον η χρήση gel βελτιώνει την ποιότητα εικόνας καθώς μειώνει τα artifacts ενώ παράλληλα αυξάνει την αντίθεση της εικόνας OCT. Εκτός όμως από την διαγνωστική χρησιμότητά τους, τα index matching gels συμβάλλουν σε μεγάλο βαθμό και στις θεραπευτικές εφαρμογές των laser. Η σημαντική μείωση των σκεδάσεων λόγω της τοποθέτησης gel, επιτρέπει σε περισσότερα φωτόνια να διεισδύσουν στο εσωτερικό του δέρματος και να φτάσουν στον στόχο – περιοχή βλάβης. Με αυτόν τον τρόπο μειώνεται η ποσότητα της απαιτούμενης ενέργειας από τα laser προκειμένου να επιτευχθεί το επιθυμητό κλινικό αποτέλεσμα. Απαραίτητη προϋπόθεση για να συμβούν αυτά, είναι τα index matching gel να έχουν μεγαλύτερο δείκτη διάθλασης με αυτόν του δέρματος ($n = 1.37$). Συγκεκριμένα, τα υλικά Vaseline, PG και OA έχουν δείκτες διάθλασης ίσους με 1.46, 1.43 και 1.46 αντίστοιχα.

Η Vaseline ως ένα εξαιρετικά λιπόφιλο μόριο, όταν έρθει σε επαφή με το δέρμα μειώνει τις απώλειες νερού που υπάρχει στο εσωτερικό του συμβάλλοντας έτσι στην διατήρηση της υγρασίας και την ενυδάτωσή του. Λόγω του υψηλού μοριακού του βάρους το μόριο δεν μπορεί να διεισδύσει σε μεγάλο βάθος και κατά την τοποθέτησή του στο δέρμα δημιουργεί ένα πολύ λεπτό στρώμα, το οποίο παραμένει στα πρώτα επιφανειακά στρώματα του stratum corneum και είναι

υπεύθυνο για τη μείωση του ποσοστού απώλειας υγρασίας. Το νερό παραμένει στο εσωτερικό του δέρματος και αυξάνεται σε συγκέντρωση με αποτέλεσμα, να αυξάνεται το πάχος της επιδερμίδας, όπως διαπιστώθηκε και από τα αποτελέσματα του Διαγράμματος 4. Αύξηση του πάχους της επιδερμίδας συνεπάγεται μείωση της πυκνότητας του stratum corneum. Επειδή η πυκνότητα του μέσου και ο συντελεστής εξασθένησης είναι ποσά ανάλογα, μείωση της πυκνότητας οδηγεί σε μείωση του συντελεστή εξασθένησης, γεγονός το οποίο επαληθεύεται από τα αποτελέσματα του Διαγράμματος 5. Παρατηρούμε πως μετά το πέρας χρονικού διαστήματος 90 λεπτών, η τιμή του συντελεστή παραμένει στα ίδια επίπεδα, και αυτό οφείλεται στο γεγονός πως η τοποθέτηση του index matching gel Vaseline δεν μεταβάλλει σημαντικά τις απώλειες νερού σε βάθος χρόνου και συνεπώς τις τιμές του ολικού συντελεστή εξασθένησης του φωτός [28].

Αντιθέτως, η PG λόγω της υδρόφιλης φύσης της διεισδύει εύκολα στο δέρμα αλλά δεν απορροφάται σε βάθος στον ιστό. Όταν η PG εισέλθει στο δέρμα, απομακρύνει τα μεσοκυττάρια μόρια του νερού οδηγώντας τα στην εξωτερική στοιβάδα του δέρματος [27]. Κατά συνέπεια αναμένεται μείωση στην πυκνότητα της εξωτερικής στοιβάδας με ακόλουθη μείωση του συντελεστή μ_{tot} . Η μείωση αυτή δεν παρατηρείται στα αποτελέσματα της ανάλυσης μας σε χρόνο $t = 0$ min, παρά μόνο σε βάθος χρόνου. Με βάση τη βιβλιογραφία [29], η τοποθέτηση των index matching gel στο δέρμα οδηγεί σε μείωση του ολικού συντελεστή εξασθένησης, γεγονός που βρίσκεται σε αντίθεση με τα δικά μας αποτελέσματα και έχει σημειωθεί ως αποτέλεσμα προς περαιτέρω διερεύνηση.

Όσον αφορά το index matching gel PG+OA, όπως προαναφέρθηκε, το ολικό οξύ συμβάλλει στην ταχύτερη διάχυση της PG διότι διαρρηγνύει το δίκτυο λιπιδίων του stratum corneum, αφήνοντας έτσι την PG να περάσει στο δέρμα πιο εύκολα. Η δράση όμως του OA ξεκινάει ύστερα από χρονικό διάστημα 5 min [25], γεγονός το οποίο δικαιολογεί την μηδενική ποσοστιαία μεταβολή του συντελεστή μ_{tot} στο Διάγραμμα 5. Μετά το πέρας των 5 min, το OA αρχίζει να δημιουργεί βλάβες στο δίκτυο λιπιδίων της εξωτερικής στοιβάδας στέλνοντας τα λιπίδια αυτά στην επιφάνεια του stratum corneum, καθώς η PG διαχέεται στο εσωτερικό. Έτσι δημιουργείται ένα στρώμα λιπιδιακής φύσης στην επιφάνεια του stratum corneum

το οποίο λειτουργεί ως φραγμός για την απώλεια υγρασίας του δέρματος. Συνεπώς υπάρχει αύξηση του πάχους της επιδερμίδας (Διάγραμμα 4) και επομένως η μείωση του συντελεστή εξασθένησης με βάση το Διάγραμμα 5 είναι δικαιολογημένη, με τη μεταβολή αυτή να ξεπερνάει σε ποσοστό την αντίστοιχη για τοποθέτηση Vaseline σε βάθος χρόνου (-29% για Vaseline έναντι -75% για PG+OA).

Τέλος η Liquid Vaseline, λόγω της λιγότερο υδρόφοβης φύσης της σε σχέση με την απλή Vaseline, μπορεί να διεισδύσει κατά ένα μικρό ποσοστό στο εσωτερικό του stratum corneum και να μετακινήσει μεσοκυττάρια μόρια νερού στην επιφάνεια, αυξάνοντας κατ' αυτόν τον τρόπο το πάχος της επιδερμίδας και μειώνοντας συνεπώς την πυκνότητα της εξωτερικής στοιβάδας. Λόγω μείωσης της πυκνότητας θα ήταν αναμενόμενη μία αντίστοιχη μείωση του ολικού συντελεστή εξασθένησης, όμως και σε αυτή την περίπτωση τα αποτελέσματά μας δείχνουν αρχικά αύξηση του μ_{tot} σε χρόνο $t = 0 \text{ min}$, με την αναμενόμενη μείωση να παρατηρείται μόνο σε βάθος χρόνου 90 λεπτών.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από την ανάλυση των εικόνων OCT σε υγιές δέρμα και BCC προκύπτει πως ο ολικός συντελεστής εξασθένησης του φωτός είναι μεγαλύτερος για υγιές δέρμα από ότι για BCC [8]. Το γεγονός ότι οι τιμές του μ_{tot} για το BCC είναι μικρότερες από του υγιούς, σημαίνει πως το φως διεισδύει πολύ ευκολότερα σε ιστό BCC, ίσως λόγω της πιο συμπαγούς μικροδομής του σε σχέση με τον υγιές ιστό. Μία ακόμα πιθανή εξήγηση του μειωμένου συντελεστή εξασθένησης στο BCC είναι ο λόγος πυρήνας προς κυτταρόπλασμα ο οποίος παρατηρείται ιδιαίτερα αυξημένος στο BCC λόγω της μεγέθυνσης του πυρήνα των καρκινικών κυττάρων, και έχει συνδεθεί άμεσα με τη μείωση του συντελεστή εξασθένησης στο BCC [9].

Στη συνέχεια έγινε ανάλυση εικόνων OCT οι οποίες προήλθαν ύστερα από τοποθέτηση των index matching gel. Το index matching gel χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη για την εξομάλυνση των διαφορών στο δείκτη διάθλασης μεταξύ αέρα και ιστού, ενίσχυση του σήματος και επομένως βελτίωση της ποιότητας απεικόνισης. Σκοπός της ανάλυσης ήταν η εκτίμηση της επίδρασης των gel στο συντελεστή εξασθένησης και στο πάχος της επιδερμίδας σε διαφορετικούς χρόνους απεικόνισης, σε σχέση με αντίστοιχες μετρήσεις σε υγιές δέρμα χωρίς τοποθέτηση gel.

Όσον αφορά τη μελέτη του πάχους της υγιούς επιδερμίδας, τα αποτελέσματα της ανάλυσης έδειξαν αύξηση του πάχους κατά την τοποθέτηση του gel ($t = 0 \text{ min}$) με την PG+OA και Liquid Vaseline να παρουσιάζουν διπλάσια μεταβολή σε σχέση με τη Vaseline και την PG. Η αύξηση του πάχους της επιδερμίδας γίνεται εντονότερη σε βάθος χρόνου ($t = 90 \text{ min}$) με την PG να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη και τη Vaseline τη μικρότερη ποσοστιαία μεταβολή αντίστοιχα. Οι διαφορετικές μεταβολές του πάχους της επιδερμίδας για κάθε υλικό οφείλονται στις φυσικοχημικές ιδιότητες των gel (υδροφιλικότητα, υδροφοβικότητα, μοριακό βάρος) [16,18,21] καθώς και στην ανατομία του ανώτερου στρώμα της επιδερμίδας stratum corneum το οποίο είναι υπεύθυνο για το ποσοστό διάχυσης των ουσιών στο εσωτερικό του δέρματος [15–18]. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε πως όσο πιο υδρόφιλο είναι το μόριο, όπως η PG που είναι εξαιρετικά υδρόφιλη [17,22], τόσο μεγαλύτερη είναι η αύξηση του

πάχους της επιδερμίδας σε βάθος χρόνου, ενώ μόρια λιπόφιλης φύσεως και υψηλού μοριακού βάρους, όπως η Vaseline [20,21], δεν μπορούν να διεισδύσουν και να διαχυθούν εύκολα στο εσωτερικό της επιδερμίδας και συνεπώς οδηγούν στη μικρότερη αύξηση του πάχους της.

Όσον αφορά την ανάλυση των εικόνων OCT μετά την τοποθέτηση index matching gel στην επιφάνεια του δέρματος με σκοπό τον προσδιορισμό του ολικού συντελεστή εξασθένισης, τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση του συντελεστή ύστερα από τοποθέτηση Vaseline και PG+OA, με το δεύτερο gel να συμβάλλει στην μεγαλύτερη μείωση του συντελεστή σε βάθος χρόνου [25,28]. Η παρατηρούμενη αυτή μείωση δικαιολογείται απόλυτα καθώς η αύξηση του πάχους της επιδερμίδας ύστερα από την τοποθέτηση των gel οδηγεί σε μείωση της πυκνότητάς της. Λόγω του ότι η πυκνότητα του μέσου και ο συντελεστής εξασθένισης του φωτός στο εσωτερικό του είναι ποσά ανάλογα, μείωση της πυκνότητας συνεπάγεται μείωση του συντελεστή μ_{tot} [29]. Η μείωση αυτή αντιθέτως δεν παρατηρήθηκε στα gel PG και Liquid Vaseline κατά τη χρονική στιγμή της τοποθέτησης, γεγονός το οποίο έρχεται σε αντίθεση με τη βιβλιογραφία. Η μείωση αυτή ήταν εμφανής μόνο σε βάθος χρόνου. Καθώς και τα δύο gel οδηγούν σε αύξηση του πάχους της επιδερμίδας, η αυξημένη τιμή του συντελεστή κατά τη χρονική στιγμή $t = 0 \text{ min}$ μπορεί να αποδοθεί σε άλλους παράγοντες, όπως στην αλλοιωμένη ποιότητα των εικόνων OCT που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση.

Πιθανές αποκλίσεις των αποτελεσμάτων της εργασίας από τη βιβλιογραφία είναι πιθανό να οφείλονται στο μεγάλο εύρος τιμών τόσο των οπτικών ιδιοτήτων όσο και του πάχους επιδερμίδας λόγω φύλου ή ηλικίας του ατόμου. Συγκεκριμένα, το πάχος υγιούς επιδερμίδας στους άντρες είναι μεγαλύτερο από ότι στις γυναίκες με τιμές 0.113 mm και 0.097 αντίστοιχα [30]. Όσον αφορά τον παράγοντα ηλικία, για τις ηλικιακές ομάδες 19 – 24 ετών η τιμή του πάχους της επιδερμίδας κυμαίνεται σε ένα εύρος τιμών 0.042 – 0.97 mm, ενώ οι μεγαλύτερες ηλικίες 54 – 57 ετών χαρακτηρίζονται από μικρότερες τιμές πάχους 0.042 – 0.082 mm [31], καθώς το πάχος της επιδερμίδας μειώνεται με την ηλικία περίπου 6.4% ανά δεκαετία, με τον πιο γρήγορο ρυθμό μείωσης να παρατηρείται στις γυναίκες [32].

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η Οπτική Τομογραφία Συνοχής (Optical Coherence Tomography – OCT) είναι μία μη επεμβατική μέθοδος απεικόνισης η οποία χρησιμοποιεί φως στο φάσμα του υπερύθρου και μπορεί να δώσει εικόνες διατομής ενός ιστού σε πραγματικό χρόνο, με πολύ καλή ακρίβεια και υψηλή διακριτική ικανότητα σε βάθος 1-2 mm. Η μέθοδος αυτή έχει ως σκοπό τον προσδιορισμό των οπτικών ιδιοτήτων της επιδερμίδας καθώς επίσης και του πάχους της. Στην παρούσα εργασία η τεχνική απεικόνισης OCT χρησιμοποιήθηκε σε πρώτη φάση προκειμένου να υπολογιστεί ο ολικός συντελεστής εξασθένισης του φωτός (μ_{tot}) στο εσωτερικό υγιούς επιδερμίδας και BCC, και με βάση τις τιμές του συντελεστή εξασθένισης να διαπιστωθεί εάν μπορεί να διαχωριστεί το υγιές δέρμα από το BCC. Σε δεύτερη φάση έγινε υπολογισμός του συντελεστή ύστερα από τοποθέτηση τεσσάρων διαφορετικών index matching gel (Vaseline, PG, PG+OA και Liquid Vaseline) στην επιφάνεια του δέρματος, και επιπλέον προσδιορίστηκε το πάχος της υγιούς επιδερμίδας ύστερα από τοποθέτηση των αντίστοιχων gel. Οι υπολογισμοί είχαν ως στόχο να διαπιστωθεί να ποσοστιαία μεταβολή του πάχους της επιδερμίδας καθώς και του ολικού συντελεστή εξασθένισης μετά την εφαρμογή των index matching gel.

Στόχος της συγκεκριμένης μελέτης ήταν ο προσδιορισμός του καταλληλότερου index matching gel εκ των τεσσάρων για την απεικόνιση OCT. Ως κατάλληλο θεωρείται το gel το οποίο συμβάλλει περισσότερο στην αύξηση του πάχους της επιδερμίδας και στην επακόλουθη μείωση του ολικού συντελεστή εξασθένισης. Καθώς ο συντελεστής εξασθένισης μ_{tot} συνδέεται με το ποσοστό μείωσης των οπισθοσκεδαζόμενων φωτονίων, μείωσή του συνεπάγεται περισσότερα οπισθοσκεδαζόμενα φωτόνια και ισχυρότερο σήμα OCT. Με βάση τα αποτελέσματά μας, το index matching gel PG+OA οδηγεί σε υψηλή αύξηση του πάχους επιδερμίδας ενώ ταυτόχρονα παρουσιάζει τη μεγαλύτερη ποσοστιαία μεταβολή του ολικού συντελεστή εξασθένισης, σημειώνοντας τη μικρότερη τιμή σε βάθος χρόνου 90 λεπτών και επομένως μπορεί να θεωρηθεί ως το καταλληλότερο gel για απεικόνιση δέρματος με χρήση της τεχνικής OCT.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ – ΜΕΡΟΣ (B)

- [1] J. Welzel, S. Schuh, Noninvasive diagnosis in dermatology, *JDDG - J. Ger. Soc. Dermatology*. 15 (2017) 999–1016. <https://doi.org/10.1111/ddg.13347>.
- [2] D.J. Faber, F.J. van der Meer, M.C.G. Aalders, T.G. van Leeuwen, Quantitative measurement of attenuation coefficients of weakly scattering media using optical coherence tomography, *Opt. Express*. 12 (2004) 4353. <https://doi.org/10.1364/opex.12.004353>.
- [3] A. Buades, B. Coll, J.-M. Morel, Non-Local Means Denoising, *Image Process. Line*. 1 (2011) 208–212. https://doi.org/10.5201/ipol.2011.bcm_nlm.
- [4] A. Nieminen, P. Heinonen, Y. Neuvo, A New Class of Detail-Preserving Filters for Image Processing, *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell. PAMI-9* (1987) 74–90. <https://doi.org/10.1109/TPAMI.1987.4767873>.
- [5] S. Chang, A.K. Bowden, Review of methods and applications of attenuation coefficient measurements with optical coherence tomography, *J. Biomed. Opt.* 24 (2019) 1. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.24.9.090901>.
- [6] K.A. Vermeer, J. Mo, J.J.A. Weda, H.G. Lemij, J.F. de Boer, Depth-resolved model-based reconstruction of attenuation coefficients in optical coherence tomography, *Biomed. Opt. Express*. 5 (2014) 322. <https://doi.org/10.1364/boe.5.000322>.
- [7] M.N. Acquisition, O.C. Tomography, Yijing Xie, (n.d.).
- [8] D. Yücel, L. Themstrup, M. Manfredi, G.B.E. Jemec, Optical coherence tomography of basal cell carcinoma: density and signal attenuation, *Ski. Res. Technol.* 22 (2016) 497–504. <https://doi.org/10.1111/srt.12291>.
- [9] A.J. Coleman, T.J. Richardson, G. Orchard, A. Uddin, M.J. Choi, K.E. Lacy, Histological correlates of optical coherence tomography in non-melanoma skin cancer, *Ski. Res. Technol.* 19 (2013) e10–e19. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0846.2012.00626.x>.
- [10] D. Arifler, I. Pavlova, A. Gillenwater, R. Richards-Kortum, Light scattering from collagen fiber networks: Micro-optical properties of normal and neoplastic stroma, *Biophys. J.* 92 (2007) 3260–3274. <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.089839>.
- [11] ICSC 1440 - PETROLATUM (WHITE), (n.d.). <http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/eics1440.htm> (accessed May 28, 2021).
- [12] GESTIS-Stoffdatenbank, (n.d.). <https://gestis.dguv.de/data?name=013620&lang=en> (accessed May 28, 2021).

- [13] A. Thomas, B. Matthäus, H.-J. Fiebig, *Fats and Fatty Oils*, *Ullmann's Encycl. Ind. Chem.* (2015) 1–84. https://doi.org/10.1002/14356007.a10_173.pub2.
- [14] Dr Rachel Ho | lipid bilayer, (n.d.). <https://www.drrachelho.com/blog/ceramides-skin-care-supplements-review/lipid-bilayer/> (accessed May 28, 2021).
- [15] J.D. Bos, M.M.H.M. Meinardi, The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs, *Exp. Dermatol.* 9 (2000) 165–169. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0625.2000.009003165.x>.
- [16] D.D. N'Da, Prodrug strategies for enhancing the percutaneous absorption of drugs, *Molecules.* 19 (2014) 20780–20807. <https://doi.org/10.3390/molecules191220780>.
- [17] T. Haque, M.M.U. Talukder, Chemical enhancer: A simplistic way to modulate barrier function of the stratum corneum, *Adv. Pharm. Bull.* 8 (2018) 169–179. <https://doi.org/10.15171/apb.2018.021>.
- [18] A.L.M. Ruela, A.G. Perissinato, M.E. de S. Lino, P.S. Mudrik, G.R. Pereira, Evaluation of skin absorption of drugs from topical and transdermal formulations, *Brazilian J. Pharm. Sci.* 52 (2016) 527–544. <https://doi.org/10.1590/s1984-82502016000300018>.
- [19] *Jhu_Petroleum_v1_Redwood_562pgs (1).pdf*, (n.d.).
- [20] T. Petry, D. Bury, R. Fautz, M. Hauser, B. Huber, A. Markowetz, S. Mishra, K. Rettinger, W. Schuh, T. Teichert, Review of data on the dermal penetration of mineral oils and waxes used in cosmetic applications, *Toxicol. Lett.* 280 (2017) 70–78. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2017.07.899>.
- [21] A. Patzelt, J. Lademann, H. Richter, M.E. Darvin, S. Schanzer, G. Thiede, W. Sterry, T. Vergou, M. Hauser, In vivo investigations on the penetration of various oils and their influence on the skin barrier, *Ski. Res. Technol.* 18 (2012) 364–369. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0846.2011.00578.x>.
- [22] I. Brinkmann, C.C. Müller-Goymann, An attempt to clarify the influence of glycerol, propylene glycol, isopropyl myristate and a combination of propylene glycol and isopropyl myristate on human stratum corneum, *Pharmazie.* 60 (2005) 215–220.
- [23] J. Jiang, L. Zhang, S.G. Proskurin, R.K. Wang, OCT image contrast improvement of skin tissue by using oleic acid as an enhancer, *Opt. Heal. Care Biomed. Opt. Diagnostics Treat. II.* 5630 (2005) 278. <https://doi.org/10.1117/12.576996>.
- [24] M.S. Mohamed, S. Ndyaye, K. Talla, C. Mbow, A.C. Beye, Enhanced Oil Recovery by Injecting Oleic Acid as a Surfactant into the Porous Medium, *Open J. Fluid Dyn.* 10 (2020) 82–94. <https://doi.org/10.4236/ojfd.2020.101006>.
- [25] T. Shin, Yeon-Sil Mori, Takeshi Okita, Masatsugu Gemma, Tsuyoshi Kai, Chieko

- Mikami, NII-Electronic Library Service, Chem. Pharm. Bull. 17 (1994) 1460–1462.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb1993/17/11/17_11_1460/_pdf/-char/ja.
- [26] E. Atef, N. Altuwaijri, Using Raman Spectroscopy in Studying the Effect of Propylene Glycol, Oleic Acid, and Their Combination on the Rat Skin, AAPS PharmSciTech. 19 (2018) 114–122. <https://doi.org/10.1208/s12249-017-0800-7>.
- [27] R.K. Wang, J.B. Elder, Propylene glycol as a contrasting agent for optical coherence tomography to image gastrointestinal tissues, Lasers Surg. Med. 30 (2002) 201–208. <https://doi.org/10.1002/lsm.10013>.
- [28] J.P.P. Marques, D.S.B. Basso, A.S. Nunes, A new technique associated with the evaporimetry method for evaluating occlusion, Int. J. Cosmet. Sci. 29 (2007) 97–102. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2494.2007.00357.x>.
- [29] J. Welzel, C. Reinhardt, E. Lanckenau, C. Winter, H.H. Wolff, Changes in function and morphology of normal human skin: Evaluation using optical coherence tomography, Br. J. Dermatol. 150 (2004) 220–225. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2004.05810.x>.
- [30] Y. Lee, K. Hwang, L'épaisseur de la peau des Coréens adultes, Surg. Radiol. Anat. 24 (2002) 183–189. <https://doi.org/10.1007/s00276-002-0034-5>.
- [31] S. Neerken, G.W. Lucassen, M.A. Bisschop, E. Lenderink, T. (A. M.). Nuijs, Characterization of age-related effects in human skin: A comparative study that applies confocal laser scanning microscopy and optical coherence tomography, J. Biomed. Opt. 9 (2004) 274. <https://doi.org/10.1117/1.1645795>.
- [32] M.A. Farage, K.W. Miller, P. Elsner, H.I. Maibach, Structural characteristics of the aging skin: A review, Cutan. Ocul. Toxicol. 26 (2007) 343–357. <https://doi.org/10.1080/15569520701622951>.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας Ι: Μέση τιμή, τυπική απόκλιση, μέση τυπική απόκλιση και διακύμανση του ολικού συντελεστή εξασθένισης μ_{tot} ανά εικόνα για υγιές δέρμα.

Υγιές δέρμα										
Εικόνα/Περιοχή	1	2	3	4	5	6	Μέση τιμή (Average)	Τυπική απόκλιση (SD)	Μέση τυπική απόκλιση (Mean deviation)	Διακύμανση (Variance)
1	39.50	80.75	88.81	-	-	-	69.68	26.45	0.00E+00	699.67
2	65.13	54.65	47.58	56.02	-	-	55.85	7.21	7.11E-15	51.99
3	69.53	86.28	55.81	53.87	56.30	-	64.36	13.74	4.26E-15	188.83
4	58.84	66.96	74.71	57.79	-	-	64.51	7.88	8.88E-15	62.03
5	36.41	73.26	63.24	64.93	59.45	72.54	61.64	13.48	5.92E-15	181.71
6	54.42	65.92	69.66	73.67	84.62	75.38	70.61	10.13	2.37E-15	102.68
7	72.15	86.65	49.70	52.64	67.68	-	65.76	15.09	8.53E-15	227.74
8	59.61	37.54	81.88	56.38	-	-	58.85	18.17	0.00E+00	330.39
9	40.06	19.24	23.04	54.41	35.62	-	34.47	14.08	4.97E-15	198.19
10	42.95	51.99	49.39	62.18	-	-	51.62	7.99	3.55E-15	63.93
11	39.10	50.37	81.33	58.86	-	-	57.41	17.88	7.11E-15	319.69
12	63.92	71.83	84.24	54.33	35.79	-	62.02	18.31	7.11E-15	335.18
13	73.63	57.6	41.29	30.51	42.11	-	49.03	16.80	0.00E+00	282.35
14	65.69	75.5	35.1	67.49	40.00	-	56.81	18.03	9.95E-15	325.25
15	50.79	36.98	29.58	14.33	-	-	32.92	15.19	0.00E+00	230.85
16	48.49	83.17	82.57	-	-	-	71.41	19.85	0.00E+00	394.08
17	49.01	77.29	101.10	-	-	-	75.80	26.08	0.00E+00	680.00
18	51.95	55.75	74.23	41.54	-	-	55.86	13.64	0.00E+00	185.94
19	55.77	71.23	53.88	-	-	-	60.29	9.52	7.11E-15	90.60
20	58.73	35.14	52.20	43.61	-	-	47.42	10.26	1.78E-15	105.36
21	55.25	46.25	36.20	54.83	-	-	48.13	8.97	7.11E-15	80.48

22	30.81	44.55	46.63	-	-	-	43.99	2.95	2.37E-15	8.69
23	22.68	56.10	46.03	-	-	-	41.60	17.14	2.37E-15	293.92
24	43.21	48.21	65.58	-	-	-	52.33	11.74	0.00E+00	137.86
25	46.14	47.88	36.15	35.22	-	-	41.35	6.59	3.55E-15	43.40
26	42.72	23.42	49.05	-	-	-	38.39	13.35	0.00E+00	178.24
27	61.97	52.83	-	-	-	-	57.40	6.46	0.00E+00	41.77
28	36.69	49.51	35.51	-	-	-	40.50	7.83	2.37E-15	61.32
29	80.00	57.56	68.32	-	-	-	68.63	11.22	0.00E+00	125.96
30	43.86	28.91	26.95	-	-	-	33.24	9.25	2.37E-15	85.55
31	54.25	52.84	41.91	-	-	-	49.67	6.75	2.37E-15	45.62

Πίνακας II: Μέση τιμή, τυπική απόκλιση, μέση τυπική απόκλιση και διακύμανση του ολικού συντελεστή εξασθένησης μ_{tot} ανά εικόνα για BCC.

BCC								
Εικόνα/Περιοχή	1	2	3	4	Μέση τιμή (Average)	Τυπική απόκλιση (SD)	Μέση τυπική απόκλιση (Mean deviation)	Διακύμανση (Variance)
1	44.76	56.49	39.08	-	46.78	8.88	2.37E-15	78.83
2	63.93	51.55	48.86	-	54.78	8.04	4.74E-15	64.60
15	17.79	10.56	19.15	25.99	18.37	6.32	0.00E+00	40.00
16	66.45	77.37	75.29	-	73.04	5.79	4.74E-15	33.62
17	28.43	9.29	55.61	-	31.11	23.27	0.00E+00	541.77
18	21.00	26.75	25.50	-	24.42	3.02	1.18E-15	9.15
19	30.38	69.73	55.49	30.13	41.43	13.12	0.00E+00	172.12
20	63.79	72.08	22.54	24.32	45.68	25.93	0.00E+00	672.21
21	26.73	37.48	28.42	-	30.87	5.78	1.18E-15	33.42
22	35.29	41.04	33.72	28.50	34.64	5.16	3.55E-15	26.64
23	18.50	33.71	-	-	26.15	10.76	0.00E+00	115.67

24	65.91	76.42	58.50	-	66.94	9.00	4.74E-15	81.08
25	29.28	34.41	35.83	-	33.17	3.45	0.00E+00	11.87
26	56.57	44.58	54.09	-	51.74	6.33	2.37E-15	40.06
27	39.12	51.67	50.64	-	47.14	6.97	4.74E-15	48.55
28	63.59	45.01	58.33	-	55.64	9.58	4.74E-15	91.72
29	33.06	51.27	32.14	-	38.82	10.79	2.37E-15	116.4
30	40.02	42.71	-	-	41.37	1.90	0.00E+00	3.62
31	68.13	55.09	55.86	-	59.69	7.32	4.74E-15	53.53

**Οι εικόνες 3 – 14 αποτελούν αναφέρονται σε περιοχές υγιούς δέρματος γι' αυτό και παραλείπονται στον συγκεκριμένο πίνακα*

Πίνακας III : Μέση τιμή, τυπική απόκλιση, μέση τυπική απόκλιση και διακύμανση ανά εικόνα του πάχους υγιούς επιδερμίδας χωρίς την τοποθέτηση υλικού.

Περιοχή/ Εικόνα	1	2	3	4	5	6	Μέση τιμή (Average)	Τυπική απόκλιση (SD)	Μέση τυπική απόκλιση (Mean deviation)	Διακύμανση (Variance)
6	0.159	0.184	0.159	0.152	0.15	0.155	0.160	0.012	0.0002	0.0002
7	0.155	0.160	0.148	0.150	0.149	-	0.152	0.0050	0.0004	0.00003
8	0.188	0.181	0.179	0.184	-	-	0.183	0.0040	0.0000	0.00002
9	0.173	0.179	0.179	0.162	0.184	-	0.175	0.008	0.0004	0.00007
10	0.17	0.165	0.172	0.163	-	-	0.168	0.004	0.0005	0.00002
11	0.144	0.141	0.137	0.127	-	-	0.137	0.007	0.0003	0.00006
12	0.139	0.141	0.129	0.141	0.132	-	0.136	0.006	0.0004	0.00003
13	0.144	0.13	0.137	0.147	0.145	-	0.141	0.007	0.0004	0.00005
14	0.139	0.139	0.142	0.132	0.141	-	0.139	0.004	0.0004	0.00002

Πίνακας IV : Μέση τιμή, τυπική απόκλιση, μέση τυπική απόκλιση και διακύμανση του πάχους υγιούς επιδερμίδας ανά εικόνα μετά την τοποθέτηση υλικού.

Περιοχή/ Εικόνα	1	2	3	4	5	Μέση τιμή (Average)	Τυπική απόκλιση (SD)	Μέση τυπική απόκλιση (Mean deviation)	Διακύμανση (Variance)
1	0.137	0.155	0.163	0.163	0.151	0.154	0.011	0.0002	0.0001
2	0.136	0.165	0.169	0.162	0.151	0.157	0.013	0.0004	0.0002
3	0.176	0.174	0.174	0.176	0.153	0.171	0.010	0.0004	0.0001
4	0.191	0.158	0.160	0.159	0.137	0.161	0.019	0.0000	0.0004
5	0.269	0.167	0.172	0.170	0.151	0.166	0.008	0.0002	0.0001
6	0.167	0.153	0.165	0.159	0.158	0.160	0.006	0.0004	0.0004
7	0.187	0.161	0.160	0.167	0.170	0.169	0.011	0.0000	0.0001
8	0.156	0.179	0.167	0.160	-	0.166	0.010	0.0005	0.0001
9	0.165	0.158	0.186	0.151	0.180	0.168	0.015	0.0000	0.0002
10	0.162	0.160	0.162	0.155	0.184	0.165	0.011	0.0004	0.0001
11	0.179	0.170	0.184	0.162	0.160	0.171	0.010	0.0000	0.0001
12	0.172	0.184	0.179	0.173	0.172	0.176	0.001	0.0000	0.0003
13	0.269	0.184	0.226	0.184	0.212	0.215	0.035	0.0000	0.0013
14	0.170	0.191	0.184	0.165	-	0.178	0.012	0.0005	0.0001
15	0.211	0.187	0.148	0.148	0.170	0.215	0.054	0.0420	0.0029
16	0.279	0.282	0.255	0.200	0.191	0.241	0.043	0.0004	0.0019
17	0.191	0.163	0.184	0.191	0.206	0.187	0.016	0.0000	0.0002

18	0.185	0.240	0.191	0.208	0.228	0.210	0.024	0.0004	0.0006
19	0.177	0.184	0.205	0.226	0.177	0.194	0.021	0.0002	0.0005
20	0.278	0.191	0.184	0.171	0.184	0.202	0.043	0.0004	0.0019
21	0.234	0.219	0.219	0.195	-	0.217	0.016	0.0003	0.0003
22	0.244	0.205	0.198	0.179	0.230	0.211	0.026	0.0002	0.0007
23	0.205	0.177	0.171	0.207	-	0.190	0.019	0.0000	0.0004
24	0.192	0.219	0.176	0.169	0.186	0.188	0.019	0.0004	0.0003
25	0.219	0.205	0.212	0.198	0.190	0.205	0.011	0.000	0.0001
26	0.177	0.212	0.205	0.177	0.210	0.196	0.018	0.0002	0.0003

Πίνακας V : Μέση τιμή, τυπική απόκλιση, μέση τυπική απόκλιση και διακύμανση του ολικού συντελεστή εξασθένισης μ_{tot} ανά εικόνα μετά την τοποθέτηση υλικού.

Περιοχή/ Εικόνα	1	2	3	4	5	Μέση τιμή (Average)	Τυπική απόκλιση (SD)	Μέση τυπική απόκλιση (Mean deviation)	Διακύμανση (Variance)
1	24.73	28.21	39.21	37.2	56.25	37.12	12.28	0.00E+00	150.81
2	59.55	71.18	33.82	40.14	40.71	49.08	15.66	2.84E-15	245.22
3	36.32	28.65	39.18	29.62	38.08	34.37	4.89	4.97E-15	23.99
4	46.7	76.46	81.38	79.18	51.65	67.07	16.53	0.00E+00	273.08
5	65.17	69.33	61.49	66.63	64.7	65.46	2.86	1.42E-14	8.19
6	66.94	101.63	75.07	82.92	79.42	81.19	12.89	0.00E+00	166.11
7	63.13	43.28	64.88	68.63	48.4	57.64	11.12	2.84E-15	123.73

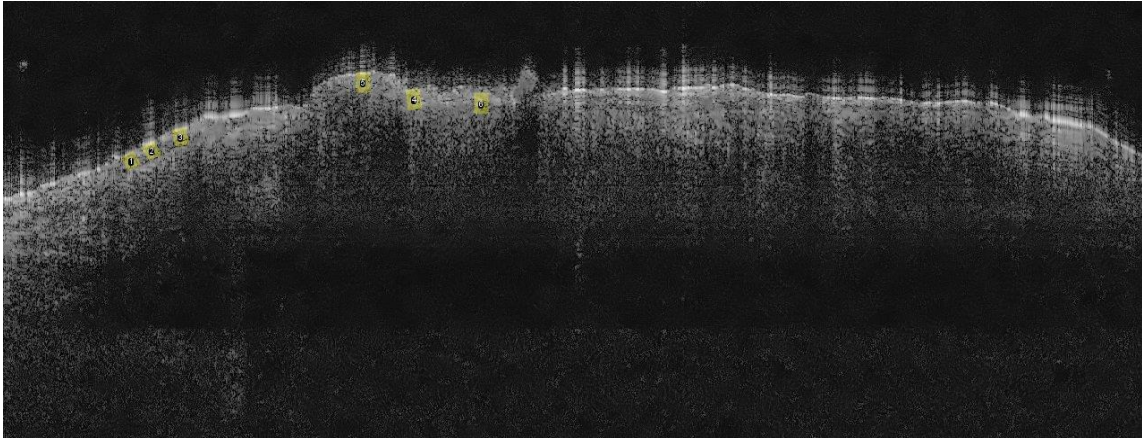
8	61.29	55.3	43.37	52.91	-	53.22	7.45	3.55E-15	55.52
9	66.1	76.57	46.76	51.25	50.32	58.2	12.66	5.68E-15	160.28
10	68.54	87.38	52.16	97.87	76.48	76.48	17.54	1.71E-15	307.71
11	71.07	75.46	75.89	81.72	83.54	77.53	5.06	2.84E-15	25.59
12	81.9	59.41	91.04	87.91	71.22	78.29	12.99	5.68E-15	168.64
13	51.18	66.23	48.48	58.58	78.77	60.65	12.26	9.95E-15	150.39
14	56.25	36.39	45.04	55.35	-	48.26	9.41	0.00E+00	88.46
15	61.5	76.98	51.57	46.71	59.31	59.21	11.57	1.14E-14	133.91
16	62.28	40.28	71.38	48.77	79.29	60.4	15.98	0.00E+00	255.25
17	80.29	84.65	61.42	61.86	60.28	69.7	11.77	0.00E+00	138.6
18	77.88	62.81	62.91	60.4	66.16	66.03	6.93	1.42E-14	48.06
19	71	69.37	61.13	70.42	69.77	68.34	4.08	7.11E-15	16.62
20	54.08	49.97	62.38	77.41	66	61.97	10.74	4.26E-15	115.26
21	71.46	57.43	57	63.13	-	62.26	6.74	3.55E-15	45.46
22	61.21	58.17	77.13	74.6	56.18	65.46	9.71	0.00E+00	94.26
23	66.88	84.91	82.56	61.67	69.41	73.09	10.15	1.42E-14	102.98
24	67.72	70.71	91.27	76.17	85.31	78.24	9.89	5.68E-15	97.86
25	78.08	65.86	62.09	88.88	70.91	73.16	10.63	1.14E-14	113.06
26	61.6	81.06	61.34	59.7	64.33	65.61	8.78	7.11E-15	77.39

Οι τύποι που χρησιμοποιήθηκαν για τη συμπλήρωση των πινάκων είναι οι εξής:

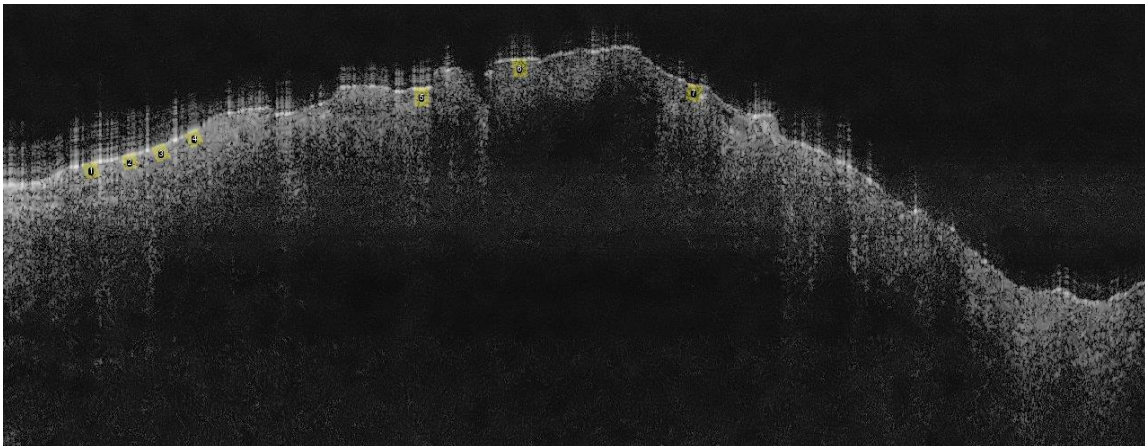
- Μέση τιμή : $\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N}$
- Τυπική απόκλιση : $SD = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{N-1}}$
- Μέση απόκλιση = $\frac{\sum |x_i - \bar{x}|}{N}$
- Διακύμανση : $\sigma = SD^2$

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΕΙΚΟΝΩΝ (Υγιές δέρμα και πάσχον, BCC)

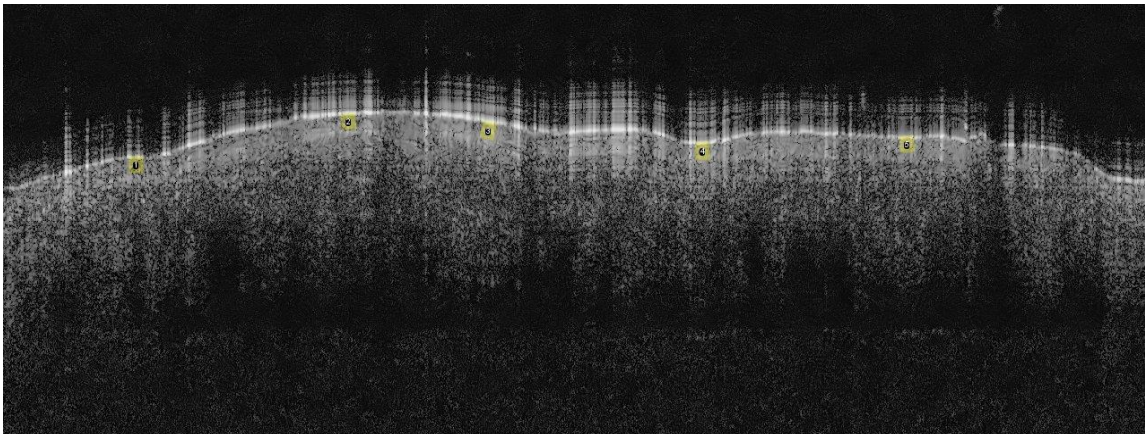
Εικόνα Π1



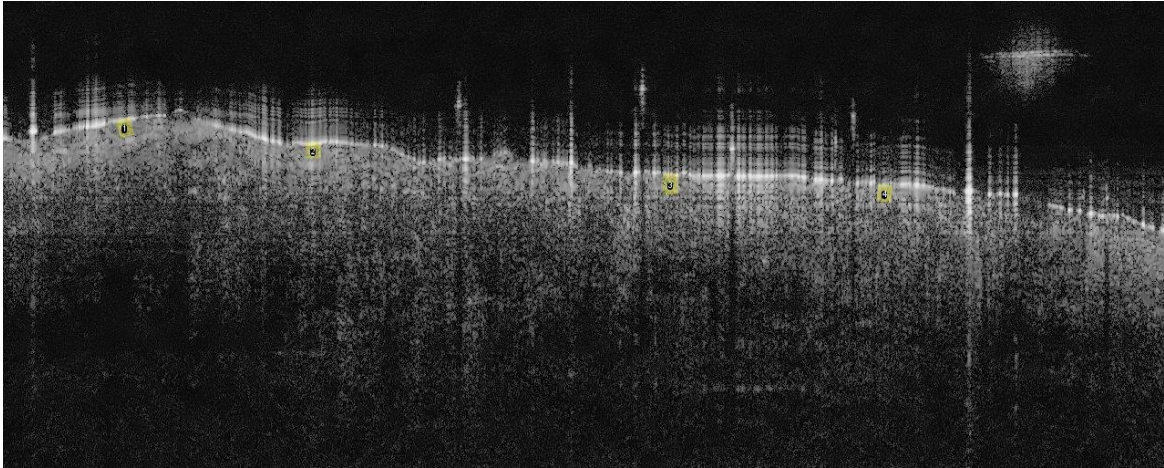
Εικόνα Π2



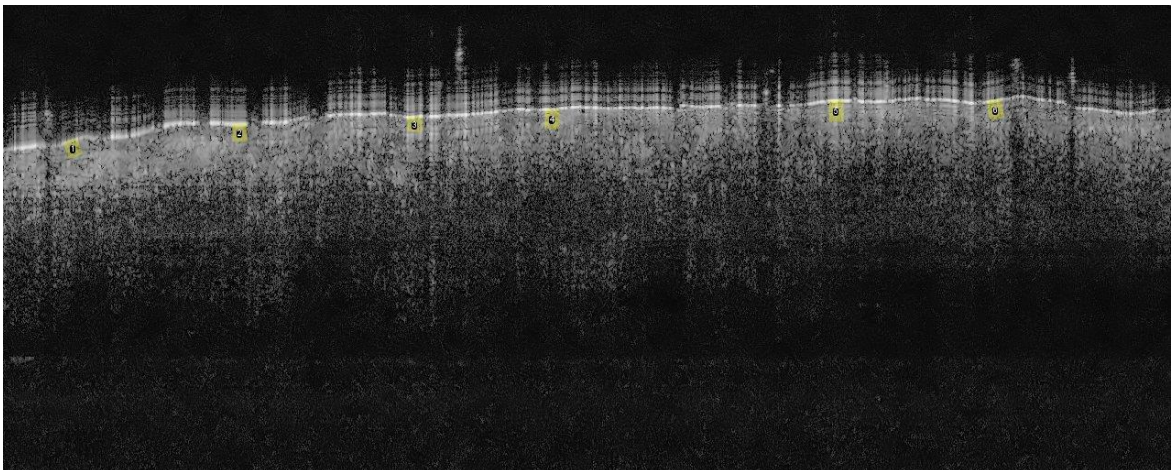
Εικόνα Π3



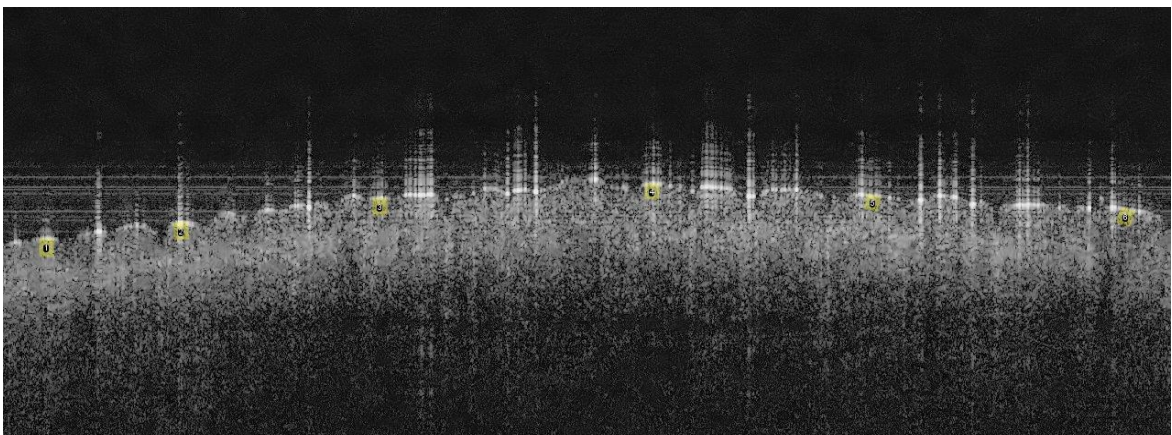
Εικόνα Π4



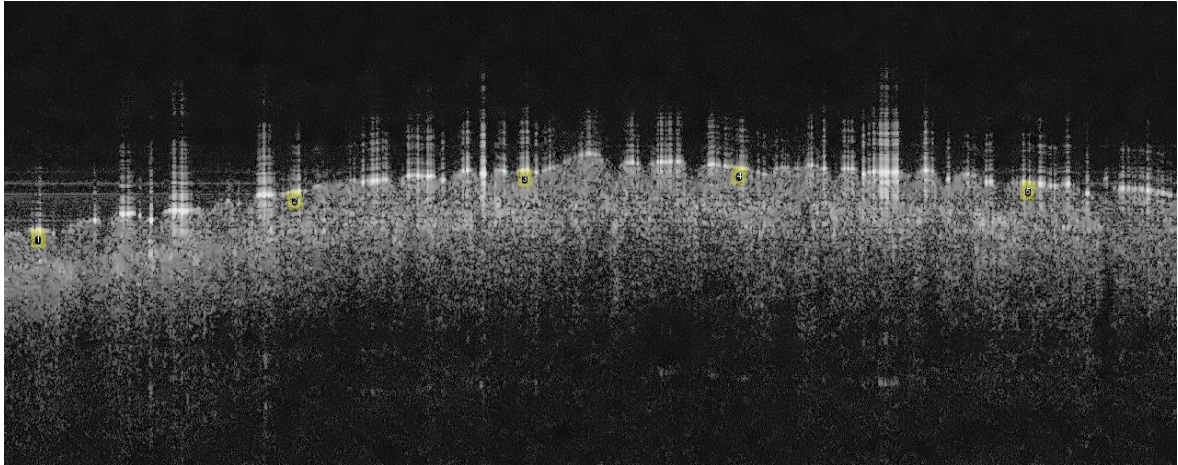
Εικόνα Π5



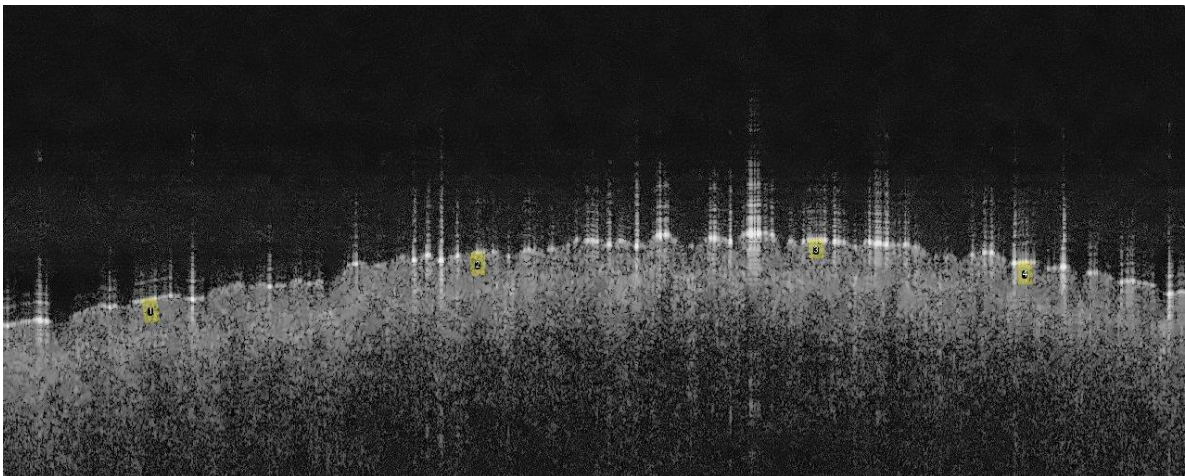
Εικόνα Π6



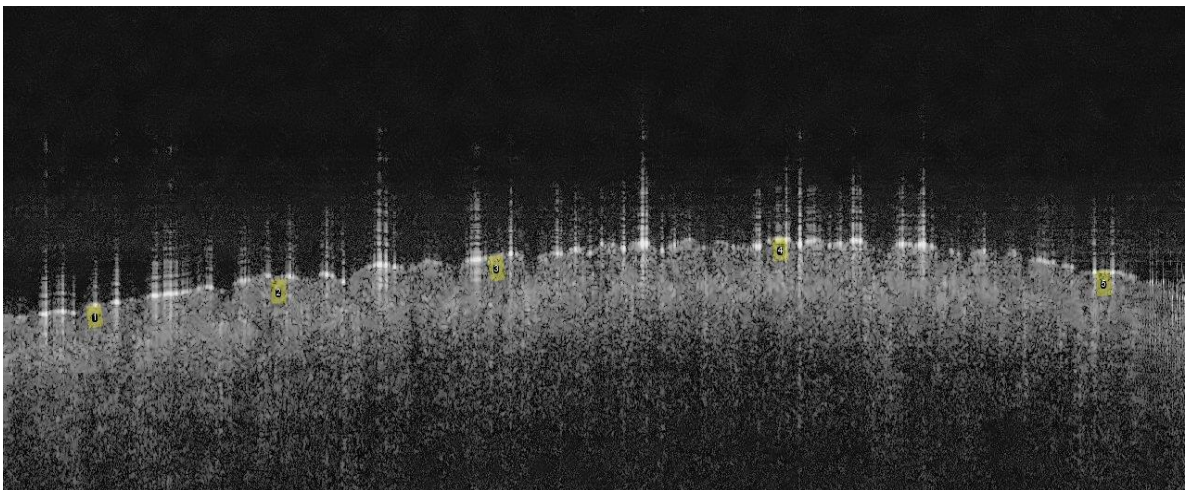
Εικόνα Π7



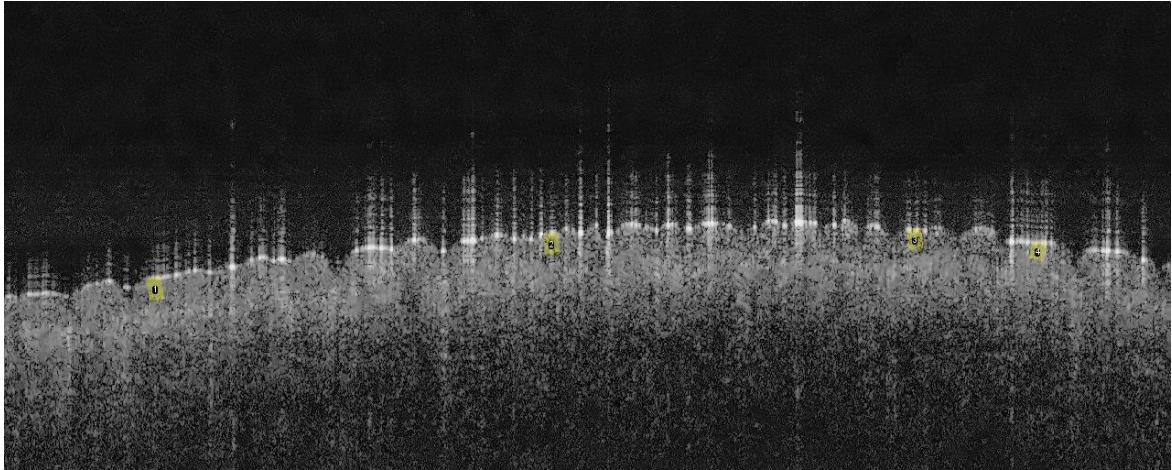
Εικόνα Π8



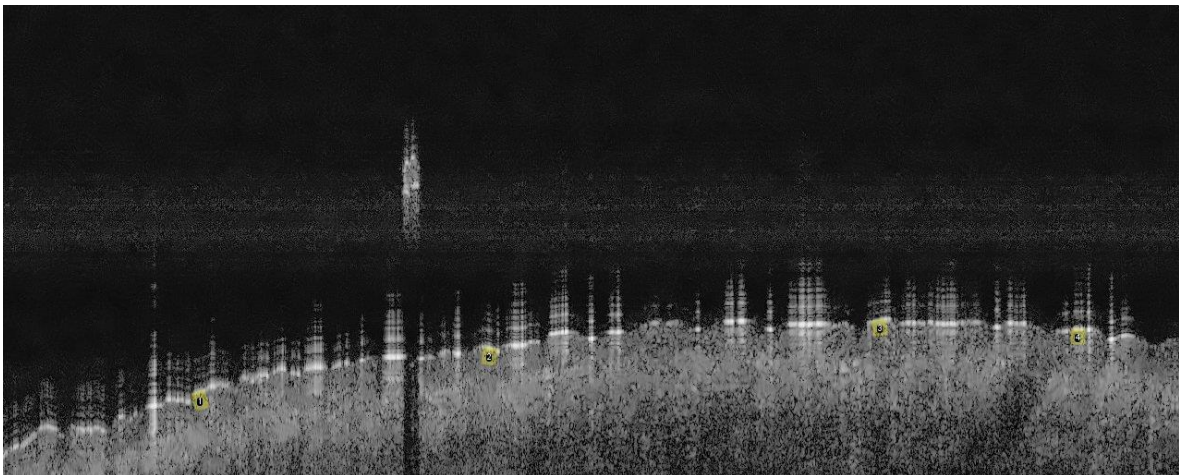
Εικόνα Π9



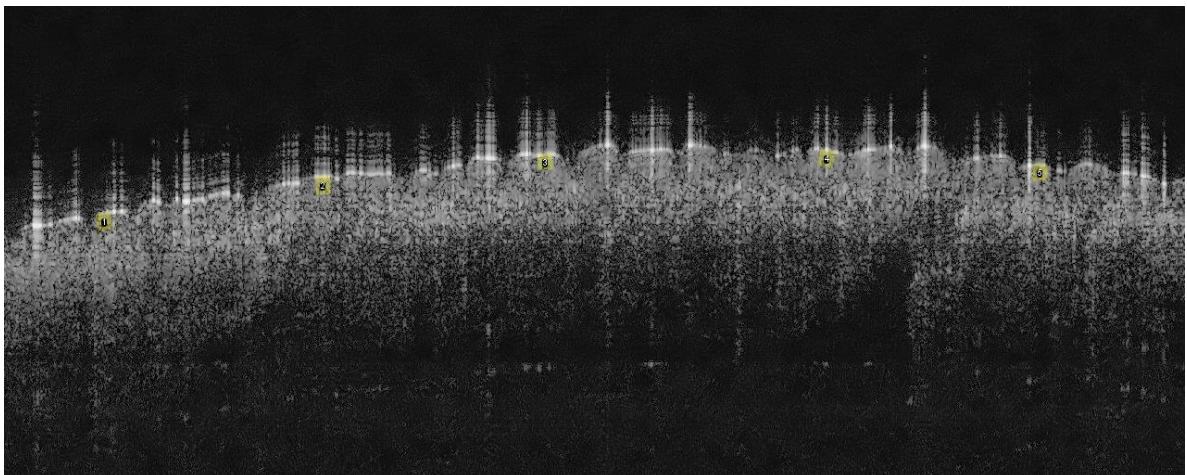
Εικόνα Π10



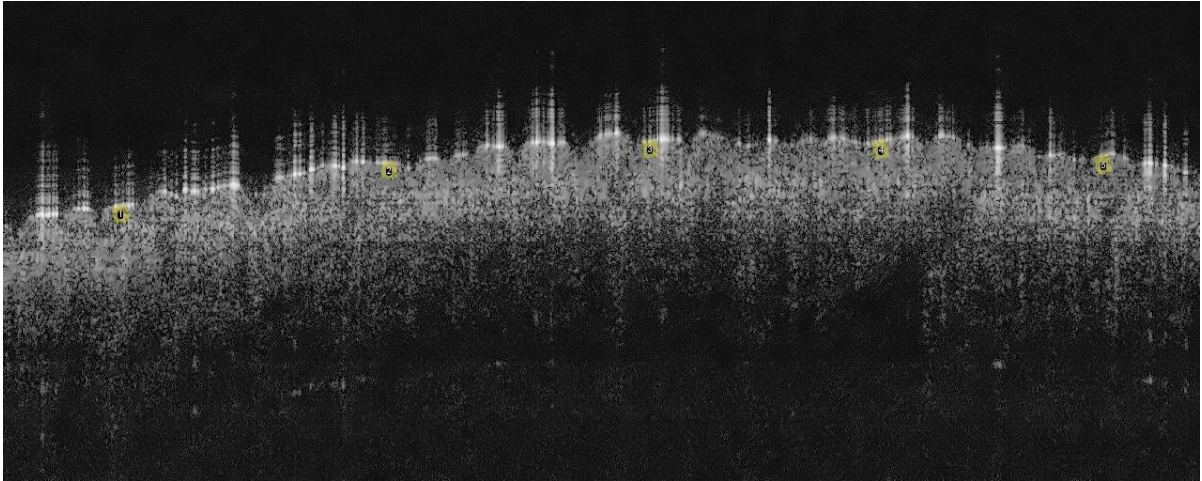
Εικόνα Π11



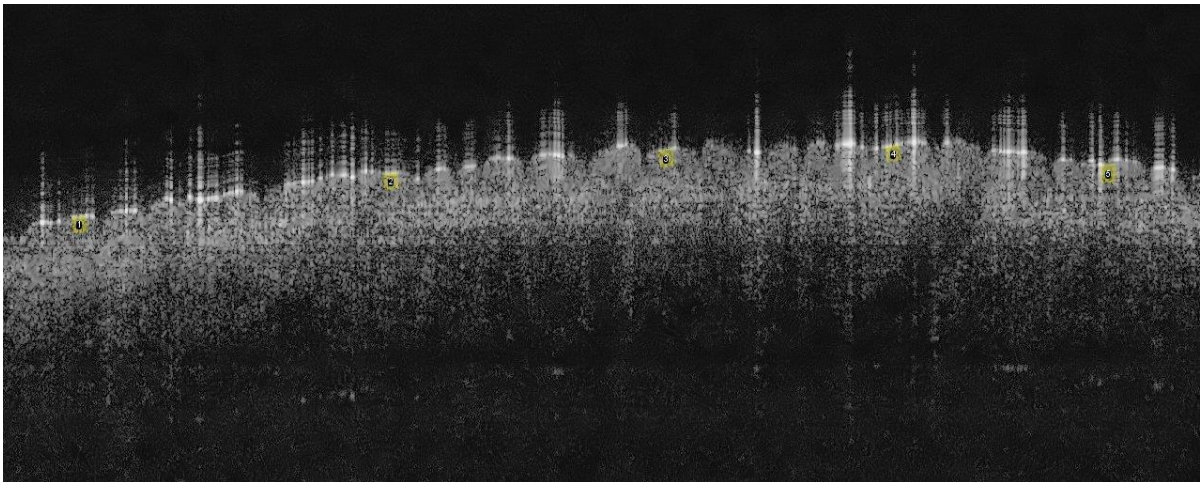
Εικόνα Π12



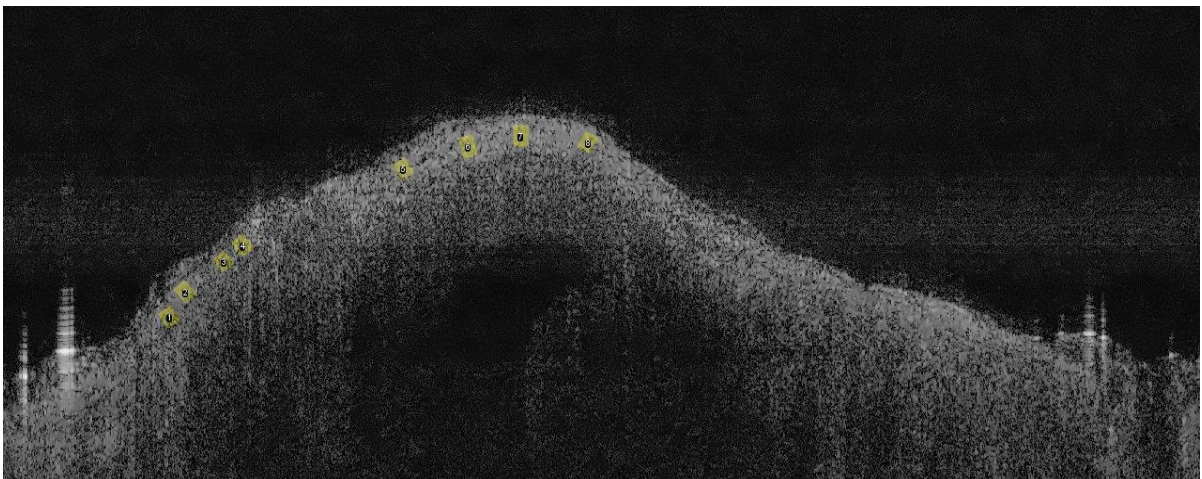
Εικόνα Π13



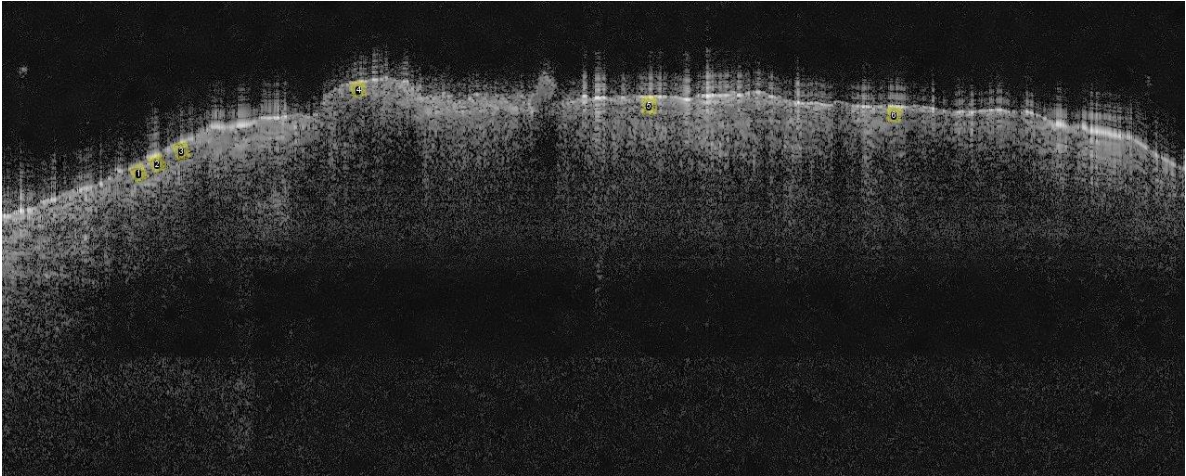
Εικόνα Π14



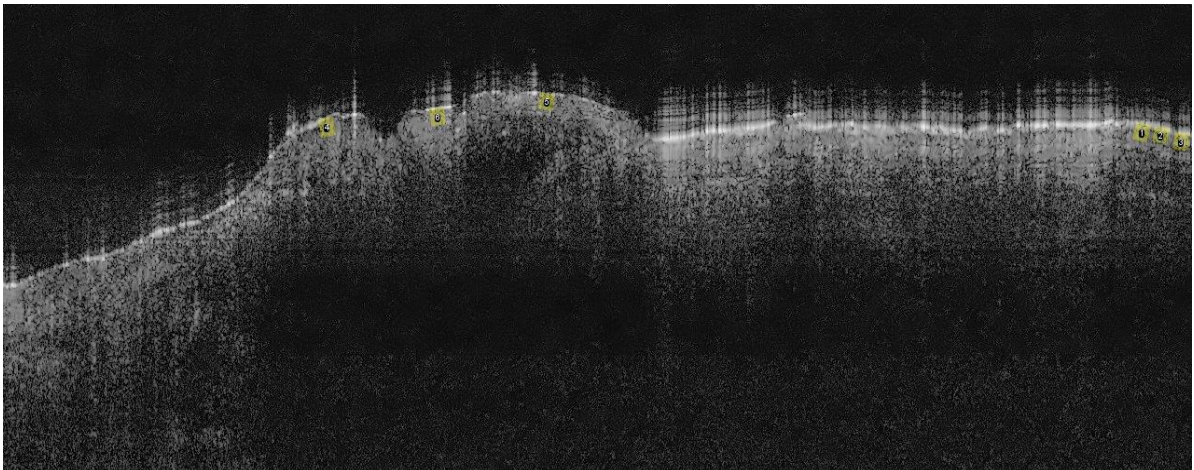
Εικόνα Π15



Εικόνα Π16



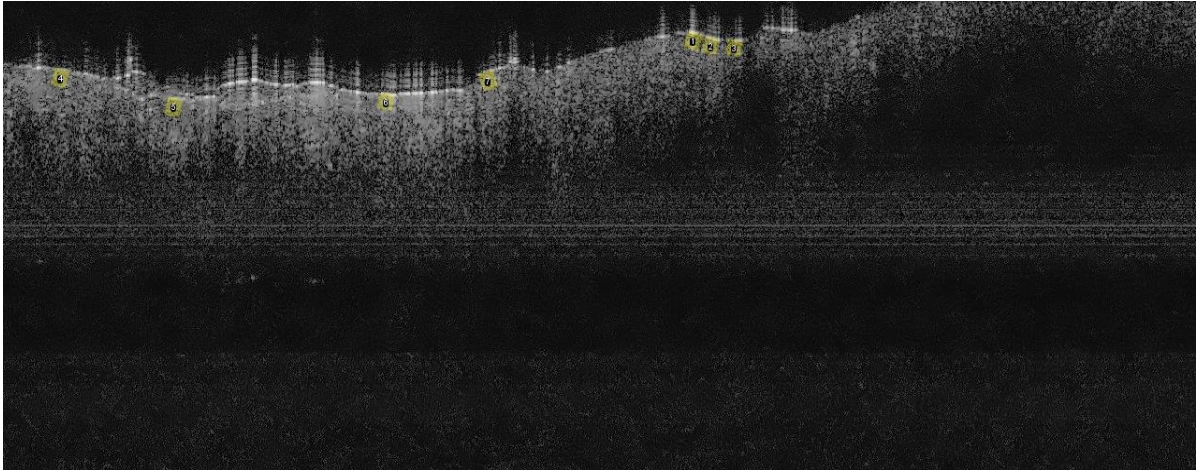
Εικόνα Π17



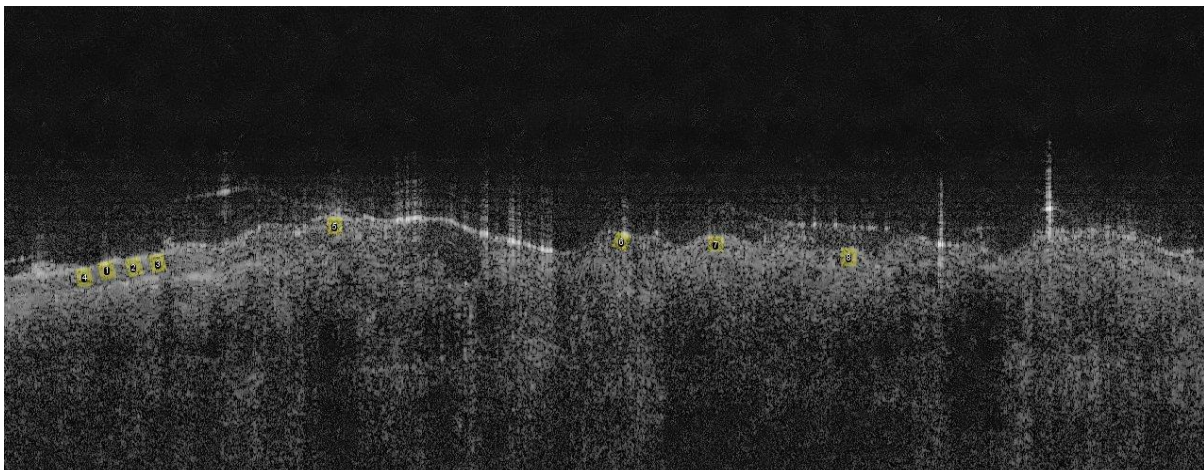
Εικόνα Π18



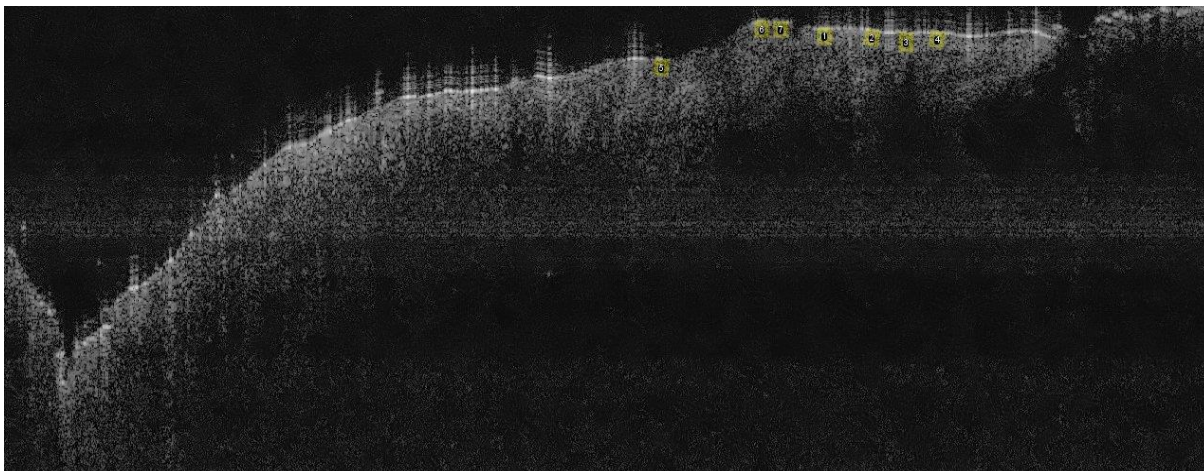
Εικόνα Π19



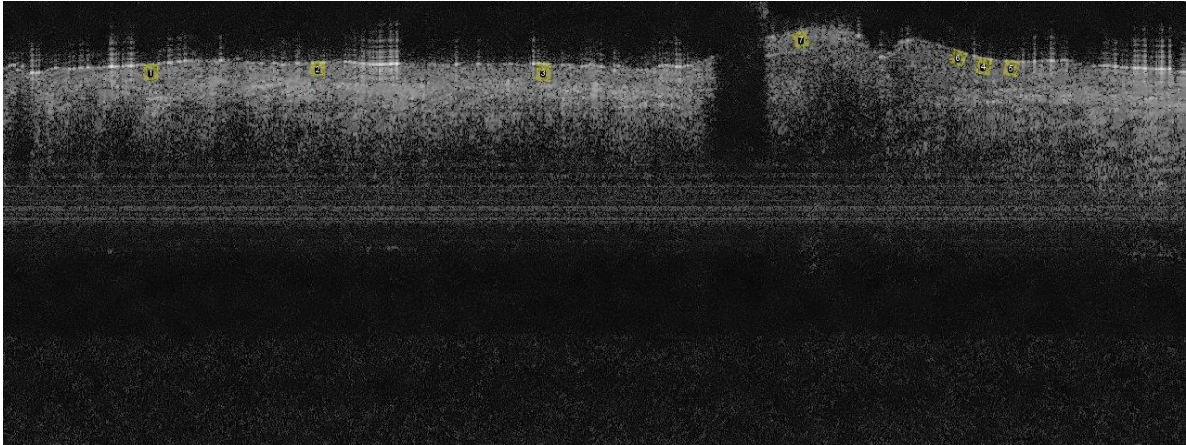
Εικόνα Π20



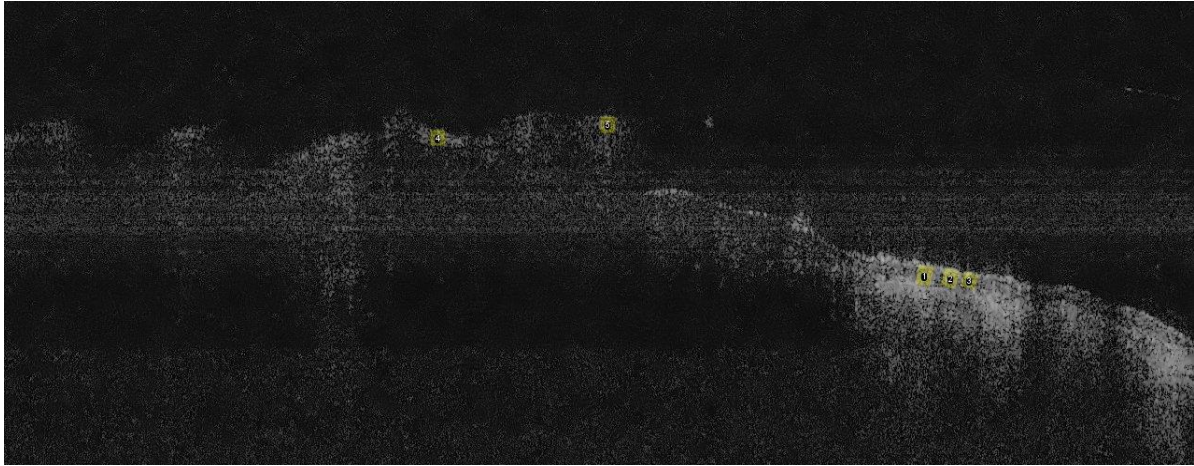
Εικόνα Π21



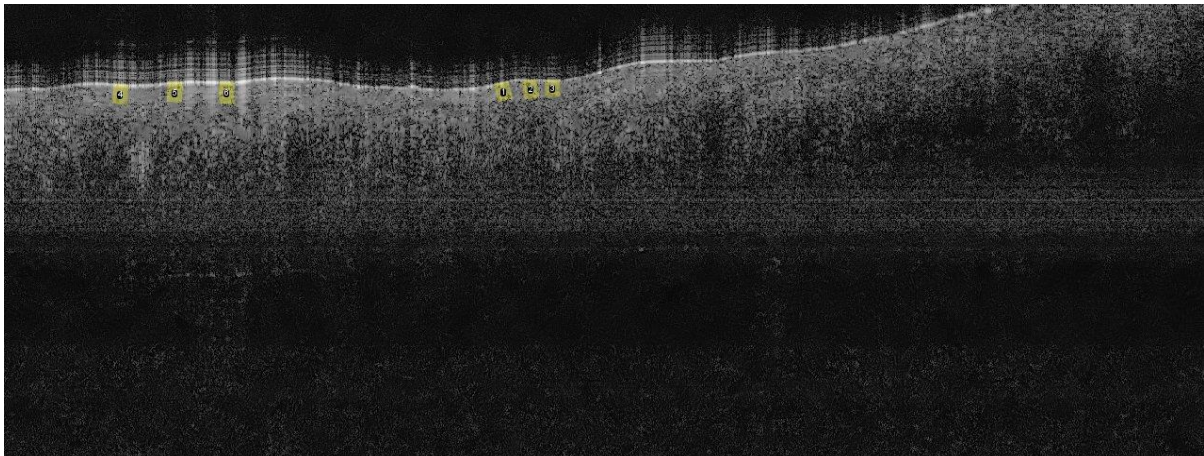
Εικόνα Π22



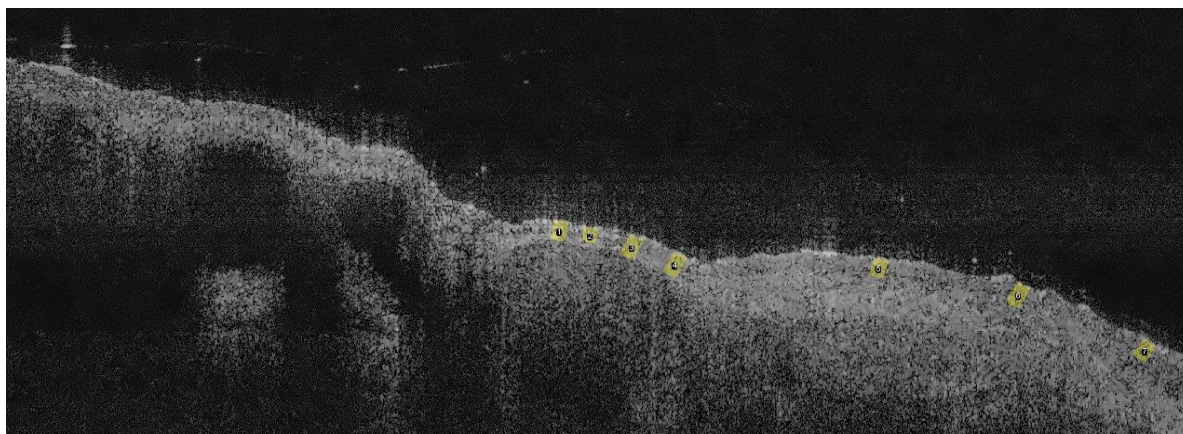
Εικόνα Π23



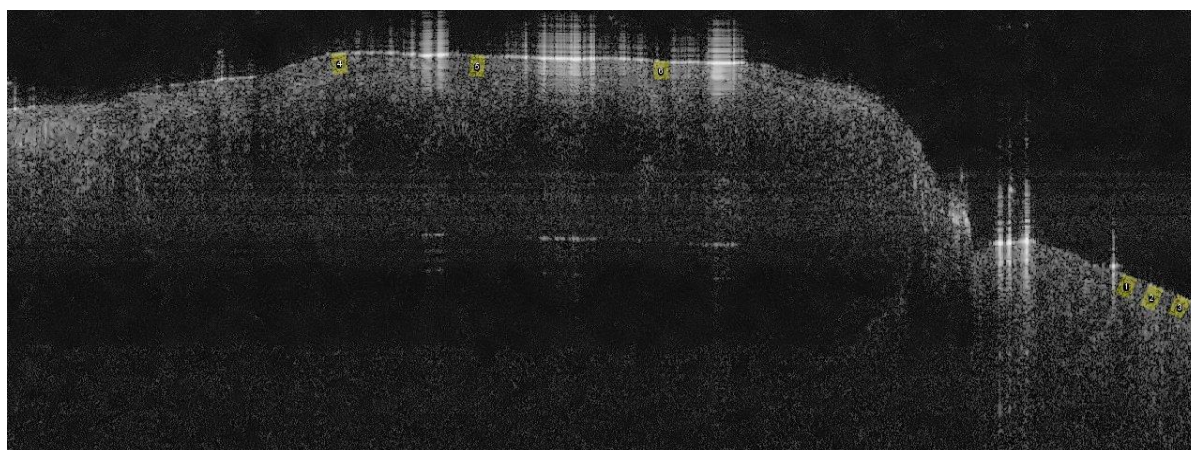
Εικόνα Π24



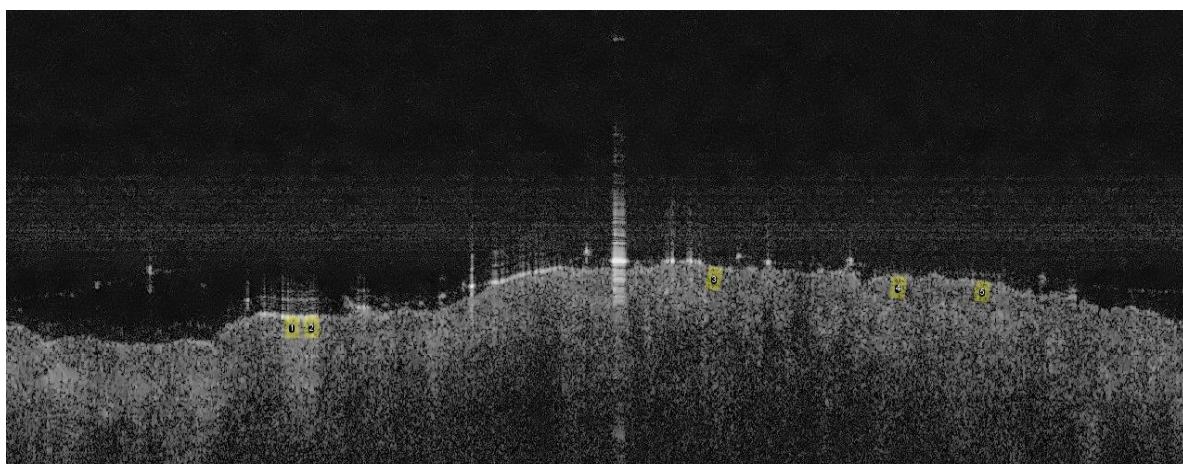
Εικόνα Π25



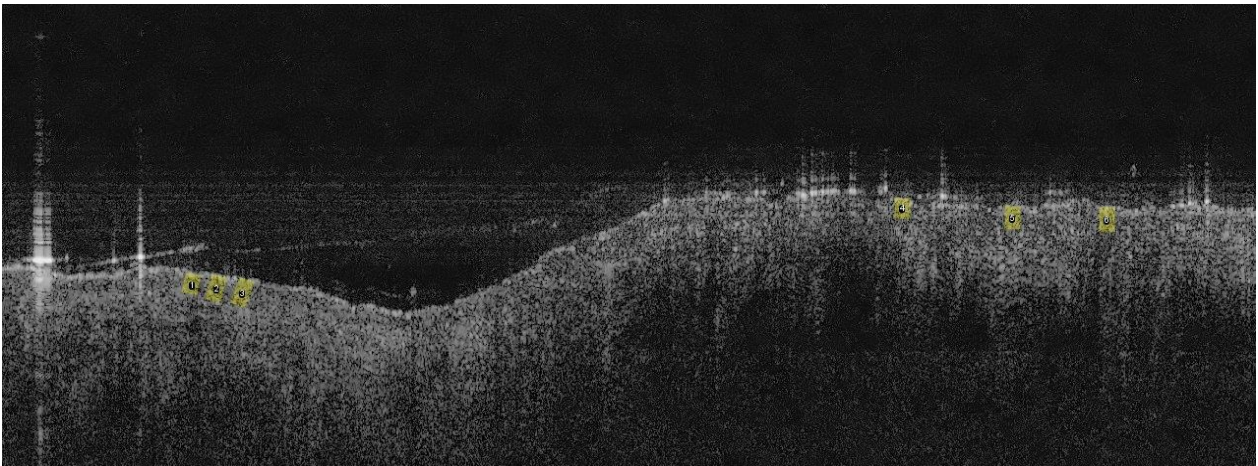
Εικόνα Π26



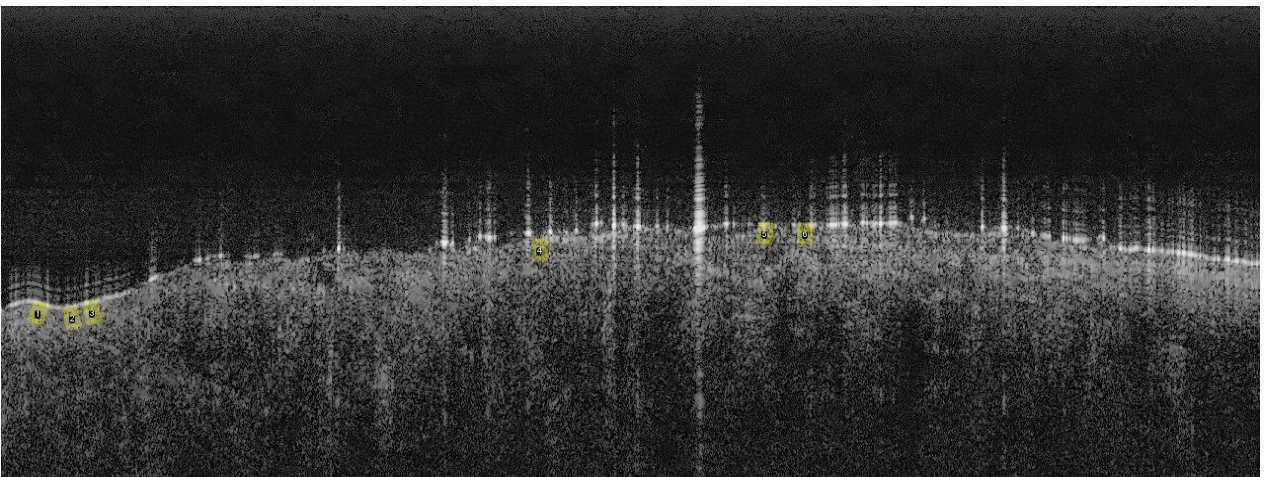
Εικόνα Π27



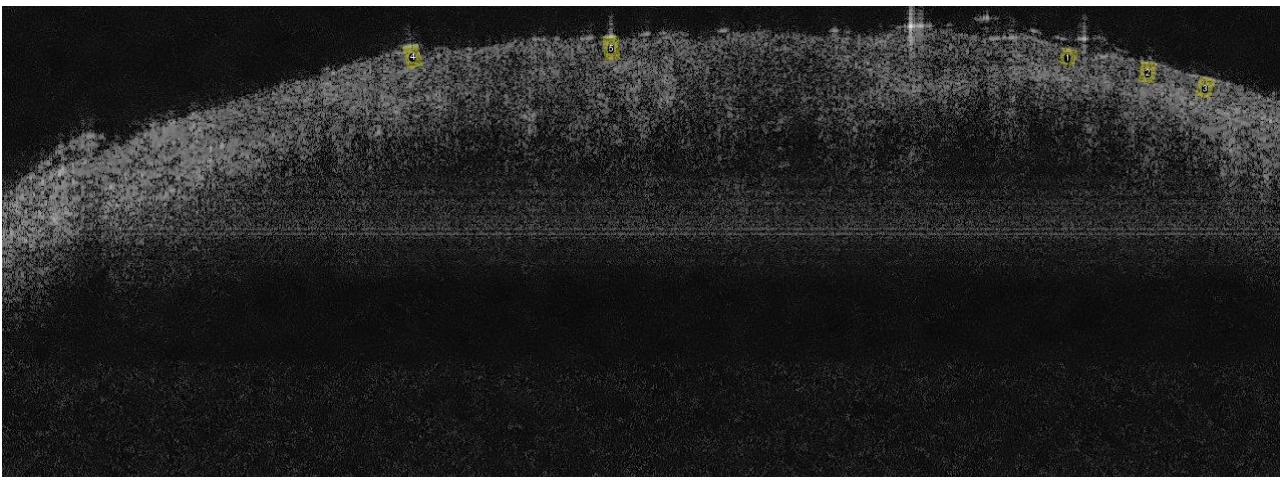
Εικόνα Π28



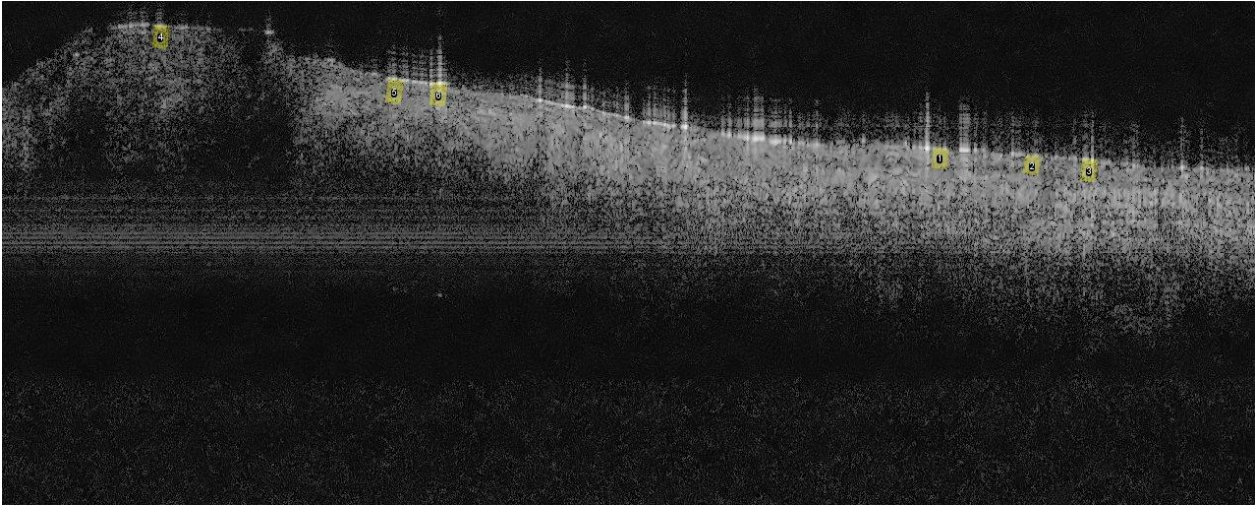
Εικόνα Π29



Εικόνα Π30

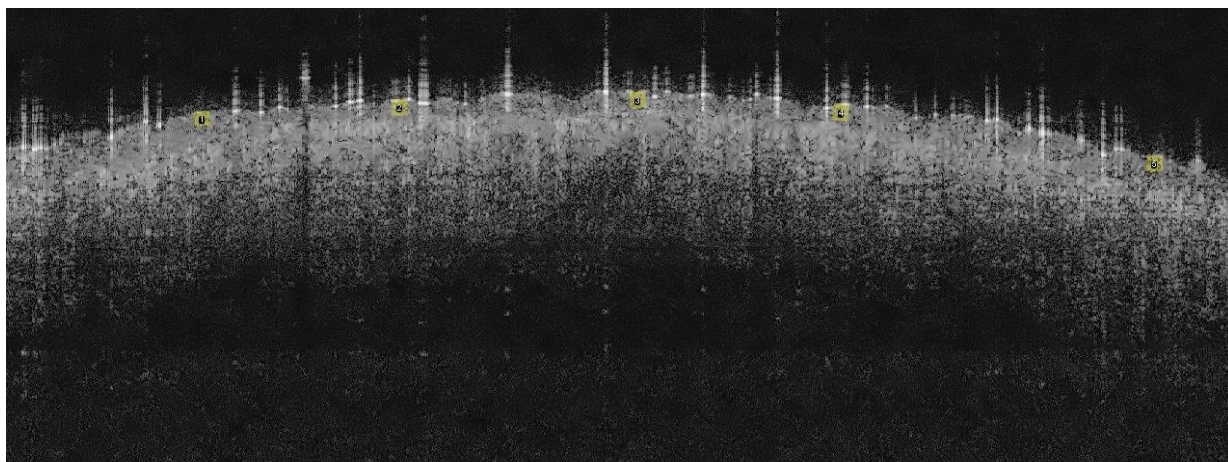


Εικόνα Π31

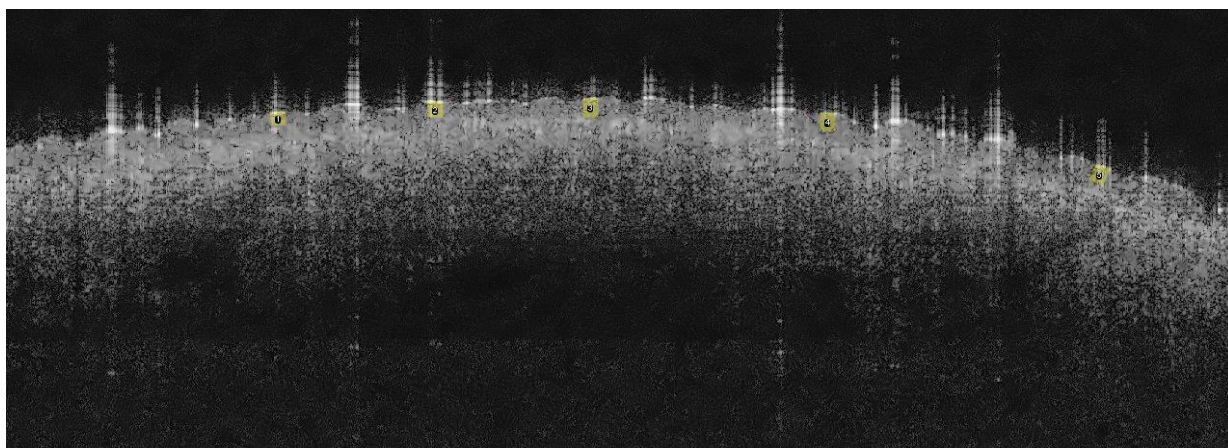


ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟ GEL ΣΤΟ ΔΕΡΜΑ

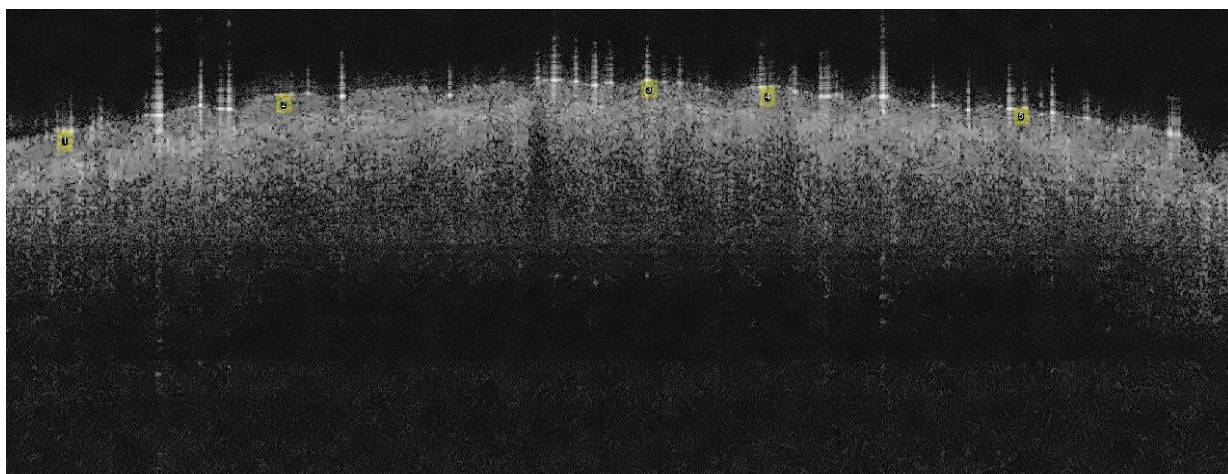
Εικόνα Π'1



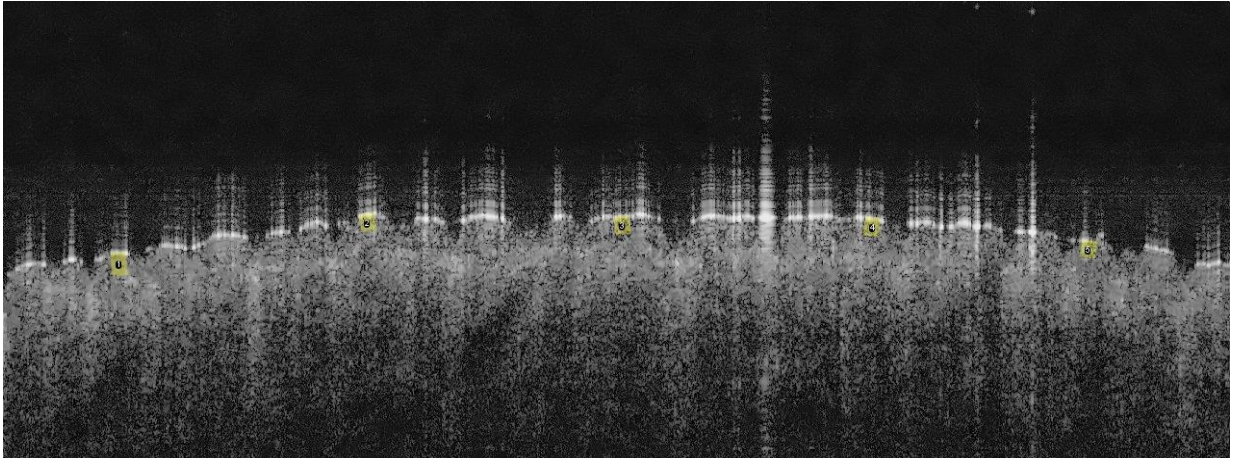
Εικόνα Π'2



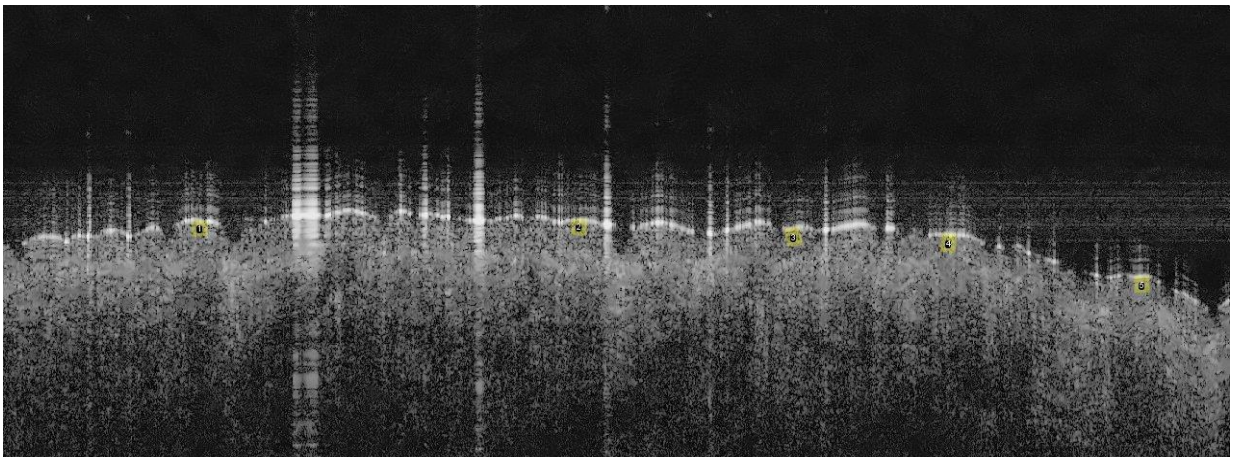
Εικόνα Π'3



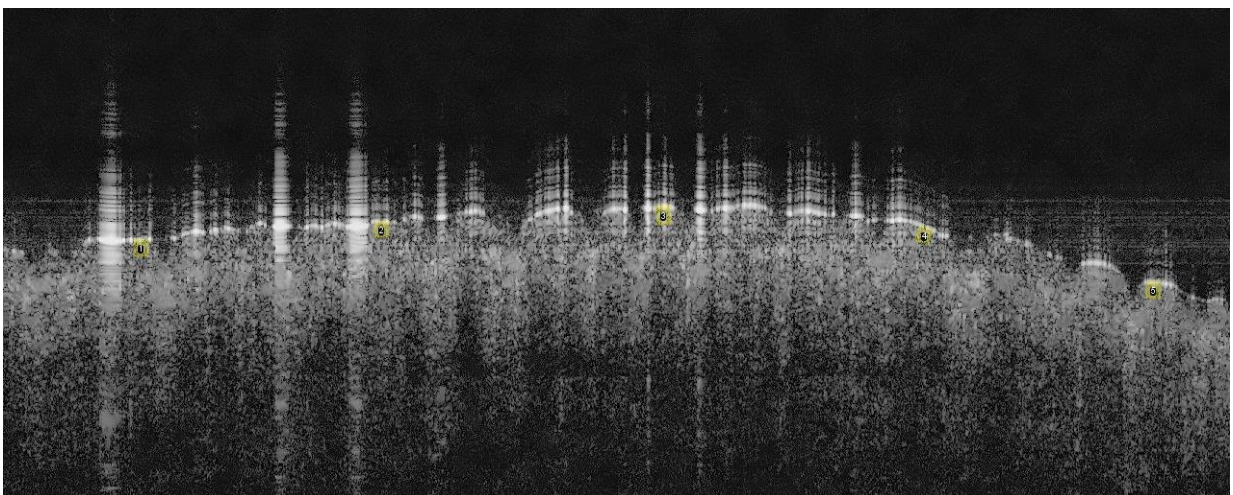
Εικόνα Π'4



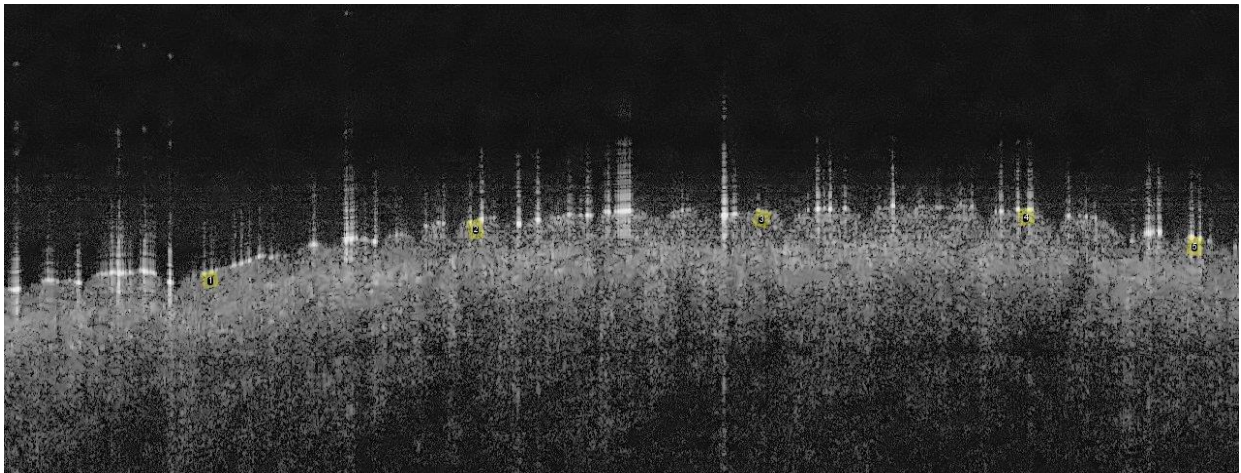
Εικόνα Π'5



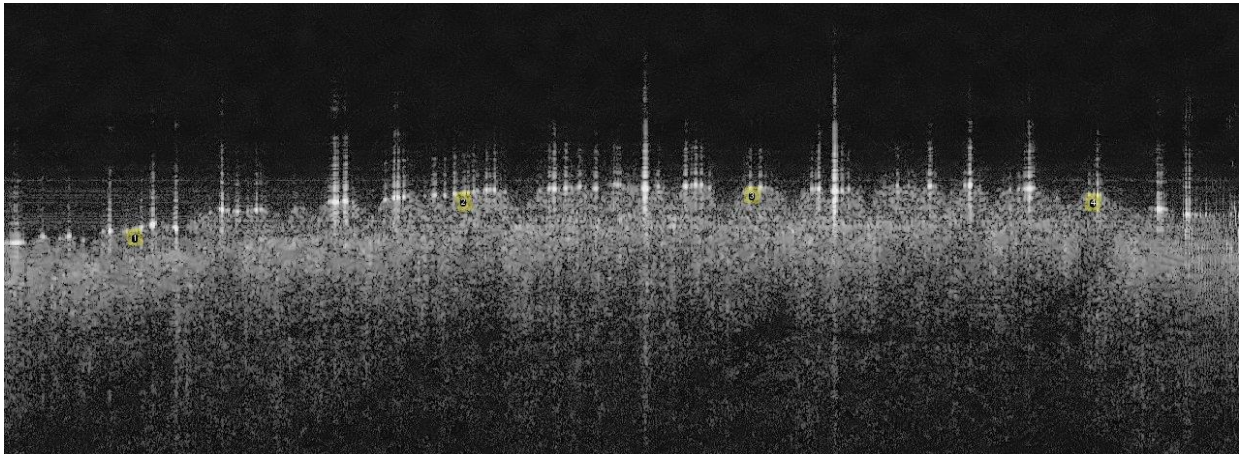
Εικόνα Π'6



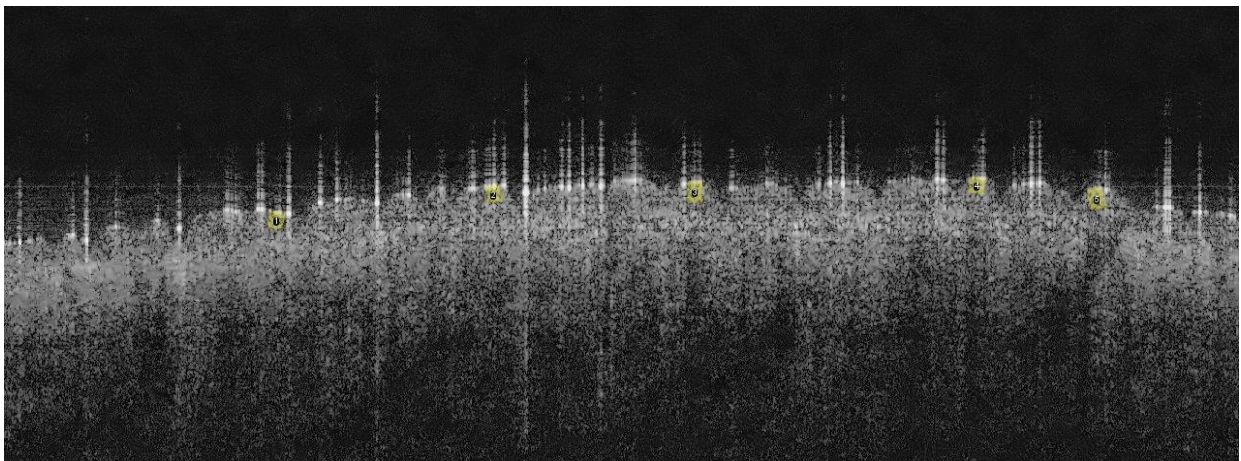
Εικόνα Π'7



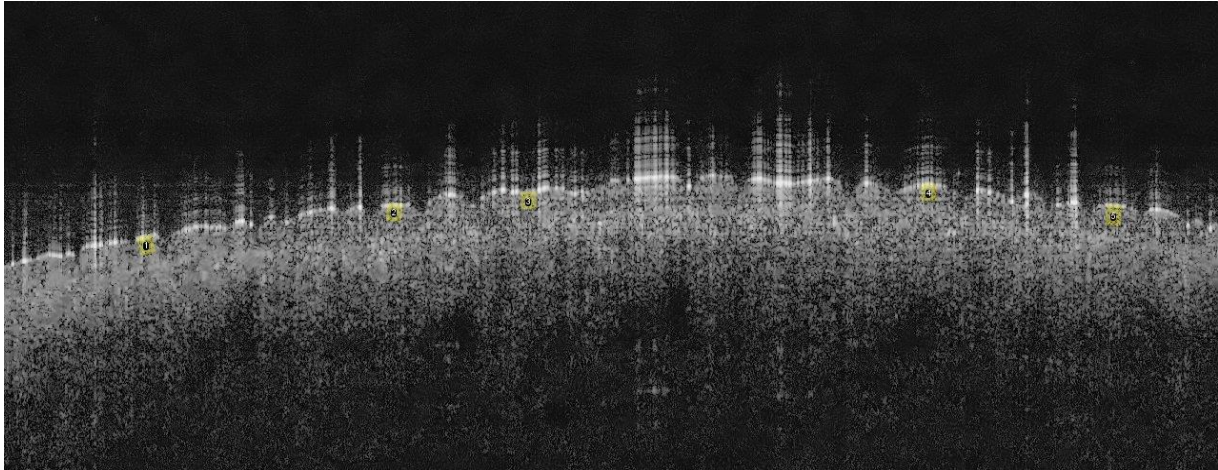
Εικόνα Π'8



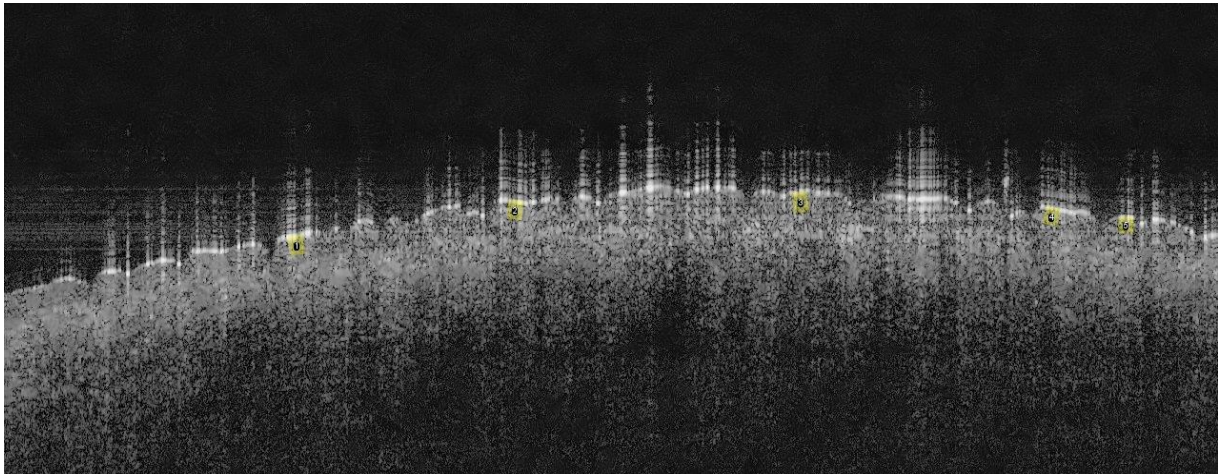
Εικόνα Π'9



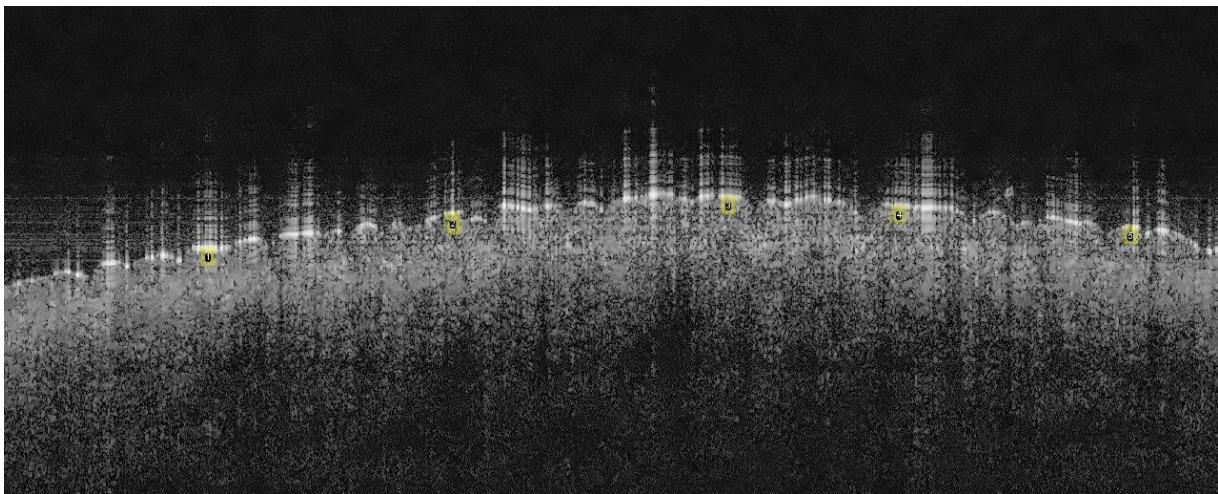
Εικόνα Π'10



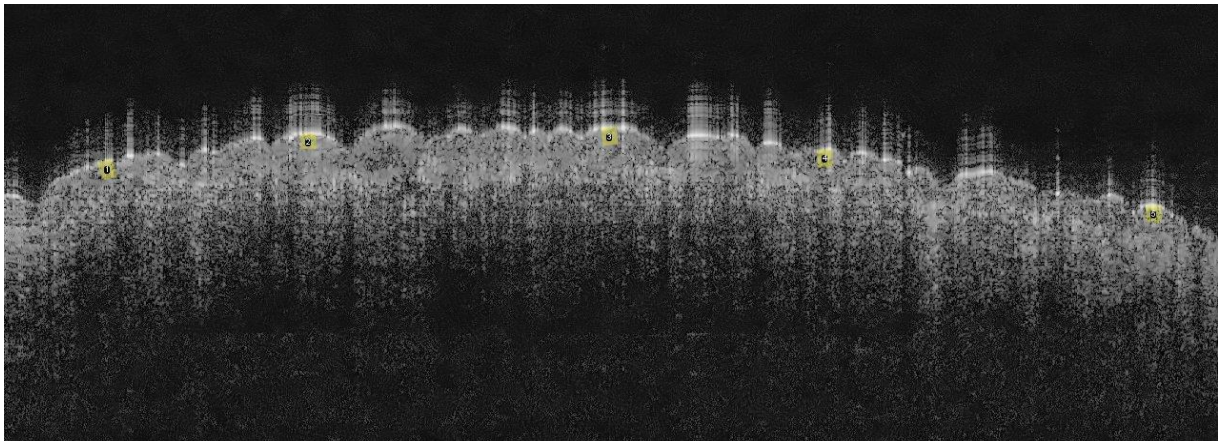
Εικόνα Π'11



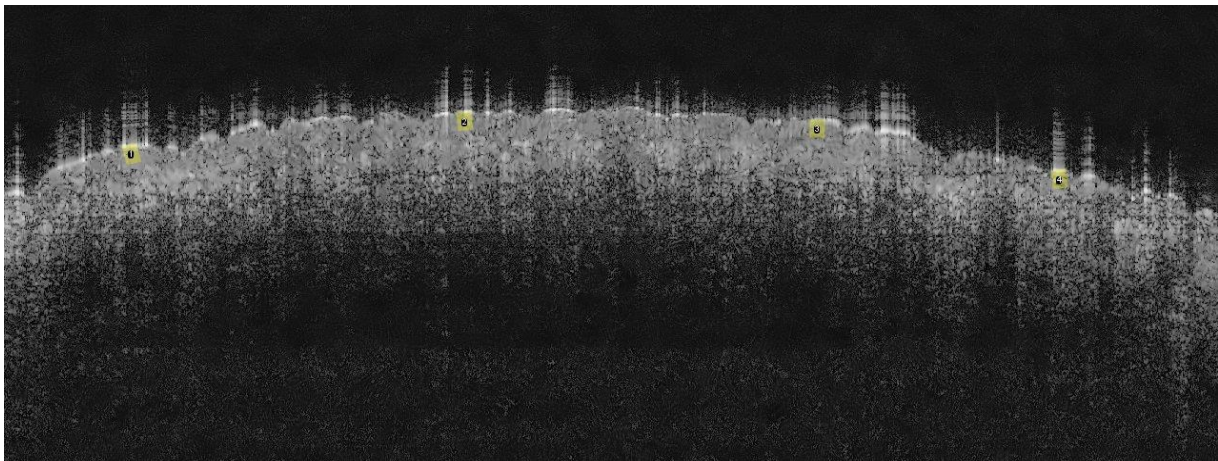
Εικόνα Π'12



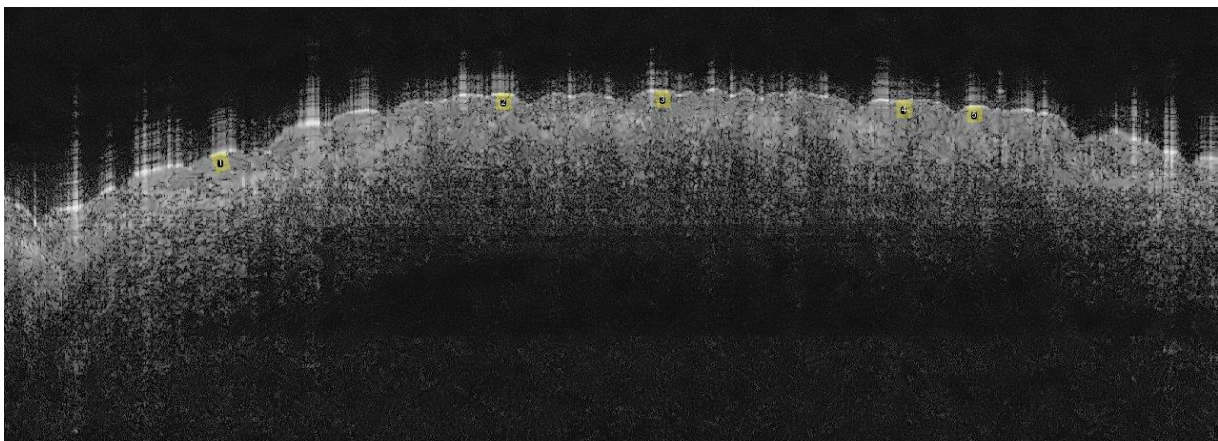
Εικόνα Π'13



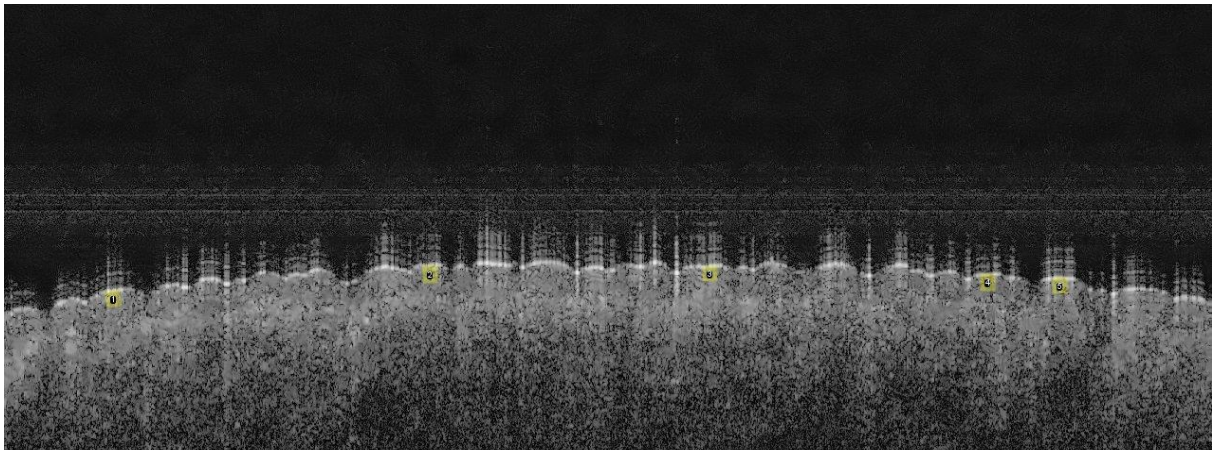
Εικόνα Π'14



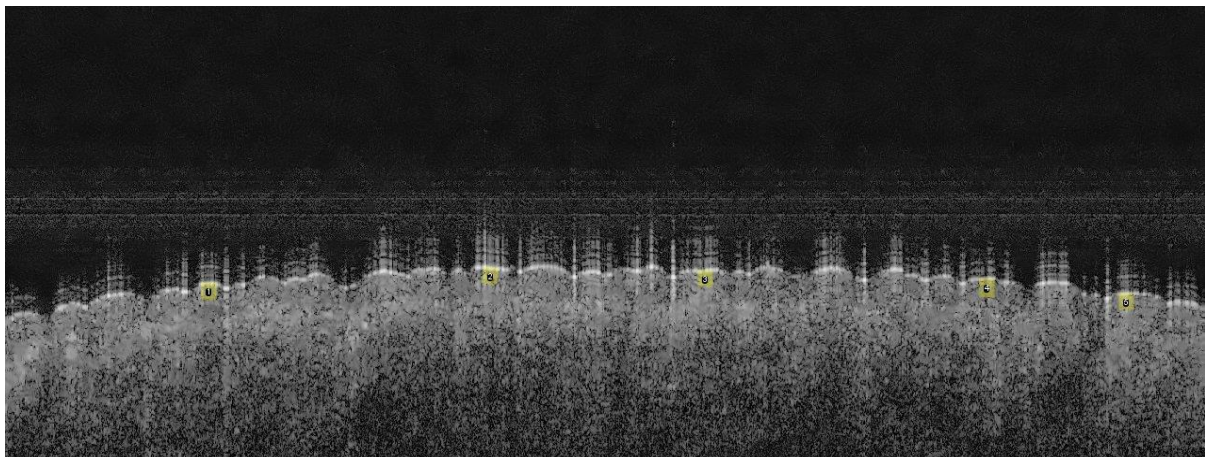
Εικόνα Π'15



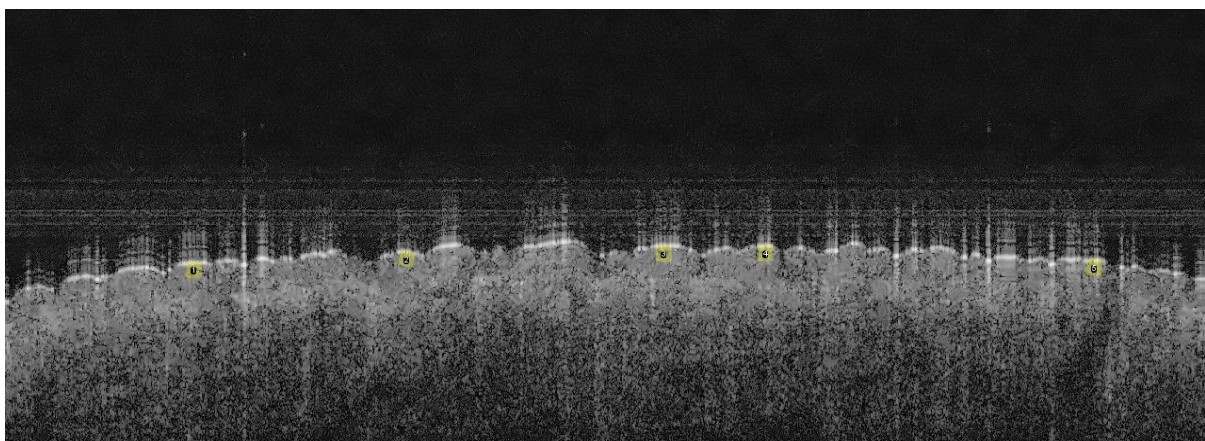
Εικόνα Π'16



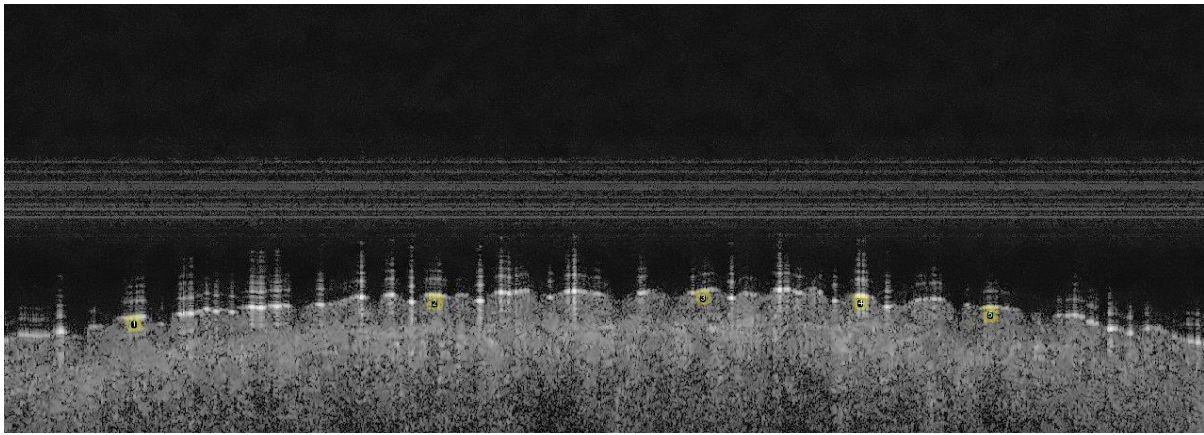
Εικόνα Π'17



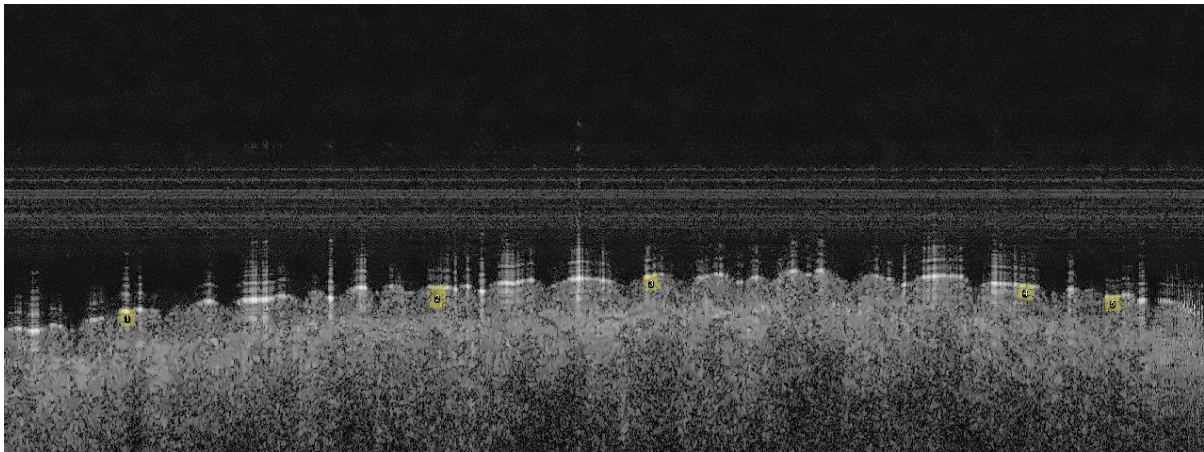
Εικόνα Π'18



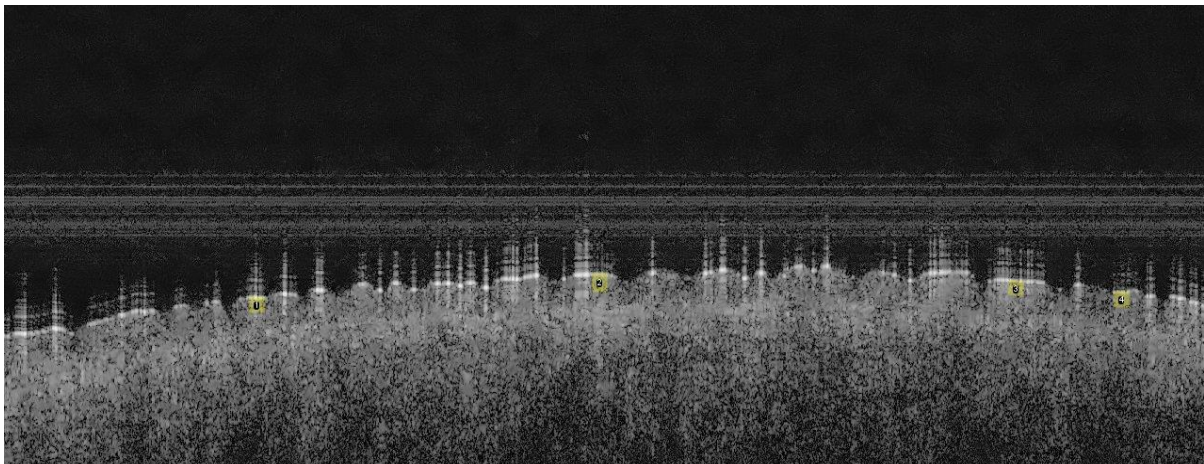
Εικόνα Π'19



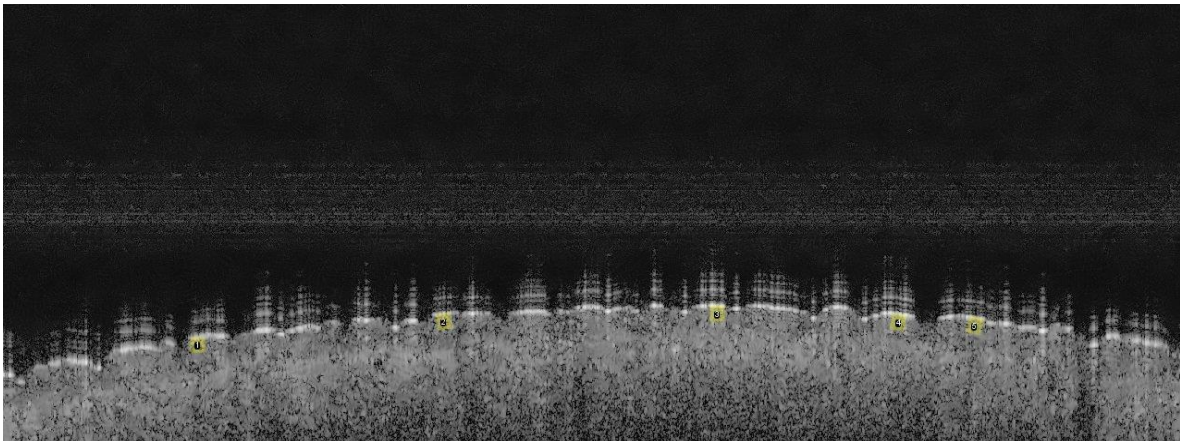
Εικόνα Π'20



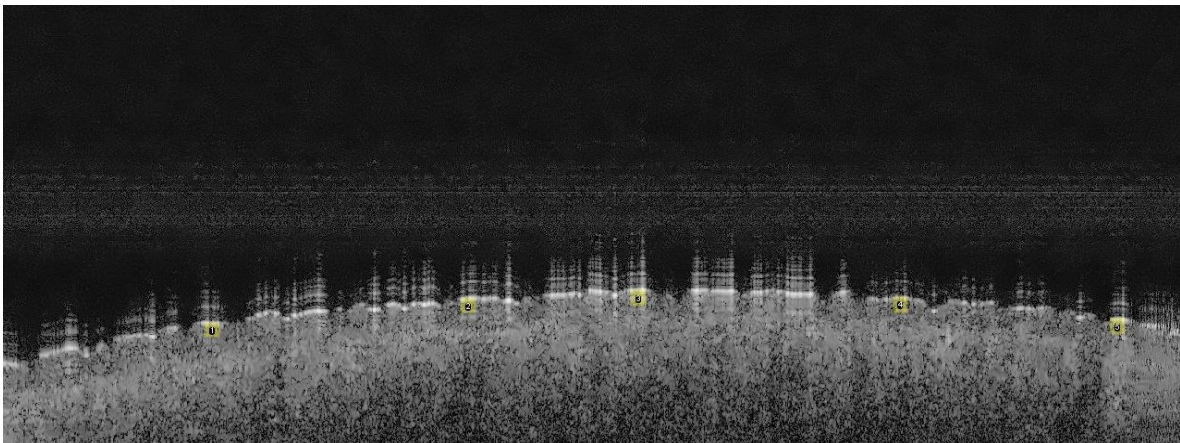
Εικόνα Π'21



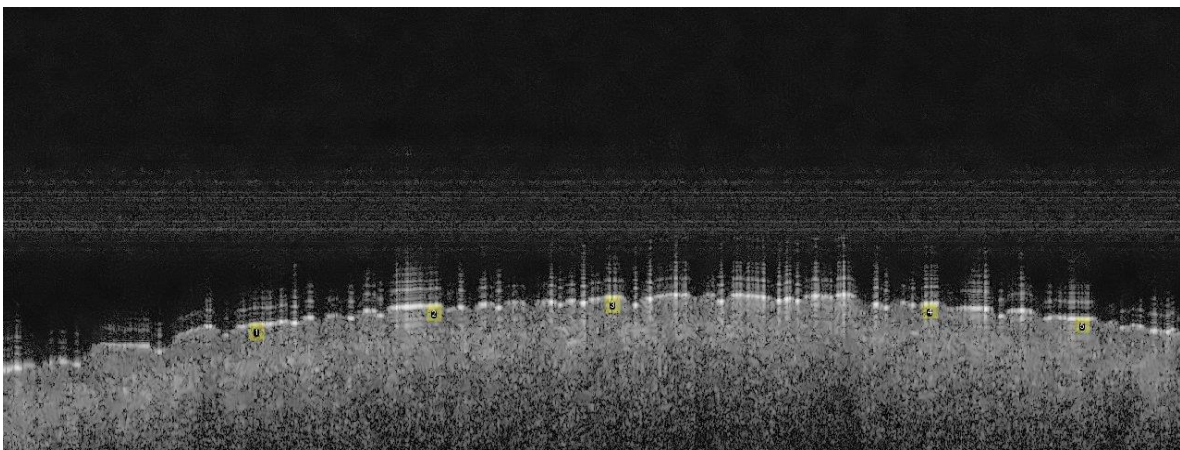
Εικόνα Π'22



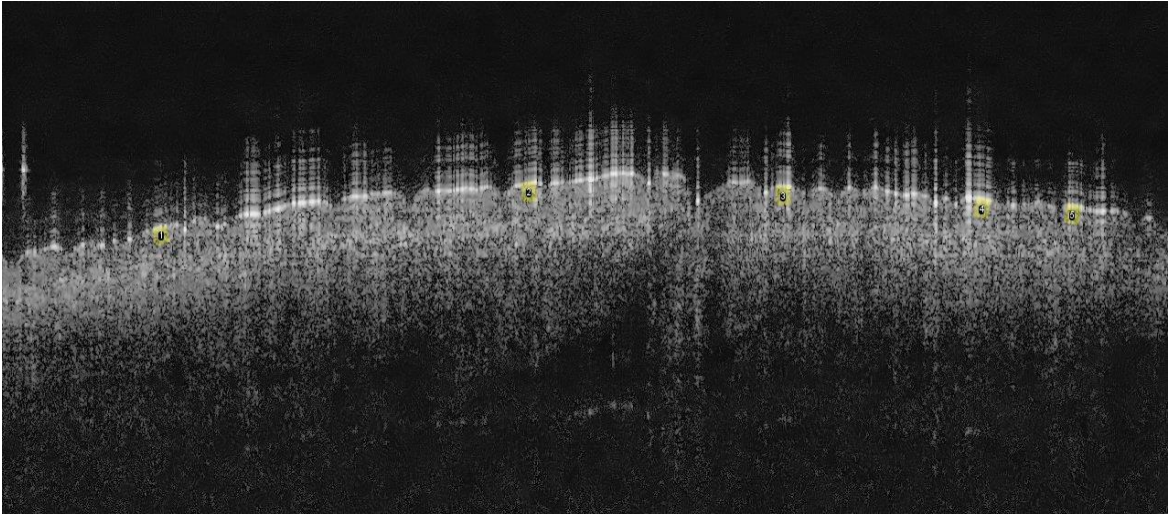
Εικόνα Π'23



Εικόνα Π'24



Εικόνα Π'25



Εικόνα Π'26

