

استفاده از طیف حاصل از اسپکتروفتومتری در ارزیابی و طبقه‌بندی رنگ پوست

خلاصه

طبقه‌بندی و شناسایی رنگ پوست افراد در بسیاری از کاربردهای تشخیصی و درمانی، هم‌چنین تعیین skin type لازم و ضروری است. در این تحقیق، روشی برای تعیین ویژگی‌های کمی مرتبط با رنگدانه‌های پوستی، ملانین و هموگلوبین از روی طیف‌های اندازه‌گیری شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ارائه شده است. در مرحله بعد ویژگی‌های استخراج شده با استفاده از سه طبقه‌بندی کننده مختلف، طبقه‌بندی کننده‌های نزدیکترین همسایگی، شبکه‌های عصبی و SVM، برای تفکیک رنگ پوست تیره از پوست روشن طبقه‌بندی شدند. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که ویژگی‌های در نظر گرفته شده قادر به جداسازی و طبقه‌بندی این دو گروه از هم هستند.

واژه‌های کلیدی: اسپکتروفتومتری، نوع پوست، رنگدانه‌های پوست، طبقه‌بندی

فاطمه نوش آبادی^۱

محمدحسین میران بیگی^۲

عزالدین مهاجرانی^۳

پروین منصوری^۴

^۱دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه تربیت مدرس

^۲دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه تربیت مدرس

^۳پژوهشکده لیزر، دانشگاه شهید بهشتی

^۴پژوهشکده پوست، دانشگاه علوم پزشکی تهران

نویسنده مسئول: فاطمه نوش آبادی، تلفن: ۰۹۱۲۲۷۴۵۵۰
پست الکترونیک: fatemeh.n@gmail.com

مقدمه

رنگ پوست انسان از مهم‌ترین تفاوت‌های ظاهری انسان‌ها در بین نژادهای مختلف می‌باشد و توجه بسیاری از محققان را در سال‌های اخیر به خود جلب کرده است. این ویژگی به عنوان اولین ویژگی برای طبقه‌بندی نژادهای مختلف و به عنوان یک ویژگی اصلی در بسیاری از سیستم‌های طبقه‌بندی نژاد استفاده می‌شود [۱].

آگاهی از میزان تجمع رنگدانه‌های پوستی در پوست افراد می‌تواند در تشخیص میزان خطر ابتلا به سرطان‌های پوستی به پزشکان و متخصصان پوست کمک شایانی کند. به عنوان نمونه خطر ابتلا به سرطان ملانوما^۱ از روی میزان پرتو دهی خورشید و خصوصیات مشهود پوست مانند رنگ پوست تعیین می‌شود. مشاهدات، نشان می‌دهند که میزان ابتلا به ملانوما در بین گروه‌های مختلف نژادی متفاوت می‌باشد به طوریکه خطر ابتلا به این بیماری در بین سفیدپوستان بیشتر از سیاه‌پوستان آفریقایی است. این مسئله نقش رنگ پوست را در میزان خطر ابتلا به سرطان‌های پوستی بیشتر روشن می‌سازد. همچنین در بین سفیدپوستان هم میزان ابتلا به ملانوما و سایر تومورهای پوستی، متناسب با ویژگی‌های پوست، متفاوت است [۲]. اگرچه این ویژگی‌ها از لحاظ بالینی برای پزشک قابل مشاهده است اما اندازه‌گیری کمی میزان تجمع رنگدانه‌ها در پوست کار بسیار دشواری است.

به طور معمول رنگ پوست افراد یا فتوتایپ^۲ پوست به طور شهودی و توسط افراد آموزش دیده یا متخصصان پوست با بررسی میزان سوختگی یا میزان برنزه شدن پوست افراد در برابر تابش نور فرابنفش انجام می‌شود. علاوه بر تهاجمی بودن این روش، از آنجا که نتیجه به دست آمده به فرد آزمایشگر وابسته است این روش همواره با خطا همراه است. از این رو نیاز به روشی غیرتهاجمی و دقیق به منظور تعیین و تمایز رنگ پوست در بین افراد مختلف احساس می‌شود [۳]. در این تحقیق روشی جدید و کمی مبتنی بر تکنیک اسپکتروفتومتری به منظور تعیین و طبقه‌بندی رنگ پوست ارائه شده است.

در سال ۱۹۳۹ محققان دریافته‌اند که اختلاف در رنگ پوست انسان‌ها عمدتاً ناشی از حضور چهار رنگدانه اصلی به نام‌های ملانین، هموگلوبین، کاروتین و بیلیروبین است [۴]. هم‌چنین در سال ۱۹۵۷ نشان داده شد که در بین نمونه‌های مربوط به یک نژاد، تأثیر رنگدانه‌های کاروتین و بیلیروبین در میزان پراکندگی نور از سطح پوست افراد و در نتیجه رنگ پوست افراد قابل صرف‌نظر است. از این رو تغییر در رنگ پوست افراد یک نژاد را می‌توان به طور عمده ناشی از تغییر در میزان غلظت دو رنگدانه هموگلوبین و مخصوصاً ملانین در بین آنها دانست [۵].

از اوایل دهه ۱۹۲۰، روش‌های مختلفی به منظور ارزیابی میزان رنگدانه‌های پوست و تغییرات آنها در افراد مختلف استفاده شده

^۲. photo type

^۱. melanoma

رنگدانه‌های موجود در لایه های اپی درمیس و درمیس بستگی دارد. بهینه کردن بسیاری از این روش‌های درمانی نیازمند داشتن اطلاعات کمی از کسری از نور تابشی که به رنگدانه های مورد نظر می رسد، توانایی جذب نور توسط این رنگدانه ها و پاسخ های بیولوژیکی کوتاه مدت یا بلند مدت بافت مورد نظر به تابش می‌باشد [۱۱].

پوست انسان یک ساختار چند لایه و ناهمگن است. در یک تخمین اولیه می توان پوست را یک ساختار چند لایه در نظر گرفت که لایه های مختلف آن می توانند از لحاظ عملکرد و چگالی رگ‌های خونی از هم تمیز داده شوند [۱۲] اما به طور کلی می توان پوست انسان را به دو ناحیه مهم تقسیم کرد: اپی درمیس و درمیس. درمیس به لایه زیرین هیپودرمیس متصل شده است [۱۳]. هنگامی که یک اشعه نورانی به سطح پوست می رسد، کسر کوچکی از نور تابشی (حدود ۴-۶٪) به دلیل اختلاف ضریب شکست بین هوا و سطح پوست (قشر شاخی) از سطح بافت منعکس می شود. بخش عمده‌ای از نور تابشی وارد لایه اول پوست شده و تا زمانی که توسط رنگدانه‌های پوست میرا شود یا از سطح دیگر پوست خارج شود، به مسیر غیر مستقیم خود ادامه می دهد [۱۴]. مهم ترین رنگدانه‌های پوستی ملانین، اکسی هموگلوبین و داکسی هموگلوبین هستند. طیف جذبی این رنگدانه ها در شکل شماره ۱ نشان داده شده است. همانطور که در شکل مشخص است، طیف جذبی اکسی هموگلوبین دارای یک ماکزیمم در طول موج ۴۱۲ nm و دو ماکزیمم در طول موج های ۵۴۲ nm و ۵۷۷ nm است. ضریب جذب اکسی هموگلوبین در ناحیه قرمز طیف ($> 600 \text{ nm}$) به شدت کاهش پیدا می کند. طیف جذبی داکسی هموگلوبین هم دارای دو ماکزیمم در طول موج های ۴۳۰ nm و ۵۵۵ nm است [۱۴]. ماکزیمم های محلی در طیف جذبی هموگلوبین، ناحیه طول موجی مناسب (nm ۵۸۰-۵۴۰) را برای اندازه گیری کمی میزان این رنگدانه در پوست فراهم می کنند. طیف جذبی ملانین در ناحیه مرئی به طور یکنواخت با افزایش طول موج کاهش می یابد. اگرچه ملانین هم مانند اکسی هموگلوبین و داکسی هموگلوبین، جذب کمی در ناحیه قرمز طیف مرئی دارد، اما در این ناحیه میزان جذب آن از سایر رنگدانه های پوست بیشتر است [۱۶].

اندازه گیری به روش اسپکتروفتومتری

تعیین غلظت مواد و ترکیبات شیمیایی از مهمترین مباحث در بسیاری از علوم از جمله پزشکی و مهندسی و شاخه های مختلف آنها می باشد. به دست آوردن غلظت به روش های مختلفی انجام می شود. در برخی از روش ها از تابش نور و اثری که بر روی ماده مزبور می گذارد، جهت محاسبه غلظت استفاده می شود. این اثر ممکن است جذب یا بازتابش، عبور و یا انتشار باشد. در بسیاری دیگر از روش ها میزان غلظت مواد با انجام آزمایشات و واکنش های شیمیایی و یا از

است. در این میان استفاده از روش هایی که از طریق اندازه گیری میزان تضعیف شدت نور تابشی تابیده شده به سطح پوست، قادر به اندازه گیری کمی رنگدانه های پوستی می باشند، اهمیت ویژه ای یافته اند. یکی از مهم ترین این روش ها بر اندازه گیری طیف انعکاسی به دست آمده از سطح پوست به روش اسپکتروفتومتری استوار است [۱۶]. امروزه از اسپکتروفتومتری به عنوان روشی متداول به منظور اندازه گیری میزان انعکاس نور از سطح پوست در محدوده وسیعی از طول موج استفاده می شود. هم چنین این روش در ارزیابی نوع پوست و رنگ آن کاربرد فراوان دارد و در سال های اخیر مطالعات گسترده ای بر روی این روش اندازه گیری انجام شده است. به عنوان مثال در سال ۲۰۰۴، از یک اسپکتروفتومتر انعکاسی به منظور ارزیابی و اندازه گیری رنگ پوست نوزادان کره ای براساس محل اندازه گیری، طول دوران جنینی، وزن نوزاد در هنگام تولد و فصل تولد نوزاد استفاده شد [۱۷]. هم چنین در سال ۲۰۰۷ گروهی از محققان از اسپکتروفتومتری انعکاسی به منظور بررسی تغییرات فصلی رنگ پوست بر روی افراد یک جمعیت استفاده کردند [۱۸]. در سال ۲۰۰۸ به منظور تعیین نوع پوست از طیف های انعکاسی به دست آمده توسط یک اسپکتروفتومتر استفاده شد و نتایج به دست آمده با نتایج به دست آمده براساس معیار فیتزپاتریک^۳ مقایسه شدند و نشان داده شد که می توان از این روش به منظور کمک به متخصصان پوست در تشخیص دقیق تر نوع پوست استفاده کرد [۱۳].

در این تحقیق، پس از مروری بر چگونگی برهم کنش نور با بافت پوست انسان و اصول اولیه اسپکتروفتومتری، روشی کمی و دقیق جهت شناسایی خواص اپتیکی پوست و طبقه بندی رنگ پوست با استفاده از داده های اندازه گیری شده توسط یک اسپکتروفتومتر انعکاسی ارائه شده است.

تئوری

برهم کنش نور با پوست انسان

آشنایی با برهم کنش نور با پوست انسان در بسیاری از زمینه ها از جمله کاربردهای کلینیکی، علوم آزمایشگاهی و دارویی حائز اهمیت است. مطالعه فرآیند انتقال نور، جذب و انتشار آن در بافت پوست انسان در تشخیص و درمان بسیاری از بیماری های پوستی با استفاده از تجهیزات اپتیکی مانند لیزر از اهمیت بسیاری برخوردار است [۱۹]. در تمامی این روش های تشخیصی و درمانی، پوست انسان به عنوان بخش درگیر در واکنش های فتوبیولوژیک شناخته می شود. از این رو خواص اپتیکی پوست بیشترین و مهم ترین تأثیر را در پاسخ ایجاد شده در اثر این واکنش ها دارد [۱۰]. درمان بسیاری از بیماری های پوستی به میزان جذب فوتون های نور تابشی به پوست توسط

^۳. Fitzpatrick

مواد و روش ها

نمونه های تحت مطالعه

به منظور ارزیابی رنگ پوست در این تحقیق، در مجموع ۴۰ زن و مرد در محدوده سنی ۲۵ تا ۳۵ سال مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از اطمینان از کالیبراسیون دستگاه، اندازه گیری ها از ۴ ناحیه مختلف از پوست افراد در شرایط یکسان آزمایشگاهی انجام شد. تمامی آزمایشات در آزمایشگاه فتونیک مواد آلی و پلیمرها واقع در پژوهشگاه لیزر دانشگاه شهید بهشتی تهران انجام شد.

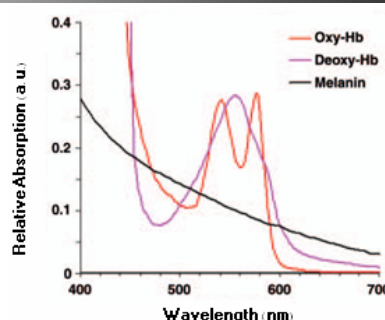
معرفی چیدمان آزمایشگاهی جهت اندازه گیری طیف انعکاسی پوست

۳-۲-۱ / اسپکتروفتومتر USB 2000+

در این تحقیق از یک اسپکتروفتومتر انعکاسی قابل حمل (مدل USB2000+، Ocean Optics Inc.) متصل به یک کامپیوتر شخصی برای اندازه گیری طیف انعکاسی از سطح پوست و اندازه گیری تغییرات غلظت در رنگ پوست های مختلف استفاده شده است. این اسپکتروفتومتر، قابلیت اندازه گیری طیف نور انعکاس یافته از سطح پوست را دارد. رزولوشن طیفی این دستگاه ۰/۳۵ nm است و از سرعت بسیار بالایی برخوردار است. محدوده آشکارسازی این اسپکتروفتومتر ۱۱۰۰-۲۰۰ nm است. این وسیله به کاربر امکان اندازه گیری و ذخیره یک طیف کامل را در هر میلی ثانیه می دهد. این دستگاه در کاربردهای شیمیایی و بیوشیمیایی به منظور مانیتور کردن واکنش های با سرعت بالا و مشخصه سازی طیف های اندازه گیری شده از بافت های بیولوژیکی کاربرد فراوان دارد [۱۷].

همانطور که در شکل شماره ۲ مشاهده گردید، نور خروجی از منبع توسط یک رابط به پروب انعکاسی دستگاه متصل می شود. پروب انعکاسی دستگاه شامل ۶ فیبر نوری است که نور را از منبع به نمونه مورد نظر می رسانند. پس از برهم کنش نور با بافت مورد نظر، نور منعکس شده از سطح بافت توسط یک فیبر نوری که در مد دریافت قرار دارد جمع آوری شده و به اسپکتروفتومتر هدایت می شود. قبل از جمع آوری اطلاعات طیفی از نمونه مورد نظر توسط اسپکتروفتومتر، سیستم با استفاده از طیف انعکاسی به دست آمده از یک مرجع استاندارد نرمالیزه می شود [۱۸].

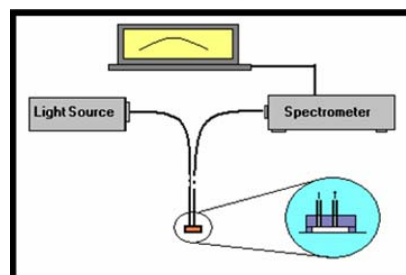
در تمام اندازه گیری ها از یک منبع نور تنگستن- هالوژن به منظور تولید نور در ناحیه مرئی (۴۵۰-۷۰۰ nm) استفاده شد. همچنین از طیف انعکاسی یک سرامیک سفید رنگ به عنوان طیف استاندارد استفاده شد. میزان انعکاس از سطح این سرامیک در تمام طول موج ها ۱۰۰٪ در نظر گرفته شد. پس از تنظیم طیف انعکاسی مرجع در هر اندازه گیری، پروب فیبر نوری در تماس با سطح پوست ناحیه مورد نظر قرار گرفت و طیف انعکاسی از آن ناحیه با رزولوشن مورد نظر و زمان اکتساب ۱ ثانیه توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد.



شکل ۱- طیف جذبی رنگدانه های اصلی پوست: اکسی هموگلوبین، داکسی هموگلوبین و ملانین [۶]

روش های پیچیده تر مانند تشدید مغناطیسی به طور مستقیم محاسبه می شود. در حال حاضر روش های موسوم به فتومتری که بر اساس اندازه گیری طیف جذبی ماده بنا نهاده شده اند، به دلیل تنوع، دقت و سادگی از کلیه روش های ذکر شده بیشتر مورد استفاده قرار می گیرند اسپکتروفتومتری یکی از روش های مبتنی بر فتومتری می باشد که در آن طیف جذبی یا انعکاسی مواد در بازه ای از طول موج، اندازه گیری می شود. اسپکتروفتومتری بر این واقعیت استوار است که مواد به کار رفته در کاربردهای بالینی و درمانی، انرژی الکترومغناطیسی را در طول موج های مختلف جذب می کنند یا از خود عبور می دهند [۱۵].

امروزه دقیق ترین روش برای اندازه گیری غلظت رنگدانه های پوستی، در نظر گرفتن طیف جذبی آنها و چگونگی شرکت آنها در طیف جذبی پوست است. برای این منظور از یک اسپکتروفتومتر انعکاسی استفاده می شود. در این روش، نور تابشی پس از برخورد به سطح پوست، توسط فیبر نوری جمع آوری شده و سپس توسط اسپکتروفتومتر، تحلیل و بررسی می شود. بلوک دیاگرام یک سیستم اسپکتروفتومتر انعکاسی در شکل شماره ۲ آورده شده است. همانطور که در شکل مشخص است طیف انعکاسی در محدوده طول موج مرئی با استفاده از یک کلاف دو شاخه ای منحصرفرد جمع آوری می شود. یکی از بازوهای این کلاف به منبع نوری متصل است که انرژی لازم جهت آنالیز نمونه را فراهم می کند. بازوی دیگر، نور منعکس شده را جمع آوری کرده و به سمت اسپکتروفتومتر هدایت می کند. این فیبرها در یک انتها به هم پیوسته اند و در تماس با ناحیه پوستی تحت مطالعه قرار داده می شوند [۱۶].



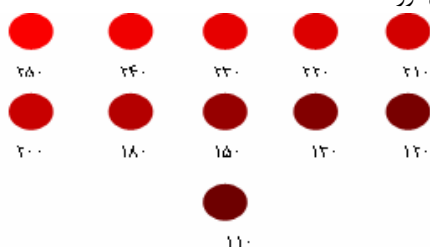
شکل ۲- بلوک دیاگرام یک سیستم اسپکتروفتومتر انعکاسی

هرچه میزان عددی که این دستگاه نشان می‌دهد بزرگتر باشد، میزان ملانین موجود در نمونه مورد مطالعه بیشتر و در نتیجه رنگ پوست تیره‌تر خواهد بود [۱۹].

اندازه‌گیری‌ها

۳-۱- تست کالیبراسیون دستگاه:

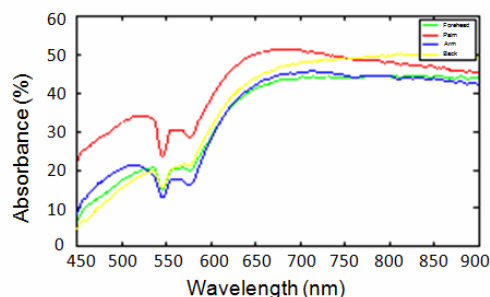
در مرحله اول از آزمایشات، ابتدا به منظور بررسی صحت دستگاه، طیف انعکاسی حاصل از رنگ قرمز با شدت‌های مختلف توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. نمونه‌های رنگ قرمز با شدت‌های متفاوت توسط نرم‌افزار word ایجاد شدند. این نمونه‌های رنگی در شکل شماره ۵ آورده شده‌اند. نتایج حاصل از اندازه‌گیری طیف انعکاسی این نمونه‌های رنگی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر موجود در بخش نتایج آورده شده است.



شکل ۵- نمونه های رنگ قرمز با شدت‌های متفاوت به منظور کالیبراسیون

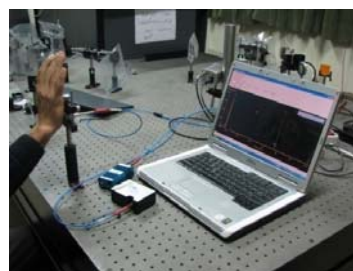
۳-۲- اندازه‌گیری از پوست سالم افراد:

پس از اطمینان از کالیبراسیون دستگاه، به منظور مطالعه و ارزیابی ویژگی‌های اپتیکی پوست انسان به خصوص طبقه بندی و مقایسه رنگ پوست افراد مختلف، طیف انعکاسی از ۴ ناحیه مختلف از پوست بدن افراد شامل پیشانی، ناحیه داخلی ساعد، کف دست و پشت دست در شرایط یکسان آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد. همانطور که اشاره شد به منظور کاهش اثرات نویز محیط از هر ناحیه، ۳ بار اندازه‌گیری انجام شد. نمونه‌ای از طیف های انعکاسی اندازه‌گیری شده از پوست سالم یک زن ۲۵ ساله در نواحی مختلف از بدن او در شکل شماره ۶ نشان داده شده است.



شکل ۶- طیف انعکاسی اندازه‌گیری شده توسط اسپکتروفتومتر USB2000+ از یک نمونه زن ۲۵ ساله

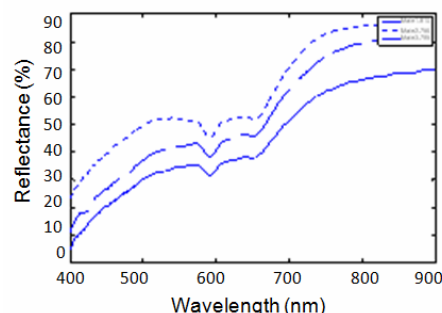
اندازه‌گیری‌های اولیه نشان دادند که تغییر زاویه فیبر نوری با سطح مورد نظر و هم چنین تغییر وضعیت فیبر نوری در طول فیبر، دامنه طیف‌های اندازه‌گیری شده را تغییر می‌دهد و این مسئله باعث عدم تکرار پذیری آزمایشات انجام شده می‌شود. از این رو به منظور اطمینان از تکرارپذیری اندازه‌گیری‌ها در دفعات مختلف اندازه‌گیری، مطابق شکل شماره ۳، از یک چیدمان آزمایشگاهی برای ثابت نگه داشتن زاویه فیبر نوری با سطح موردنظر و هم‌چنین ثابت نگه داشتن وضعیت فیبر در طول آزمایش استفاده شد. با استفاده از این چیدمان، زاویه فیبر نوری با سطح مورد آزمایش همواره در اندازه ۹۰ درجه ثابت نگه داشته شد. همچنین به منظور کاهش اثرات نویز محیطی بر روی طیف‌های اندازه‌گیری شده، از هر ناحیه ۳ بار عمل طیف‌گیری انجام شد و میانگین طیف‌های حاصل به عنوان طیف انعکاسی اندازه‌گیری شده از ناحیه موردنظر در نظر گرفته شد [۱۳]. نمونه‌ای از طیف انعکاسی اندازه‌گیری شده از ناحیه پیشانی در شکل شماره ۴ آورده شده است.



شکل ۳- چیدمان آزمایشگاهی مورد استفاده جهت ثابت نگه داشتن زاویه فیبر نوری

۳-۲- کروموتست:

به منظور داشتن معیاری شهودی در کنار اندازه‌گیری‌های کمی به دست آمده توسط اسپکتروفتومتر، از یک دستگاه کروموتست استفاده شد. کروموتست دستگاهی است که به منظور تعیین پارامترهای مورد نیاز برای برخی از تجهیزات مورد استفاده در کاربردهای درمانی پوست استفاده می‌شود. عددی که این دستگاه نشان می‌دهد بیانگر میزان تیرگی رنگ نمونه موردنظر و در مورد پوست، بیانگر میزان ملانین در نمونه پوستی تحت مطالعه است.



شکل ۴- ۳ نمونه از طیف های انعکاسی اندازه‌گیری شده از ناحیه پیشانی توسط اسپکتروفتومتر

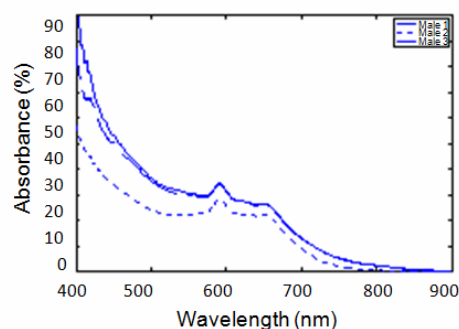
پردازش طیف های اندازه گیری شده:

تمامی طیف های اندازه گیری شده با استفاده از نرم افزار ORIGIN پردازش شدند. عملیات پردازشی در مرحله اول شامل میانگین گیری بر روی طیف های اندازه گیری شده از یک ناحیه از پوست سالم بود. همانطور که اشاره شد به منظور افزایش نسبت سیگنال به نویز، از هر منطقه ۵ بار اندازه گیری انجام شد و میانگین این طیف های اندازه گیری شده به عنوان طیف موردنظر در ارزیابی های بعدی مورد استفاده قرار گرفت.

همانطور که اشاره شد، اساس اسپکتروفتومتری بر پایه میزان جذب مواد در طول موج های مختلف استوار است و تغییر در میزان غلظت مواد، باعث تغییر در میزان جذب آنها می شود. از این رو در مرحله بعد به منظور ارزیابی میزان رنگدانه های مختلف در نمونه های تحت مطالعه و استخراج ویژگی های جذبی رنگدانه های مورد نظر، طیف های انعکاسی اندازه گیری شده با استفاده از رابطه زیر به طیف های جذبی متناظر تبدیل شدند [۲۰].

$$A(\lambda) = -\log_{10}[(R(\lambda))] \quad (1)$$

در معادله ۱، A میزان جذب و R میزان انعکاس می باشد. از آنجا که طیف جذبی به دست آمده به روش بالا از روی طیف انعکاسی به دست آمده است، طیف جذبی به دست آمده را طیف جذبی ظاهری می نامیم. برای اندازه گیری طیف جذبی دقیق باید میزان عبور نور تابشی به صورت *in vitro* اندازه گیری شود [۶]. در شکل شماره ۷ طیف جذبی متناظر با طیف های انعکاسی نشان داده شده در شکل شماره ۴ نشان داده شده است.



شکل ۷- طیف های جذبی متناظر با طیف های انعکاسی اندازه گیری شده در شکل ۴

تکنیک های استخراج ویژگی:

به منظور ارزیابی رنگدانه های پوست و تأثیر آنها بر روی رنگ پوست از روی طیف های جذبی به دست آمده از رابطه ۱، باید ویژگی های جذبی هر یک از آنها به طور مجزا در طول موج هایی که بیشترین جذب رنگدانه در آن طول موج اتفاق می افتد، در نظر گرفته شود. از آنجا که طیف های استخراج شده به صورت آرایه ای از نقاط بر

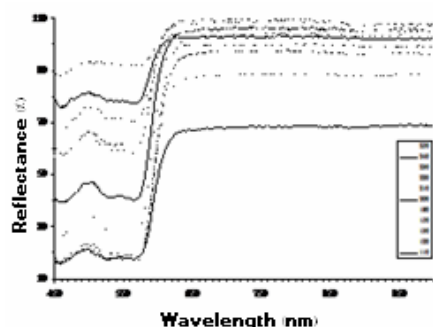
حسب طول موج های مختلف می باشند که نشان دهنده میزان جذب کلی پوست با در نظر گرفتن تأثیر تمامی رنگدانه ها در آن طول موج می باشند، تعبیر و تبدیل طیف های به دست آمده به صورت حاصل جمع پیک های مختلف ضروری به نظر می رسد. این پیک ها می توانند متعلق به مؤلفه های اصلی طیف و یا متعلق به مؤلفه های غیر اصلی طیف مانند ناخالصی ها، آرتیفکت ها و یا نویز محیط باشند. همانطور که اشاره شد با توجه به اینکه تغییر در رنگ پوست افراد را می توان عمدتاً ناشی از حضور دو رنگدانه ملانین و هموگلوبین و تغییر غلظت آنها در افراد مختلف دانست، از این رو از بین این پیک ها تنها پیک های ناشی از جذب این دو رنگدانه برای کاربرد موردنظر در این تحقیق مطلوب هستند. به طور کلی مناسب ترین راه به منظور دستیابی به اهداف فوق برای طیف هایی که شامل پیک های مختلف هستند، دکانولوشن کردن طیف ها است. از این رو در این تحقیق به منظور استخراج ویژگی های مربوط به رنگدانه های ملانین و هموگلوبین از روی طیف های جذبی محاسبه شده، از قابلیت انطباق توابع لورنتزین موجود در نرم افزار ORIGIN استفاده شد. این نرم افزار به منظور تحلیل و آنالیز داده های گرافیکی و نمودارهای مهندسی، طراحی شده است [۲۱]. همانطور که در شکل شماره ۸ قابل مشاهده است، بر هر یک از طیف های به دست آمده، منحنی های لورنتز مطابق معادله (۲) با پیک هایی منطبق بر پیک های موجود در طیف اصلی منطبق شدند به طوری که طیف به دست آمده ناشی از جمع آثار این ریزطیف ها بر طیف اندازه گیری شده اولیه منطبق است.

$$y = y_0 + \frac{2A}{\pi} \times \frac{w}{4(x - x_0)^2 + w^2} \quad (2)$$

که در رابطه بالا y_0 میزان آفت، A مساحت زیر منحنی، x_0 مرکز پیک و w عرض کامل پیک در نصف ارتفاع پیک است. با توجه به اینکه بیشترین جذب هموگلوبین در طول موج های ۵۴۶ nm، ۵۶۰ nm و ۵۷۵ nm اتفاق می افتد، مساحت پیک ها در این سه طول موج و همچنین ارتفاع آنها به عنوان ویژگی های مربوط به رنگدانه هموگلوبین در طیف جذبی به دست آمده از پوست سالم در نظر گرفته شدند و در ارزیابی های بعدی به عنوان معیارهایی از میزان حضور رنگدانه هموگلوبین در پوست مورد استفاده قرار گرفتند.

همچنین با توجه به اینکه طیف جذبی ملانین در ناحیه مرئی با افزایش طول موج کاهش می یابد و فاقد پیک جذبی در این ناحیه است، از مساحت زیر منحنی جذبی در کل بازه طول موجی مورد مطالعه به منظور شاخص حضور رنگدانه ملانین استفاده شد. این مساحت با استفاده از قانون دوزنقه ای و طبق رابطه ۳ محاسبه شد [۲۲]:

$$A = \sum 0.5 * [(nm_x + n - nm_n) * (I_n + I_{n+x})] \quad (3)$$



شکل ۹- طیف‌های انعکاسی اندازه‌گیری شده توسط اسپکتروفتومتر از نمونه‌های رنگی قرمز جهت کالیبراسیون دستگاه

با توجه به طیف‌های به دست آمده در شکل شماره ۹، همانطور که انتظار می‌رفت از طول موج حدود ۵۷۵ nm به بالا که محدوده طول موجی مربوط به رنگ قرمز در ناحیه مرئی است، دامنه طیف انعکاسی رنگ قرمز افزایش چشمگیری داشته است. همچنین همانطور که در شکل مشخص است، با افزایش درجه تیرگی رنگ قرمز، دامنه طیف انعکاسی اندازه‌گیری شده، کاهش یافته است.

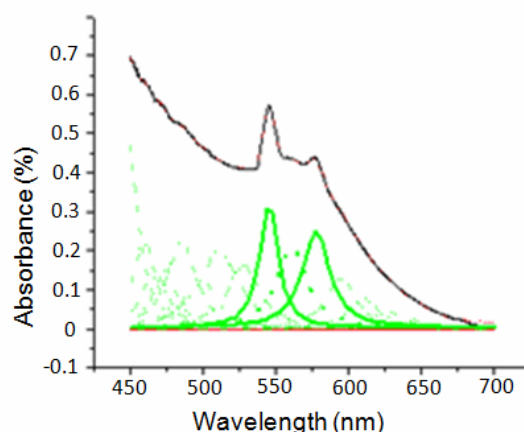
۴-۲- نتایج کلی حاصل از اندازه‌گیری طیف انعکاسی پوست:

همانطور که از شکل شماره ۴ مشخص است، تمامی طیف‌های انعکاسی اندازه‌گیری شده به این روش، مستقل از رنگ پوست افراد، از الگوی مشابه W مانند پیروی می‌کنند که این الگو ناشی از حضور رنگدانه‌های پوستی مخصوصاً ملانین و هموگلوبین است. به طوری که فرو رفتگی‌ها و برآمدگی‌ها در این الگوی W مانند در همان طول موج‌هایی اتفاق می‌افتد که جذب هموگلوبین در آنها بیشترین است. با استفاده از آنالیز آماری روی محل و موقعیت این مینیمم و ماکزیمم‌ها می‌توان این الگوی W مانند را تعریف کرد. در این آنالیز میانه و میانگین و همچنین انحراف معیار متناظر برای طول موج‌هایی که در آنها این الگو بیشتر اتفاق می‌افتد محاسبه شده است. در جدول شماره ۱ این مقادیر خلاصه شده‌اند.

جدول ۱- میانه، میانگین و انحراف معیار طول موج‌های مربوط به نقاط مینیمم و ماکزیمم در طیف انعکاسی پوست سالم

ویژگی	موقعیت میانگین λ	موقعیت میانه λ	انحراف معیار
مینیمم چپ	۵۴۶/۵۶	۵۴۶/۴۲	۲/۵۴
ماکزیمم محلی	۵۵۹/۷۲	۵۵۹/۴۸	۰/۹۵
مینیمم راست	۵۷۵/۴۵	۵۷۶/۲۶	۲/۳۴

در رابطه ۳، A میزان جذب، I شدت نور تابشی یا جذبی، n طول موج اولیه و x طول موج بعدی به فاصله طول موجی ۰/۳۵ nm است. پس از استخراج ویژگی‌های موردنظر از طیف‌های اندازه‌گیری شده که مربوط به ویژگی‌های مهمترین رنگدانه‌های مؤثر در رنگ پوست هستند، به منظور ارزیابی ویژگی‌های استخراج شده و بررسی توانایی آنها در تمایز بین رنگ پوست‌های افراد مختلف از سه طبقه بندی کننده متداول نزدیکترین همسایگی، شبکه‌های عصبی و SVM استفاده شد. برای این منظور براساس اعداد خوانده شده توسط دستگاه کروموتست، افراد مورد مطالعه به دو دسته افراد با پوست روشن‌تر و افراد با پوست تیره‌تر طبقه بندی شدند. سپس نتایج حاصل از طبقه‌بندی کننده‌های مختلف بر اساس ویژگی‌های استخراج شده با نتایج حاصل از طبقه‌بندی بر اساس اعداد قرائت شده توسط کروموتست در ۴ ناحیه مختلف مورد مطالعه مقایسه شدند که نتایج به دست آمده در بخش بعد آورده شده است. به منظور ارزیابی نتایج طبقه بندی کننده‌ها از روش LOO^4 استفاده شده است.



شکل ۸- طیف جذبی پوست انسان. منحنی‌های نقطه چین نتایج حاصل از Lorentzian fit توسط نرم افزار ORIGIN هستند.

نتایج و بحث

۴-۱- نتایج حاصل از کالیبراسیون دستگاه:

همانطور که اشاره شد قبل از انجام آزمایشات بر روی رنگ پوست افراد با استفاده از اسپکتروفتومتر، به منظور اطمینان از کالیبراسیون دستگاه، طیف انعکاسی حاصل از نمونه‌های رنگ قرمز با شدت‌های متفاوت اندازه‌گیری شد. طیف انعکاسی این نمونه‌های رنگی قرمز که با استفاده از نرم افزار Word ایجاد شده‌اند، در شکل شماره ۹ نشان داده شده است.

⁴. Leave One Out

۴-۴ - نتایج حاصل از طبقه بندی در ناحیه داخلی ساعد:

به منظور ارزیابی و مطالعه رنگ پوست ناحیه ای از پوست که کمتر در مقابل تابش نور خورشید قرار دارد، اندازه گیری ها از ناحیه داخلی ساعد انجام شد. اندازه گیری ها همانند آنچه در مورد ناحیه پیشانی توضیح داده شد انجام گرفت. نتایج حاصل از طبقه بندی به سه روش در جدول شماره ۳ آمده است.

جدول ۳- نتایج حاصل از طبقه بندی کننده ها برای طبقه بندی رنگ پوست در ناحیه داخلی ساعد

	Accuracy	Sensitivity for White Skin	Specificity for White Skin
KNN Classifier	%۸۹	%۸۷	%۹۳
Neural Network Classifier	%۸۹	%۹۷	%۸۰
SVM Classifier	%۹۷	%۱۰۰	%۹۳

۴-۵ - نتایج حاصل از طبقه بندی در ناحیه کف دست:

در این تحقیق طیف های به دست آمده از ناحیه کف دست به عنوان یکی دیگر از نواحی که بیشتر در معرض نور خورشید قرار دارد مطابق آنچه در بخش های قبل توضیح داده شد، مورد بررسی و طبقه بندی قرار گرفتند. نتایج حاصل از طبقه بندی کننده های مختلف در جدول شماره ۴ آمده است.

جدول ۴- نتایج حاصل از طبقه بندی کننده ها برای طبقه بندی رنگ پوست در ناحیه کف دست

	Accuracy	Sensitivity for White Skin	Specificity for White Skin
KNN Classifier	%۹۵	%۹۱	%۱۰۰
Neural Network Classifier	%۹۷	%۹۶	%۱۰۰
SVM Classifier	%۹۲	%۹۱	%۹۳

۴-۶ - نتایج حاصل از طبقه بندی در ناحیه پشت دست:

مشابه اندازه گیری های قبلی، این بار اندازه گیری از ناحیه پشت دست افراد تحت مطالعه انجام شد و ویژگی های استخراج شده مانند قبل با استفاده از سه طبقه بندی کننده متفاوت، طبقه بندی شدند. نتایج به دست آمده در جدول شماره ۵ آمده است.

با توجه به جدول شماره ۱ و همانطور که در شکل های شماره ۴ و ۶ هم قابل مشاهده است، در سه طول موج در حوالی ۵۴۶ nm، ۵۶۰ nm و ۵۷۵ nm طیف انعکاسی پوست سالم دارای تغییرات بارزی است و از همین خصوصیت برای استخراج ویژگی های مورد نظر از طیف های اندازه گیری شده استفاده شده است.

همانطور که اشاره شد، انعکاس پوست در طول موج های مختلف عمدتاً توسط رنگدانه های موجود در لایه های مختلف پوست ایجاد می شود. با توجه به شکل شماره ۱، هموگلوبین موجود در رگ های خونی عامل اصلی ایجاد الگوی W مانند در طیف انعکاسی پوست است. جذب نور توسط هموگلوبین در طول موج های ۵۴۵ nm و ۵۷۵ nm باعث کاهش چشمگیر میزان انعکاس در طول موج های پایین تر از ۶۰۰ nm و ایجاد این الگوی W مانند می شود. همچنین در طول موج های بالاتر نیز به دلیل جذب زیاد نور توسط آب موجود در بافت پوست، دامنه طیف انعکاسی رفته رفته کاهش می یابد [۸].

از طرفی همانطور که در شکل شماره ۴ دیده می شود، با تیره تر شدن رنگ پوست و افزایش ملانین، دامنه طیف انعکاسی کاهش می یابد. از این ویژگی های به دست آمده می توان برای طبقه بندی رنگ پوست به دو گروه روشن و تیره و تفکیک آنها براساس تغییرات غلظت رنگدانه های پوست استفاده کرد.

۴-۳ - نتایج حاصل از طبقه بندی در ناحیه پیشانی:

این ناحیه به عنوان ناحیه ای از بدن که بیشتر در معرض تابش نور خورشید قرار دارد مورد توجه است. اندازه گیری بر روی ۴۰ نمونه تحت مطالعه در شرایط یکسان آزمایشگاهی همانطور که توضیح داده شد، انجام شد و ویژگی های مورد نظر از طیف های مورد مطالعه استخراج شدند. در کنار اندازه گیری طیف های انعکاسی ناحیه پیشانی، میزان ملانین در همان ناحیه هم توسط کروموتست اندازه گیری شد. براساس اعداد قرائت شده توسط دستگاه کروموتست نمونه ها به دو گروه نمونه های با رنگ پوست روشن و نمونه های با رنگ پوست تیره تقسیم شدند. به منظور ارزیابی توانایی ویژگی های استخراج شده در تمایز بین این دو گروه، از سه طبقه بندی کننده متداول استفاده شد که نتایج حاصل از آنها در جدول شماره ۲ آمده است:

جدول ۲- نتایج حاصل از طبقه بندی کننده ها برای طبقه بندی رنگ پوست در ناحیه پیشانی

	Accuracy	Sensitivity for White Skin	Specificity for White Skin
KNN Classifier	%۸۹	%۹۲	%۸۸
Neural Network Classifier	%۹۲	%۹۲	%۹۲
SVM Classifier	%۹۲	%۹۲	%۹۲

جدول ۵- نتایج حاصل از طبقه‌بندی کننده‌ها برای طبقه‌بندی رنگ

پوست در ناحیه پشت دست

	Accuracy	Sensitivity for White Skin	Specificity for White Skin
KNN Classifier	٪۹۷	٪۹۳	٪۱۰۰
Neural Network Classifier	٪۹۷	٪۹۳	٪۱۰۰
SVM Classifier	٪۱۰۰	٪۱۰۰	٪۱۰۰

نتیجه‌گیری

همانطور که اشاره شد به منظور ارزیابی رنگ پوست و نقش رنگدانه‌های پوست در آن، طیف انعکاسی توسط یک اسپکتروفتومتر انعکاسی از نواحی مختلف از پوست سالم ۴۰ فرد مختلف در شرایط یکسان آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌های به دست آمده نشان دادند که طیف انعکاسی پوست انسان برای تمام نمونه‌ها از الگوی یکسانی پیروی می‌کند که این الگو ناشی از حضور رنگدانه‌های پوستی به خصوص ملانین و هموگلوبین است. این الگو ویژه فقط در طیف‌های به دست آمده از پوست انسان قابل مشاهده است. همچنین همانطور که در شکل ۴-۸ مشخص است با تیره تر شدن رنگ پوست افراد دامنه طیف انعکاسی آنها کاهش می‌یابد. با توجه به اینکه در تعیین رنگ پوست انسان هر دو رنگدانه ملانین و هموگلوبین نقش به سزایی دارند، از ویژگی‌های طیفی آنها به منظور طبقه‌بندی رنگ پوست افراد تحت مطالعه به دو گروه پوست روشن و پوست تیره استفاده شد. مقایسه نتایج به دست آمده توسط سه طبقه‌بندی کننده متداول معرفی شده، با نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان تیرگی پوست با استفاده از دستگاه کروموتست نشان می‌دهد که ویژگی‌های در نظر گرفته شده با دقت بالایی قادر به طبقه‌بندی رنگ پوست افراد می‌باشند. خطاهای مشاهده شده در طبقه‌بندی نمونه‌ها می‌تواند ناشی از عوامل متعددی باشد. مهم‌ترین عامل خطا در این روش پیوستگی رنگ پوست افراد است. به طوریکه نمی‌توان مرز دقیقی برای تفکیک رنگ پوست روشن از تیره در نظر گرفت. از این رو احتمال اینکه طبقه‌بندی کننده‌های مورد استفاده نمونه‌هایی که رنگ پوست آنها در مرز دو گروه موردنظر است را اشتباه طبقه‌بندی کنند بسیار زیاد است. از طرفی دقت دستگاه کروموتست هم می‌تواند عامل ایجاد کننده خطا برای طبقه‌بندی صحیح برخی از نمونه‌ها باشد. با این حال با بررسی نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که

روش پیشنهاد شده قادر به ارزیابی و طبقه‌بندی رنگ پوست در نواحی مختلف بدن و در بین افراد مختلف است. در این پروژه به دلیل وجود محدودیت در انتخاب نژادهای متنوع برای افراد تحت مطالعه، تمام نمونه‌های مورد بررسی دارای نژاد یکسان بودند و از این رو تفاوت چندانی بین محتوای ملانین و هموگلوبین نمونه‌های تحت مطالعه وجود نداشت. با این حال ویژگی‌های استخراج شده قادر به طبقه‌بندی رنگ پوست آنها با دقت قابل قبولی هستند. از این رو به نظر می‌رسد می‌توان از این روش برای ارزیابی و غربالگری ویژگی‌های اپتیکی و رنگ پوست در بین افراد نژادهای گوناگون به منظور ارزیابی میزان خطر ابتلا به سرطان‌های پوستی استفاده کرد. تشخیص و طبقه‌بندی رنگ پوست در بین افراد و نژادهای مختلف یکی از مباحث مهم در علوم مختلف می‌باشد. توانایی تفکیک رنگ پوست و بررسی تغییرات غلظت رنگدانه‌های مختلف پوستی با استفاده از معیارها و اندازه‌گیری‌های کمی می‌تواند در کاربردهایی مانند screening و تشخیص skin type مفید باشد. در این روش با استفاده از یک اسپکتروفتومتر انعکاسی، طیف انعکاسی از پوست سالم افراد در ناحیه پیشانی در شرایط یکسان آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد. سپس به منظور بررسی تغییرات غلظت رنگدانه‌ها در رنگ پوست‌های مختلف، طیف جذبی ظاهری از روی طیف‌های اندازه‌گیری شده محاسبه شد و پس از پردازش‌های لازم بر روی طیف‌های محاسبه شده، ویژگی‌های طیفی مربوط به رنگدانه‌های ملانین و هموگلوبین از طیف‌های مربوطه استخراج شدند. سپس با استفاده از طبقه‌بندی کننده‌های نزدیکترین همسایگی و شبکه‌های عصبی، ویژگی‌های استخراج شده جهت طبقه‌بندی و تفکیک رنگ پوست در دو گروه پوست روشن و پوست تیره طبقه‌بندی شدند. در تمام اندازه‌گیری‌ها از یک دستگاه کروموتست به عنوان مرجعی برای تخمین رنگ پوست استفاده شد. نتایج حاصل از طبقه‌بندی به هر دو روش نشان می‌دهد که ویژگی‌های استخراج شده از طیف‌های محاسبه شده قادر به تفکیک و طبقه‌بندی رنگ پوست در دو گروه تیره و روشن می‌باشد. با افزایش تعداد و تنوع نمونه‌ها در بین افراد با skin type‌های متفاوت می‌توان از این روش برای اندازه‌گیری کمی skin type استفاده کرد. خطاهای به دست آمده از طبقه‌بندی کننده‌ها را می‌توان با افزایش دقت اندازه‌گیری‌های انجام شده توسط کروموتست و اسپکتروفتومتر و همچنین افزایش تعداد نمونه‌ها کاهش داد.

منابع

1. Kalla A.K. Human Skin Colour, Its Genetics, Variation and Adaptation: A Review. *Anthropologist Special* 2007; 3: 209-14.
2. Dwyer T, Konrad Muller H, Blizzard L, Ashbolt R. The Use of Spectrophotometry to Estimate Melanin Density in Caucasians. *Cancer Epidemiology* 1998; 7: 203-6.
3. Pershing K, Tirumala V. P, Nelson J. L, Corlett J. L, Lin A. G, Meyer L. J, Leachman S. A. Reflectance Spectrophotometer: The Dermatologist's Sphygmomanometer for Skin Phototyping?. *Journal of Investigative Dermatology*, January 2008.
4. Edwards E. A, Duntley S. O. The Pigments and Color of Living Human Skin. *Amer. J Anat* 1939; 65: 1-33.
5. Harrison G. A, Owen J. J. T. The Application of Spectrophotometry to the Study of Skin Color Inheritance. *Acta Genet* 1957; 6: 481-5.
6. Stamatas G. N, Zmudzka B. Z, Kollias N. Non-Invasive Measurements of Skin Pigmentation In Situ. *Pigment Cell Res* 2004; 17: 618-26.
7. Park J. H, Lee M. H. A Study of Skin Color by Melanin Index according to Site, Gestational Age, Birth Weight and Season of Birth in Korean Neonates. *The Korean Academy of Medical Sciences* 2005; 20: 105-8.
8. Stringer M. R, Cruse-Sawyer J. E. Seasonal Skin color changes in a sample teenage population measured by reflection Spectrophotometry. *Journal of IOP Physics education* 2007; 42(6): 585-891.
9. Krishnaswamy A, Baranoski G. V. G. A Study on Skin Optics. Technical Report CS- 2004-01, January 2004.
10. Rox Anderson R, John A. Parrish. The Optics of Human Skin. *The Journal of Investigative Dermatology* 1981; 77(1): 13-9.
11. Van Gemert M. J. C, Jacques S. L, Sterenborg H. J. C. M, Star W. M. Skin Optics. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 1989; 36(12): 114-54.
12. Hulsbusch M, Holscher D, Blazek V. Spectral Monte-Carlo Simulations of Photon Penetration in Biotissue in Visible and Near Infrared. *Progress in Electromagnetics Research Symposium, Prague, Czech Republic, August 2007.*
13. Angelopoulou E. Understanding the Color of Human Skin. *Proceedings of the SPIE Conference on Human Vision and Electronic Imaging VI (SPIE)* 2001; 4299: 243-51.
14. Stamatas G. N, Kollias N. Blood stasis contributions to the perception of skin pigmentation. *J Biomed Opt* 2003; 9: 315-22.
15. Webster John G. *Medical Instrumentation; Application and Design*. 2nd edition 1995.
16. Wallace V. P, Crawford D. C, Mortimer P. S. Spectrophotometric assessment of pigmented skin lesions: methods and feature selection for evaluation of diagnostic performance. *Phys. Med. Biol* 2000; 45: 735-51.
17. www.oceanoptics.com/Products/usb2000+.asp
18. Kumar S. A, Bhadri P. R, Beyette F. R, Clarck J. F, Wurster W. Non-Invasive Biomedical System for the Quantification of Bilirubin in Neonates. *Circuits and Systems, 48th Midwest Symposium on Volume, Issue* 2005; 2: 1778-81.
19. www.euphotonics.com
20. Stamatas G. N, Zmudzka B. Z, Kollias N. Non-Invasive Measurements of Skin Pigmentation In Situ. *Pigment Cell Res* 2004; 17: 618-26.
21. Karu T. I, Afanasyeva N. I, Kolyakov S. F, Pyatibrat L. V, Welser L. Changes in Absorbance of Monolayer of Living Cells Induced by Laser Radiation at 633, 670, and 820 nm. *IEEE Journal on selected topics in quantum electronics* 2001; 7(6): 982-8.
22. Pershing L. K, Tirumala V. P, Nelson J. L. Reflectance Spectrophotometer: The Dermatologists' Sphygmomanometer for Skin Phototyping. *Journal of investigative Dermatology*, 2008.