

مطالعه طیف پوست انسان جهت تعیین تأثیر رنگدانه‌ها در طیف

سعید علیخانی^۱عزالدين مهاجرانی^۲محسن عرفان‌زاده^۱

خلاصه

مقدمه: آگاهی از میزان تجمع رنگدانه‌ها در ضایعات پوستی به تشخیص درست بیماری کمک می‌کند. همچنین در روش‌هایی که از نور برای درمان ضایعات استفاده می‌شود برای کنترل روند درمان مفید است. اسپکتروسکوپی ابزار لازم را برای بررسی کمی پوست فراهم آورده است. محدوده طولی موجی وسیع، سرعت و سهولت استفاده از مزایای این روش هستند. ولی به دلیل اینکه طیف جذبی رنگدانه‌ها از هم جدا نیستند و روی هم افتادگی دارند، تفکیک شدت هر رنگدانه در طیف شلوغ پوست نیاز به روشی علمی دارد.

روش بررسی: در این مطالعه طیف انعکاسی ۵ نقطه مختلف از پوست ۱۰ نفر داوطلب گرفته شده و طیف حاصل تجزیه و تحلیل شده است. داوطلبان در محدوده سنی ۲۸-۴۴ سال و از هر دو جنسیت انتخاب شده‌اند. با استفاده از نرم‌افزار و روش برازش گاوسی، طیف به دست آمده براساس زیرپیک‌های رنگدانه‌های موجود در پوست برازش می‌شود و شدت هر زیرپیک به دست می‌آید. برای تأیید صحت کار، دو مقایسه انجام شده است. در مقایسه اول که صحت کار تجربی را نشان می‌دهد، طیف نواحی مختلف پوست اشخاص مورد ارزیابی قرار گرفته است. ملاک این ارزیابی سرخی و مقدار خون موجود در این قسمت از پوست بوده است. در مقایسه دوم صحت برازش، مورد بررسی قرار گرفته است. برای این منظور نسبت دی‌اکسی‌هموگلوبین به اکسی‌هموگلوبین طیف لب افراد با هم مقایسه شده است. این نسبت به نوعی تعیین‌کننده تیرگی لب افراد است. شدت زیرپیک مربوط به این رنگدانه‌ها برای دو نفر که یکی لب تیره و دیگری لب روشن دارد استخراج و با هم مقایسه شده است.

یافته‌ها و نتیجه‌گیری: در این مطالعه سعی شد تا روشی برای کمی کردن اثر رنگدانه‌ها در طیف ارائه شود. این کار براساس برازش طیف جذبی نواحی مختلف پوست براساس پیک جذبی رنگدانه‌ها انجام شد. مقدار بالای ضریب همبستگی طیف تجربی و نمودار حاصل از برازش دقت خوب کار را نشان می‌دهد. برای تأیید صحت کار تجربی از آزمون مقایسه سرخی نواحی مختلف پوست استفاده شد و برای تأیید صحت برازش از تیرگی لب به عنوان شاخص استفاده گردید. هر دوی این آزمون‌ها صحت کار را تأیید می‌کنند. با این روش می‌توان تغییر میزان رنگدانه‌ها در یک ناحیه از پوست را که به علت مشکل و یا بیماری به وجود آمده است، به صورت کمی بیان نمود و به تشخیص درست بیماری کمک کرد.

واژه‌های کلیدی: طیف‌سنجی پوست، رنگدانه‌های پوست، برازش، تحلیل طیف

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد فوتونیک، پژوهشکده لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی
^۲ دانشیار فیزیک، پژوهشکده لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی

نویسنده مسئول: عزالدين مهاجرانی، تلفن ۰۲۱-۲۹۹۰۴۰۳
 پست الکترونیک: e-mohajerani@sbu.ac.ir

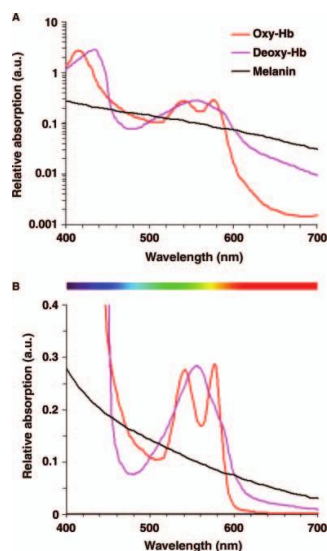
مقدمه

در تشخیص امراض پوستی و تحقیقات کلینیکی، چشم انسان ابزاری قدرتمند و دقیق برای تشخیص ضایعات پوستی است. با این وجود، معاینات چشمی یک تجربه شخصی است و در بهترین حالت نیمه کمی و غیر خطی است [۱]. علی‌رغم توانایی چشم انسان در تمایز بین رنگ‌ها ما بدون دستگاه اندازه‌گیری قادر به کمی کردن ادراک خود از رنگ نیستیم.

قرار گرفتن پوست در معرض نور فرابنفش هم دارای فواید و هم مضراتی است. ضرر و زیان آن نسبت به سودمندی استفاده از این طول‌موج‌ها بستگی به رنگ و نوع پوست دارد و از طرفی تغییر در رنگدانه‌های پوستی که در معرض نور فرابنفش قرار گرفته است میزان تأثیر نور را مشخص می‌کند [۲]. در هر دوی این موارد، تعیین رنگ و نوع پوست و اندازه‌گیری تغییر در میزان رنگدانه‌ها، به یک روش کمی نیاز است.

[۹، ۱۰ و ۱۵]. در سال ۱۹۳۹، Edwards و همکاران نشان دادند که چهار رنگدانه ملانین، هموگلوبین، کاروتین و بیلیروبین تعیین‌کننده رنگ پوست هستند [۱۱]. البته تأثیر بیلیروبین و کاروتین در مقابل تأثیر ملانین و هموگلوبین قابل صرف‌نظر کردن است [۱۲].

شکل ۱ نشان‌دهنده طیف جذبی ملانین، اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین است. پیک جذبی ملانین در ۳۳۵ نانومتر است و دنباله آن تا ۷۰۰ نانومتر هم می‌رسد و در کل ناحیه مرئی دارای جذب قابل توجه است [۱۳]. طیف جذبی اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین تفاوت اندکی با هم دارد. پیک اصلی جذب Oxy-Hb در ۴۱۲ نانومتر است و دارای دو پیک کوچک‌تر در ۵۴۲ نانومتر و ۵۷۷ نانومتر می‌باشد. ضریب جذب Oxy-Hb در طول‌موج‌های بزرگ‌تر از شدت به‌سرعت کاهش می‌یابد. Deoxy-Hb دارای پیک جذبی شدید در ۴۳۰ نانومتر و پیک ضعیف‌تر در ۵۵۵ نانومتر است. Deoxy-Hb نیز در طول‌موج‌های بلندتر از ۶۰۰ نانومتر دارای جذب قابل صرف‌نظر است ولی سرعت کاهش ضریب جذب آن در این ناحیه کمتر از Oxy-Hb است. ضریب جذب Deoxy-Hb در اکثر نواحی طول‌موجی بیشتر از Oxy-Hb است و همین دلیل تیره‌تر بودن آن است [۱۴].



شکل ۱: طیف جذبی رنگدانه‌های مهم پوست در ناحیه مرئی. ملانین، اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین. محور عرضی نمودار A لگاریتمی است [۲].

در اینجا طیف جذبی پوست از طول‌موج ۳۵۰ تا ۱۱۰۰ نانومتر به شیوه اسپکتروفوتومتری بررسی شده است. اسپکتروفوتومتری روشی است که با آن می‌توان ویژگی‌های جذب نور در مواد را به

تعدادی روش دستگاهی از سال ۱۹۲۹ برای ارزیابی رنگدانه‌های پوست استفاده شده است [۴ و ۳]. این روش‌ها با این فرض کار می‌کنند که می‌توان رنگ‌پوست را براساس ضریب تضعیف نور منعکس‌شده از پوست کمی کرد [۳]. یعنی؛ وقتی که پوست دارای ملانین بیشتری است، مقدار کمتری از نور را منعکس می‌کند و بالعکس. این کار به دو شیوه انجام می‌شود: در شیوه اول فقط تضعیف در چند باند طول‌موجی در نظر گرفته می‌شود که از دستگاه‌های متداول عکسبرداری مانند دوربین دیجیتال استفاده می‌شود و در شیوه دوم محاسبه تضعیف در یک محدوده طول‌موجی به‌وسیله آنالیز نور فرستاده شده به داخل اسپکترومتر و کمی کردن میزان تجمع رنگدانه‌های ملانین و هموگلوبین انجام می‌شود.

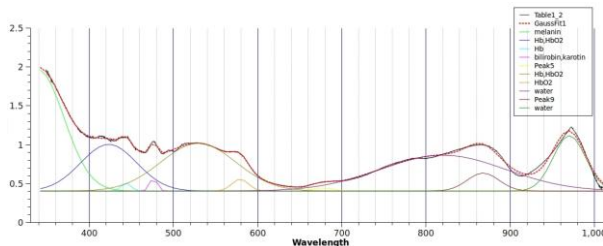
قبل از پرداختن به جزئیات روش اندازه‌گیری، مرور برهمکنش نور با پوست ضروری به‌نظر می‌رسد.

پوست انسان از لحاظ نوری، محیطی بسیار پراکننده است به این معنی که نور پس از ورود به محیط پوست حرکت مستقیم انجام نمی‌دهد بلکه توسط اجزای میکرومتری مانند میکروارگانل‌ها، لیبیداها و کلاژن به دفعات زیاد پراکنده می‌شود [۵]. در محیط‌های پراکننده ضریب پراکندگی پوست بسیار بیشتر از ضریب جذب می‌باشد. به‌عنوان مثال در ناحیه درمیس با ضخامت ۲۰۰ میکرومتر برای طول موج ۶۳۳ نانومتر ضریب جذب برابر 2.7 cm^{-1} و ضریب پراکندگی برابر 187 cm^{-1} محاسبه شده است [۶]. پس از ورود نور به محیط پوست بخشی از آن از محیط عبور می‌کند، بخشی از آن به‌صورت پخش‌شده از نمونه بازتاب می‌شود و بخشی از آن توسط بخش‌های جذب‌کننده نور جذب می‌شوند [۷]. پارامتر اپتیکی دیگری که توصیف‌کننده رفتار نور در محیط بافت است، ضریب ناهمسانگردی است. اگر این ضریب برابر ۱ باشد به این معنی است که نور کاملاً به سمت جلو پراکنده شده است. اگر برابر ۰- باشد به این معنی است که نور کاملاً به سمت عقب پراکنده شده است و اگر برابر صفر باشد به معنی همسانگردی محیط است [۸]. برای پوست این مقدار معمولاً عددی بین ۰/۷ و ۰/۹ می‌باشد یعنی؛ نور بیشتر به سمت جلو پراکنده می‌شود. برای مثال ضریب ناهمسانگردی درمیس در طول موج ۶۳۳ نانومتر ۰/۸۲ محاسبه شده است [۶].

همان‌طور که گفته شد قسمتی از نور در محیط پوست جذب می‌شود. جذب نور به‌وسیله رنگدانه‌های موجود در پوست صورت می‌پذیرد. ما نگاه خود را معطوف به رنگدانه‌هایی می‌کنیم که در ناحیه مرئی جاذب نور هستند. ملانین، هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین از رنگدانه‌های مهم در این ناحیه هستند

پیک‌های مختلف است که به دلیل تفاوت در غلظت رنگ‌دانه مربوطه در نواحی مختلف است.

برای گرفتن طیف از منبع نوری با طیف گسترده استفاده شده است. نور منبع توسط فیبر نوری به پوست تابیده می‌شود، نور وارد پوست می‌گردد و پخش می‌گردد. نوری که به سمت عقب پراکنده می‌شود و از پوست خارج می‌گردد توسط فیبر دیگری جمع می‌شود و به سمت اسپکترومتر می‌رود. در اسپکترومتر شدت نور بر حسب طول موج استخراج می‌شود و اطلاعات به‌دست‌آمده در رایانه به‌صورت طیف نشان داده می‌شود. شکل ۲ نمونه‌ای از طیف گرفته شده را نشان می‌دهد.



شکل ۲: نمونه‌ای از طیف برازش شده بر اساس پیک رنگ‌دانه‌ها. شکل هر زیر پیک گاوسی است و ارتفاع آن نشان‌دهنده مقدار نسبی آن است. خط سیاه طیف گرفته شده را نشان می‌دهد و خط چین قرمز روی آن نمایانگر نمودار برازش شده است. مجذور ضریب همبستگی در این برازش ۰/۹۹۲ است.

برای تحلیل طیف گرفته‌شده، طیف را براساس پیک جذبی رنگ‌دانه‌ها برازش می‌کنیم. ۱۲ پیک که مربوط به ملانین، آب، اکسی و دی‌اکسی‌هموگلوبین، کاروتین و بیلی‌روبین است، ملاک برازش طیف قرار می‌دهیم و شکل هر زیرپیک را گاوسی درنظر می‌گیریم. برازش توسط نرم‌افزار QtiPlot انجام شده است. QtiPlot یک نرم‌افزار آزاد است که برای رسم، برازش و تحلیل داده گسترش یافته است. یکی از قابلیت‌های این نرم‌افزار برازش داده‌ها براساس منحنی‌های گاوسی و لورنتسی با چند پیک مختلف است. محل پیک‌ها مطابق با محل پیک جذبی رنگ‌دانه‌ها درنظر گرفته‌شده است. بدین‌صورت شدت هر زیرپیک گاوسی نشان دهنده مقدار نسبی آن رنگ‌دانه است. انتظار می‌رود که طیف نواحی مختلف به دلیل مقدار متفاوت رنگ‌دانه دارای زیرپیک‌هایی با شدت مختلف باشند یعنی؛ هرچه آن قسمت از پوست تیره‌تر باشد، مقدار حضور ملانین بیشتر و شدت پیک گاوسی آن زیادتر باشد و هرچه پوست سرخ‌تر باشد، پیک‌های مربوط به خون دارای شدت بیشتری باشند.

مجذور ضریب همبستگی نشان‌دهنده کیفیت برازش است. هرچه این مقدار به ۱ نزدیک‌تر باشد، نشان‌دهنده این است که

صورت کمی اندازه‌گیری نمود. در این روش آنالیز نتایج براساس مقایسه شدت نور انعکاسی (یا عبوری) از نمونه با نور تابشی مرجع برحسب طول موج انجام می‌شود. سیستم‌های انتقالی که در محدوده فرابنفش، مرئی و مادون قرمز عمل می‌کنند، اساس طیف‌سنجی مولکولی را تشکیل می‌دهند که البته در این مطالعه ترازهای ارتعاشی بیشترین نقش را دارند. نوع پیوند و همچنین مولکول‌هایی که پیوند را تشکیل می‌دهند تعیین‌کننده انرژی ارتعاشی هستند. آنچه که یک طیف را می‌سازد همین مقادیر انرژی است. در اسپکتروسکوپی نور مرجع به نمونه تابانده می‌شود این نور که شامل همه طول‌موج‌های بازه مورد نظر است، باعث ایجاد برانگیختگی و ارتعاش در مولکول می‌شود. باندهای ارتعاشی متناسب با انرژی پیوندشان اقدام به جذب نور در طول موج متناظر با انرژی پیوند می‌کنند. نور انعکاسی یا عبوری از نمونه فاقد این طول‌موج‌ها است یا شدت آن در این طول‌موج‌ها کم شده است که مقدار این افت شدت، نشان‌دهنده مقدار ماده جاذب در نمونه است. از آنجاکه در این روش از طول‌موج‌های با انرژی پایین و شدت کم استفاده می‌شود، این روش غیر تهاجمی است. از طرف دیگر چون این روش یک روش کمی از ارزیابی انرژی پیوندها است و نیازی به استفاده از چشم انسان نیست، به فرد آزمایشگر وابسته نمی‌باشد و نقش خطای انسانی در تشخیص رنگ حذف می‌شود.

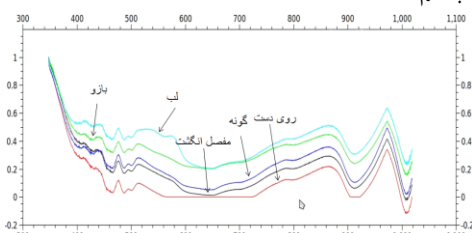
در این مطالعه طیف جذبی نور انعکاس‌یافته از پوست قسمت‌های مختلف بدن استخراج شده است و سپس براساس طیف جذبی ایدئال رنگ‌دانه‌ها که به‌صورت گاوسی درنظر گرفته شده‌اند، طیف به‌دست‌آمده برازش شده و میزان تجمع هریک از رنگ‌دانه‌ها در آن قسمت به‌صورت نسبی و از روی شدت زیرپیک مربوطه در طیف برازش‌شده به‌دست آمده است.

روش بررسی

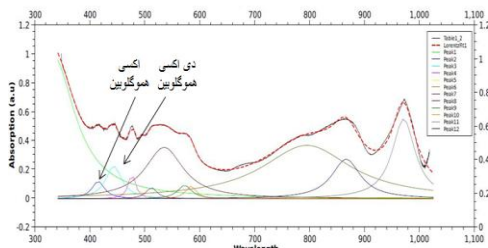
شیوه کار بدین‌گونه بوده است که طیف انعکاسی ۵ نقطه مختلف از پوست ۱۰ نفر داوطلب گرفته شده و طیف حاصل مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته است. داوطلبان در محدوده سنی ۲۸-۲۴ سال و از هر دو جنسیت انتخاب شده‌اند. طیف گرفته‌شده در ناحیه طول موجی ۳۵۰-۱۱۰۰ نانومتر قرار دارد که ناحیه فرابنفش، مرئی و فروسرخ نزدیک را دربرمی‌گیرد. طیف‌های گرفته‌شده از ۵ نقطه مختلف شامل روی دست، مفصل انگشت، بازو، گونه و لب بوده است. طیف حاصل در همه موارد به دلیل حضور رنگ‌دانه‌های یکسان دارای شکل یکسانی می‌باشد و تنها تفاوت آن‌ها شدت

آن باعث پایین و بالا رفتن کل طیف شده است. همان‌طور که در شکل هم مشخص است طبق انتظار، طیف گرفته‌شده از لب دارای بیشترین شدت و طیف روی دست کمترین شدت است.

در مقایسه دوم صحت برازش، مورد بررسی قرار گرفته است. برای این منظور نسبت دی‌اکسی‌هموگلوبین به اکسی‌هموگلوبین طیف لب افراد با هم مقایسه شده است. این نسبت به نوعی تعیین‌کننده تیرگی لب افراد است. شدت زیرپیک مربوط به این رنگ‌دانه‌ها برای دو نفر که یکی لب تیره و دیگری لب روشن دارد، استخراج و باهم مقایسه شده است. برای دو نفر که دوقلو هستند و رنگ لب تقریباً یکسانی دارند نیز این مقایسه انجام شده است. در دومورد اول برای شخصی که دارای رنگ لب تیره است، شدت نسبی اکسی‌هموگلوبین در طول موج ۴۱۵ نانومتر، 0.120 است و در طول موج ۴۴۳ نانومتر که نمایانگر غلظت دی‌اکسی‌هموگلوبین است، شدت نسبی برابر 0.225 است. در نتیجه، نسبت دی‌اکسی‌هموگلوبین به اکسی‌هموگلوبین برابر $1/187$ است. شکل ۴ طیف مربوط به این فرد را نشان می‌دهد که محل پیک‌های مورد بررسی در آن مشخص شده است. برای فردی که دارای رنگ لب روشن است این نسبت برابر $1/33$ است. این نسبت برای فردی که دارای رنگ لب تیره‌تر بود بیشتر به‌دست آمد که مطابق انتظار ما بود. در دومورد دوم که دوقلو و دارای رنگ لب تقریباً یکسان بودند، این نسبت، 0.17 و 0.188 به‌دست آمد که دو مقدار نزدیک به هم هستند.



شکل ۳: مقایسه طیف‌های گرفته‌شده از نواحی مختلف پوست. هرچه میزان خون در آن ناحیه بیشتر و در نتیجه پوست سرخ‌تر بوده، طیف آن ناحیه در بالاتر قرار گرفته‌است.



شکل ۴: طیف گرفته‌شده از لب شخصی که دارای رنگ لب تیره می‌باشد. محل پیک‌های اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین با پیکان نشان داده شده‌است. نسبت دی‌اکسی‌هموگلوبین به اکسی‌هموگلوبین تعیین‌کننده تیرگی لب افراد است.

طیف گرفته‌شده و طیف برازش‌شده که جمع زیرپیک‌های گاوسی شکل است با دقت بیشتری برهم منطبق هستند.

یافته‌ها

همان‌طور که در قسمت قبل گفته شد، شدت هر زیرپیک متناسب با غلظت رنگ‌دانه مربوطه است. در اینجا، غلظت هر رنگ‌دانه در نواحی مختلف پوست بررسی شده و همچنین برای هر قسمت از پوست این مقایسه بین افراد مختلف انجام گرفته است. نمی‌توان گفت که نسبت غلظت رنگ‌دانه‌های مختلف برای یک ناحیه در بین افراد مختلف یکسان است. واضح است که در یک فرد هم غلظت رنگ‌دانه‌ها در نواحی مختلف پوست متفاوت است. ولی این تفاوت در نسبت به حدی زیاد نیست که شکل کل طیف را تحت تأثیر قرار دهد.

پس از برازش طیف براساس ۱۲ نمودار گاوسی که هر کدام نماینده یک پیک جذبی رنگ‌دانه هستند، نموداری مطابق شکل ۲ به‌دست می‌آید. خط پیوسته سیاه حاصل اندازه‌گیری است و نمودار خط‌چین قرمز که آن را پوشانده است حاصل جمع نمودارهای گاوسی است که شکلی معادل شکل طیف تجربی را ساخته است. ضریب همبستگی دو نمودار تجربی و برازش‌شده بسیار خوب و مقدار آن برای شکل ۲، 0.992 است که نشان‌دهنده انطباق خوب این دو نمودار است. انطباق خوب این دو نمودار بدین معنی است که به شدت هر زیرپیک می‌توان اعتماد کرد و آن را نشان‌دهنده میزان حضور رنگ‌دانه مربوطه در نظر گرفت. مقدار بالای ضریب همبستگی دقت کار را تأیید می‌کند.

برای تأیید صحت کار دو مقایسه انجام شده است. در مقایسه اول که صحت کار تجربی را نشان می‌دهد، طیف نواحی مختلف پوست اشخاص مورد ارزیابی قرار گرفته است. ملاک این ارزیابی سرخی و مقدار خونی است که در این قسمت از پوست وجود دارد. انتظار می‌رود که در طیف لب که بیشترین مقدار خون را دارد، شدت پیک‌های مربوط به اکسی‌هموگلوبین و دی‌اکسی‌هموگلوبین بیشتر باشد و به ترتیب هرچه از سرخی پوست کاسته می‌شود از شدت این پیک‌ها نیز کم شود. آن قسمت از طیف که نشان‌دهنده پیک جذبی خون است، در محدوده ۴۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر قرار دارد. در شکل ۳ طیف گرفته‌شده از نواحی مختلف پوست یک فرد در کنار هم آمده است. با توجه به این که جذب بالای آب در ناحیه ۸۰۰ نانومتر به بالاتر، بررسی این ناحیه از طیف را مشکل کرده است و پیک آن جذب مربوط به سایر رنگ‌دانه‌ها را می‌پوشاند و مانند این مشکل را ملاتین در ناحیه ابتدایی طیف به‌وجود آورده است. عامل خون تعیین‌کننده اصلی تغییرات این طیف‌ها است، کمی و زیادی مقدار

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه سعی شد تا روشی برای کمی کردن اثر رنگدانه‌ها در طیف ارائه شود. این کار براساس برازش طیف جذبی نواحی مختلف پوست براساس پیک جذبی رنگدانه‌ها انجام شد. مقدار بالای ضریب همبستگی طیف تجربی و نمودار حاصل از برازش دقت خوب کار را نشان می‌دهد. برای تأیید صحت کار تجربی از آزمون مقایسه سرخی نواحی مختلف پوست استفاده شد و برای تأیید صحت برازش از تیرگی لب به عنوان شاخص استفاده گردید. هر دوی این آزمون‌ها صحت کار را تأیید می‌کنند.

با این روش می‌توان تغییر میزان رنگدانه‌ها در یک ناحیه از پوست را که به علت مشکل و یا بیماری به وجود آمده است، به صورت کمی بیان و به تشخیص درست بیماری کمک کرد. همچنین این روش برای مشاهده روند درمان در مراکزی که از لیزر و نور برای درمان بیماری‌های پوستی استفاده می‌کنند سودمند است. چون اسپکتروفوتومتری تعیین کننده تیرگی پوست و نوع پوست نیز هست، از این روش می‌توان برای انتخاب لیزر در مراکزی که از لیزر برای از بین بردن موهای زائد استفاده می‌کنند بهره جست.

References

1. Rosen CF, Jacques SL, Stuart ME, Gange RW. Immediate pigment darkening: visual and reflectance spectrophotometric analysis of action spectrum. *Photochem Photobiol* 1990; 51: 583–8.
2. Stamatas GN, Zmudzka BZ, Kollias N. Non-Invasive Measurements of Skin Pigmentation In Situ, *Pigment Cell Res* 2004; 17:618-26.
3. Brunsting LA, Sheard C. The color of the skin as analyzed by spectrophotometric methods: II. The role of pigmentation. *J Clin, Invest* 1929; 7: 559–74.
4. Edwards EA, Duntley SQ. The pigments and color of living human skin. *Am J Anatomy* 1939; 65: 1–33.
5. Tuchin VV. Selected Papers on Tissue Optics: Applications in Medical Diagnostics and Therapy, vol. MS102, SPIE Press, Bellingham, WA, 1994.
6. Tuchin VV. Lasers and Fiber Optics in Biomedical Science, Saratov Univ. Press, Saratov, 1998.
7. Niemz M. Laser-Tissue Interactions. 2nd edition, Springer: Berlin, 2007.
8. Mishchenko MI, Travis LD, Lacis AA. Scattering, Absorption, and Emission of Light by Small Particles, Cambridge Univ. Press, Cambridge, 2002.
9. Anderson RR, Parrish JA. The optics of human skin. *J Invest Dermatol* 1981; 77: 13–9.
10. Kollias N, Stamatas GN. Optical non-invasive approaches to diagnosis of skin diseases. *JID Symp Proc* 2002.
11. Edwards EA, Duntley SO. The pigments and color of living human skin. *J Anat* 1939; 65, 1-33.
12. Harrison GA, Owen JJT. The application of spectrophotometry to the study of skin color inheritance. *Acta Genet* 1957; 6: 481-5.
13. The spectroscopy of human melanin pigmentation, N. Kollias. In: *Melanin: Its Role in Human Photoprotection*. Valdenmar Publishing Co, 1995: 31-8.
14. Stamatas GN, Kollias N. Blood stasis contributions to the perception of skin pigmentation. *J Biomed Opt* 2003; 9: 315–22.
15. Nooshabadi F, Miran baygi MH, Mohajerani E, Mansoori P, The use of spectrophotometric for evaluation and classification of skin color, *Laser in medicine*, 2009; 6(2): 18-26.