

Difúzna reflexná spektrofotometria I. Spektrofotometer a technické prevedenie

Soršáková-Trnovská, K.¹, Keppert, M.², Hegyi, V.¹

¹ Detská dermatovenerologická klinika LFUK a DFNSP v Bratislave
prednosta kliniky doc. MUDr. T. Danilla, CSc.

² Ústav merania SAV v Bratislave
riaditeľ ústavu doc. ing. M. Tyšler, CSc.

Súhrn

Difúzna reflexná spektrofotometria I. Spektrofotometer a technické prevedenie

Difúzna reflexná spektrofotometria (DRS) patrí medzi neinvazívne vyšetrovacie metódy, ktoré sa v posledných rokoch čoraz častejšie dostávajú do centra záujmu. Nielen rýchly technický rozvoj a nutnosť objektivizácie realizovaných vyšetrení, ale aj zvýšené nároky pacientov kladené na zachovanie celistvosti ľudského tela prispeli k uprednostňovaniu prístrojových neinvazívnych vyšetrovacích metód v diagnostickom procese. Difúzna reflexná spektrofotometria je metóda založená na interakcii optického žiarenia s kožou. Pomocou spektrofotometra sa registruje a analyzuje odrazené (priame aj difúzne) svetlo z jednotlivých častí kože. Tento príspevok je zameraný na technické prevedenie spektrofotometra, zariadenia využívaného pri spektrofotometrii na meranie intenzity svetla v závislosti od vlnovej dĺžky. Podrobne sa analyzovali dostupné konštrukčné typy a jednotlivé súčasti zariadenia. Nami zostrojený spektrofotometer bol skonštruovaný s ohľadom na jednoduchosť konštrukcie a jednoduché nastavenie optických prvkov. Osobitná pozornosť sa venovala zdroju žiarenia, ktorý bol vybratý tak, aby pokryté spektrum bolo čo najširšie a vysielaný signál čo najrovnomernejší a zákazníkemu softvéru na zber dát vyvinutému špeciálne pre túto aplikáciu. Možnosti klinického využitia metódy sú všestranné. Prakticky najvýznamnejšie je jej použitie pri hodnotení erytémov a pigmentácií.

Kľúčové slová: difúzna reflexná spektrofotometria – difrakčná mriežka – spektrofotometer

Summary

Diffuse Reflectance Spectrophotometry I. Spectrophotometer and Its Engineering Solution

Diffuse reflectance spectrophotometry (DRS) is a non-invasive method recently gaining ground. The rapid technical development and need for objectification of realized examination and preservation of skin surface integrity favours non-invasive methods in the diagnostic process. Diffuse reflectance spectrophotometry is based on the interaction of optic radiation with the skin. Spectrophotometer registers and analyses the reflected (direct and diffuse) light from the particular skin structures. This report is focused on engineering solution of spectrophotometer, device used in spectrophotometry to measure light intensity in correlation with the wave-length. The available types and components of spectrophotometers were analysed. Our experimental spectrophotometer was developed with regard to construction's simplicity and easy setup of its technical components. Special attention was paid to selection of light-source and customers' software for data collection specially designated for this application. This method has a wide clinical use in dermatology especially in evaluation of erythematous skin diseases and pigmentation disorders.

Key words: diffuse reflectance spectrophotometry – diffraction grating – spectrophotometer

ÚVOD

Nové spôsoby neinvazívnych meraní sa v dermatológii vyvíjajú už od začiatku 20. storočia. Za zakladateľa spektrofotometrie sa považuje nemecký optik **Joseph von Fraunhofer**, ktorý v roku 1914–15 opísal tmavé spektrálne línie v slnečnom spektre. Napriek tomu sa difúzna reflexná spektrofotometria (DRS) používala len zriedka a za spoľahlivú a presnú metódu je považovaná len posledných 20 rokov. Posunutie DRS dopredu umožnil najmä rozvoj vláknovej optiky a optoelektroniky a samozrejme zdokonalenie výpočtovej techniky (18, 23). V súčasnosti sa DRS zaraďuje medzi neinvazívne vyšetrovacie metódy založené na optických vlastnostiach kože (6, 21). Registráciu odrazeného svetla z jednotlivých častí kože sa kvalitatívne aj kvantitatívne určuje počet **chromofórov** (molekúl schopných absorbovať optické žiarenie) v jednotlivých jej vrstvách. Princíp tejto metódy je založený na interakcii optického žiarenia s kožou (2, 3, 12, 15).

PRINCÍP METÓDY

Spektrofotometre pracujú v UV (ultra violet), viditeľnej (VIS) a NIR (near infrared) oblasti optického spektra. Pri mnohých klinických meraniach sa využíva spektrofotometer pracujúci vo viditeľnej časti optického spektra, pri vlnových dĺžkach od 400 do 700 nm. V rozmedzí týchto vlnových dĺžok svetelné žiarenie absorbuje hlavne oxyhemoglobín a redukovaný hemoglobín (uložený v cievnom systéme dermis) (17). Svetelné žiarenie vysielané zdrojom sa po vstupe do kožných štruktúr a rozptýlení absorbuje v epidermis alebo dermis v závislosti od vlnovej dĺžky a prítomnosti chromofórov. Po absorpcii žiarenia chromofórmi (melanín absorbuje UV žiarenie v epidermis, hemoglobín viditeľné svetlo v dermis) a prenose kožnými štruktúrami sa časť svetelného žiarenia späť odrazí a toto žiarenie sa zachytáva detektorom spektrofotometra a následne sa číselne vyhodnocuje. Svetelné žiarenie je aplikované na vyšetrovanú oblasť pod uhlom 90° alebo 45°. Odrazené žiarenie sa zachytáva v rozmedzí uhlov 90°–45° (15, 25). Meranie sa môže robiť kontaktným alebo bezkontaktným spôsobom.

Pred každým meraním je potrebné prístroj kalibrovať na tzv. absolútnu bielu, ktorá rovnomerne odráža svetlo pri všetkých sledovaných vlnových dĺžkach. V našej práci sme na túto kalibráciu zvolili práškový bárium sulfát (BaSO_4), ktorý spĺňa podmienky absolútnej bielej. Nasledovné merania tkaniva, v našom prípade povrchu kože, boli normalizované podľa tohto štandardného merania. Proces štandardizácie odstraňuje odchýlky intenzity zdroja optického žiarenia v závislosti od vlnovej dĺžky (λ) a odchýlky citlivosti detektora (Δ).

Celý proces štandardizácie presne zachytávajú nasledovné matematické rovnice.

$$M(\text{meranie}) = \frac{M(\text{sample})}{M(\text{reference})} \quad (1)$$

$$M(\text{meranie}) = \frac{\lambda T(\text{sample}) f(\text{sample}) \Delta}{\lambda T(\text{reference}) f(\text{reference}) \Delta} \quad (2)$$

$$T(\text{sample}) = \frac{f(\text{sample})}{T(\text{reference}) f(\text{reference})} \quad (3)$$

$$M(\text{meranie}) = \frac{T(\text{sample})}{T(\text{reference})} ff \quad (4)$$

$$ff = \frac{f(\text{sample})}{f(\text{reference})} \quad (5)$$

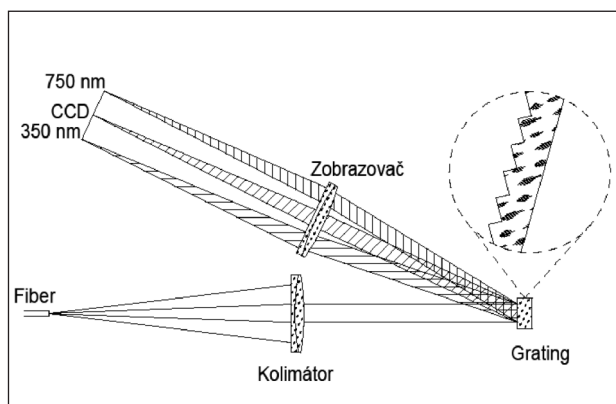
Transport optického žiarenia cez tkanivá kože sa v schéme označuje symbolom T a predstavuje reflektanciu (odraz) kože. Odrazené optické žiarenie z báriumu sulfátu je označené ako $T(\text{reference})$ a jeho hodnota je 0,90. Faktor $f(\text{reference})$ popisuje efektívnosť zberu optického žiarenia odrazeného od báriumu sulfátu substrátu a faktor $f(\text{sample})$ popisuje efektívnosť zberu optického žiarenia odrazeného z kože pomocou optických vlákien sústreďených vo vyšetrovacej sonde. Faktor ff , pomer efektívnosti zberu optického žiarenia z kože a zo štandardu v závislosti od vlnovej dĺžky je relatívne konštantný.

Reflektancia (vyžarovanie) ľudskej kože je ovplyvňovaná mnohými vonkajšími faktormi, individuálnymi rozdielmi, topografiou kože, tlakom, premasťovaním a odmasťovaním kože.

Pre eliminovanie nežiaducich vplyvov vonkajšieho prostredia sú pre každé meranie zabezpečené konštantné podmienky meracieho prostredia, teplota vo vyšetrovacej miestnosti sa pohybuje medzi 22–23 °C, vlhkosť prostredia a osvetlenie je štandardizované. Výhodné je bezdotykové meranie, pri ktorom sa ale musí minimalizovať tlak sondy na vyšetrovanú oblasť kože. Súčasne sa eliminuje primárny odraz, ktorý tvorí asi 4% celkového odrazu. Pre presnosť merania je dôležité redukovať všetky tieto vplyvy vonkajšieho prostredia (22, 15).

DIFÚZNY REFLEXNÝ SPEKTROFOTOMETER

Spektrofotometer je zariadenie využívané pri spektrofotometrii, ktoré meria intenzitu svetla v závislosti od vlnovej dĺžky (4). Poznáme viacero typov spektrofotometrov. Medzi jednotlivé typy sa spektrofotometre klasifikujú podľa vlnovej dĺžky s ktorou pracujú, podľa techniky merania, spôsobu získavania spektra, zdroja svetla alebo využitia v praxi (18).



Obr. 1. Optická schéma experimentálneho digitálneho spektrometra UM-ES600.

Technické prístupy sú viaceré. Každý má svoje prednosti aj negatíva, vrátane ekonomiky a možnosti. Spektrofotometre je možné zhotoviť na princípe filtrov, pomaly otočného hranolu alebo mriežky, klinových filtrov spojených s diódami a rýchlo otočnej holografickej mriežky. Technologickými komponentami dnes bývajú predovšetkým tzv. monolytické jadrá využívajúce difrakčné lineárne mriežky a detektory typu CCD fotovodivých polí. Tým sa docieľuje prakticky spojité spektrum.

Ďalšími dôležitými komponentami spektrofotometrov sú zdroj žiarenia, charakteristika, resp. priechodnosť použitých optických vlákien a vlastná snímacia hlava. Tá môže byť príčinou značných chýb. Správne by sa mala používať tzv. Ulbrichtová guľa, ktorá eliminuje nežiaduce zdroje žiarenia. Nesmierne záleží na výške snímania a tlaku sondy, čo je všeobecne stále nedoriešený (technický) problém.

V práci bol použitý experimentálny digitálny spektrometer UM-ES600 vyvinutý v Ústave merania SAV.

Základom spektrometra je reflexná difrakčná mriežka s pílovým profilom (blazed diffraction grating) so 600 čiarami/mm, optimalizovaná pre vlnovú dĺžku 500 nm a použiteľná pre spektrálny rozsah 300 – 1000 nm. Kolimátor a zobrazovací člen sú jednoduché objektívy (obr. 1). Vstupná štrbina spektrometra je voľný koniec snímacieho optického vlákna. Boli použité vlákna s priemerom 50 μm a 500 μm . Výsledná disperzia spektrometra je 0,22 nm/pixel a merací rozsah 350–750 nm. Výsledné spektrum je v ohniskovej rovine zobrazovateľa snímané lineárnym CCD prvkom SONY ILX511, ktorý obsahuje 18 referenčných a 2048 meracích pixelov veľkosti 14 mm x 200 mm s periódou 14 mm.

Referenčné pixely sú prekryté hliníkovou vrstvou a slúžia ako referencia signálu za tmy.

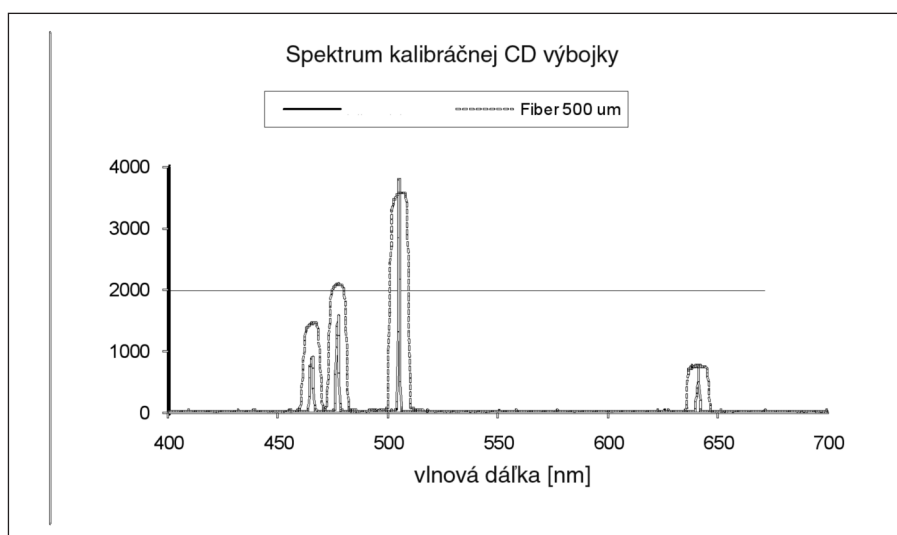
Snímací CCD prvok je riadený mikroprocesorom ADuC841 s vlastným firmware, ktorý generuje riadiace signály pre snímač, digitalizuje meraný optický signál AD prevodníkom s rozlíšením 12 bitov a komunikuje obojsmerne cez USB rozhranie s užívateľským PC.

Prevodný vzťah pixel – vlnová dĺžka sa kalibruje, pomocou Cd spektrálnej výbojky, ktorá má 4 základné spektrálne čiary v rozsahu 467,8 – 643,8 nm (obr. 2).

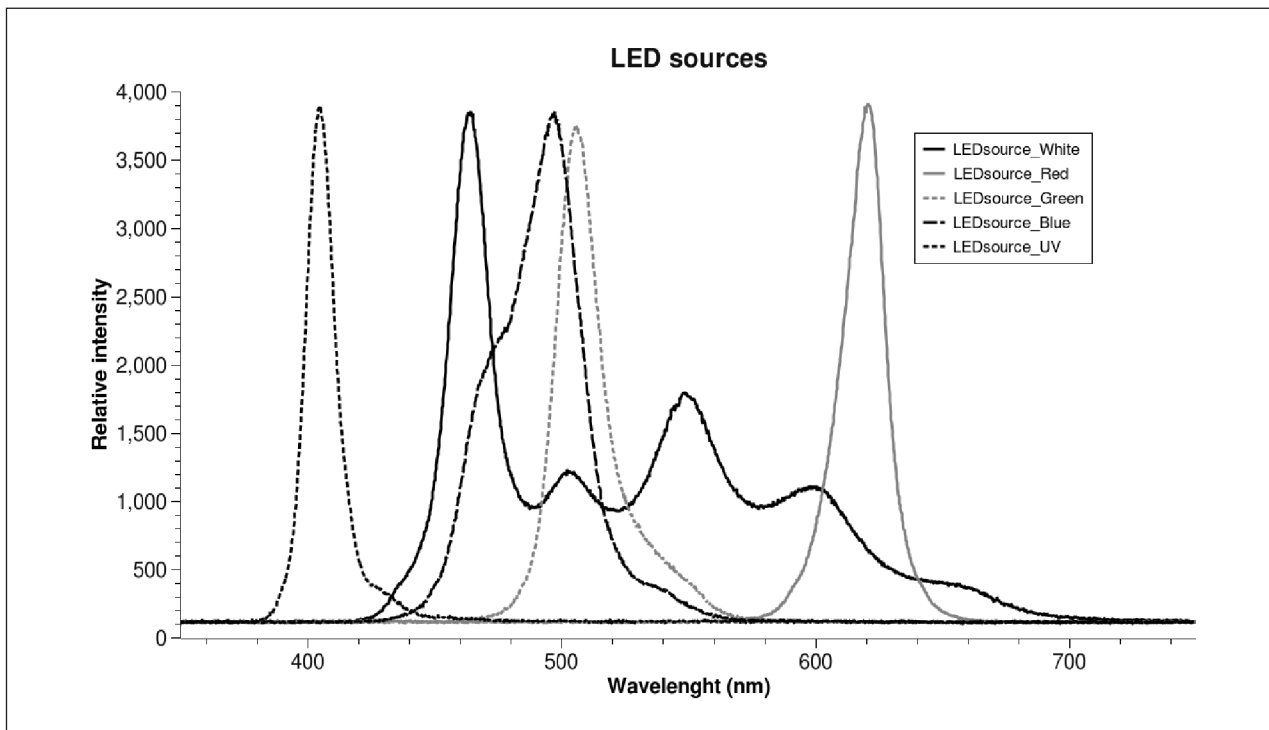
Osobitnú pozornosť sme venovali výberu zdroja žiarenia, aby pokryté absorpčné spektrum bolo čo najširšie a vysielaný signál čo najrovnomernejší. Ako zdroj žiarenia sa využíva polychromatické (biele) svetlo. Zdroj žiarenia sa volí citlivo podľa toho, v ktorej časti optického spektra a v akom spektrálnom rozsahu chceme realizovať naše merania. Do úvahy prichádzala aj halogénová lampa, ktorá má požadovaný široký spektrálny rozsah. Hlavnou nevýhodou halogénového zdroja žiarenia je nadmerná produkcia tepla a nutnosť kontinuálneho chladenia. Inštalácia chladiaceho systému by nielen zvýšila výrobnú cenu prístroja, ale aj zväčšila jeho rozmery a zhoršila manipuláciu s ním. Z týchto dôvodov sme sa snažili skonštruovať zdroj žiarenia postavený na LED technológii. Skúšali sme aj kombinácie jednotlivých LED diód. Nasledujúci graf porovnáva spektrálne rozsahy u jednotlivých zdrojov žiarenia (obr. 3). Krivka UV-LED diódy vyžaruje úzke spektrum a dosahuje svoje maximum v UV oblasti optického spektra, biela LED dióda má vysoký signál v modrej časti spektra napriek tomu, že žiari maximálne v oblasti viditeľného svetla. Najširšie spektrum, siahajúce od UV oblasti až po IR (infračervenú) oblasť optického spektra zahŕňajú halogénové a kryptónové zdroje žiarenia, ktoré poskytujú rovnomerný signál a pokrývajú širokú časť optického spektra.

Pre rozsah našich meraní sme si zvolili žiarovku Energizer Xenon TX15-2 s filtrom BG 32 napájanú konštantným prúdom čo zabezpečuje, aby vysielaný signál bol čo najrovnomernejší a nie je nutná inštalácia chladiaceho systému (obr. 4).

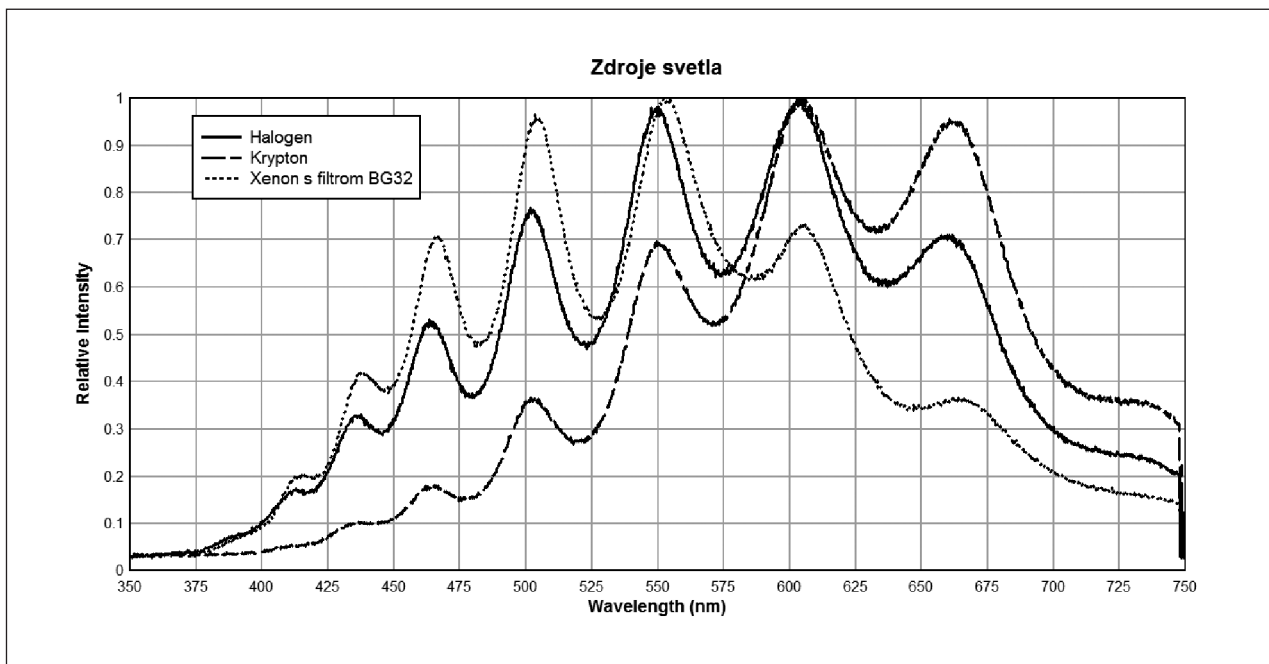
Optický štandard bol vybratý tak, aby odrazil približne



Obr. 2. Kalibračné spektrum Cd výbojky pre vlákna s priemerom 50 μm a 500 μm .



Obr. 3. Porovnanie spektrálnych rozsahov u jednotlivých zdrojov žiarenia.

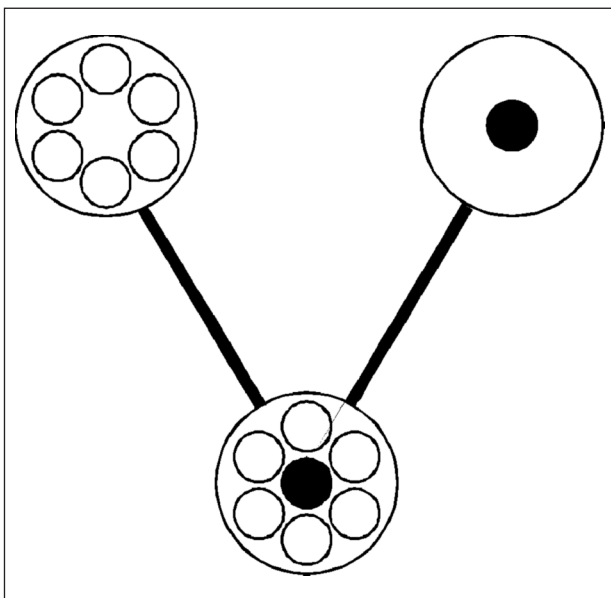


Obr. 4. Spektrum použitého zdroja žiarenia – xenónová lampa Energizer Xenon TX15-2 + BG 32 filter.

90% svetelného žiarenia v oblasti optického spektra od viditeľného až po blízke infračervené svetlo. Kalibráciu na absolútnu bielu sme robili priložením vyšetrovacej sondy do vzdialenosti cca. 0.5 mm od povrchu práškového bárium sulfátu (BaSO_4) v nádobke s výškou stĺpca 10 mm a priemerom o niečo väčším ako bol priemer koncovky vyšetrovacej sondy vyrobenej z plexiskla (30 mm). Pomerne veľký priemer koncovky vyšetrovacej sondy zabezpečuje dokonalý kontakt s vyšetrovanou kožou a súčasne aj

minimálny tlak na vyšetrované miesto kože. Je to dôležité hlavne pri vyšetrovaní erytému (minimalizácia fenoménu vitropresie).

Polychromatické svetelné žiarenie zo zdroja sa vedie cez viaceré optické vlákna usporiadané do kruhu a prostredníctvom vyšetrovacej sondy prechádza do kože. Po prechode jednotlivými vrstvami, rozptyle v koži a absorpcii rozličnými molekulami sa vracia späť, vstupuje do spektrofotometra cez centrálnu stredovú vlákno.



Obr. 5. Vláknový osvetľovací a snímací optický systém, prierez vyšetrovacou sondou.

Nasledujúci obrázok stručne opisuje usporiadanie optických vlákien vo vyšetrovacej sonde, zobrazuje vláknový osvetľovací a snímací optický systém a prierez vyšetrovacou sondou. Optické vlákna označené bielym krúžkom vysielajú svetelné žiarenie zo zdroja do kože a optické vlákno označené čiernym krúžkom sníma svetelné žiarenie odrazené z kože a vedie ho do spektrometra (obr. 5).

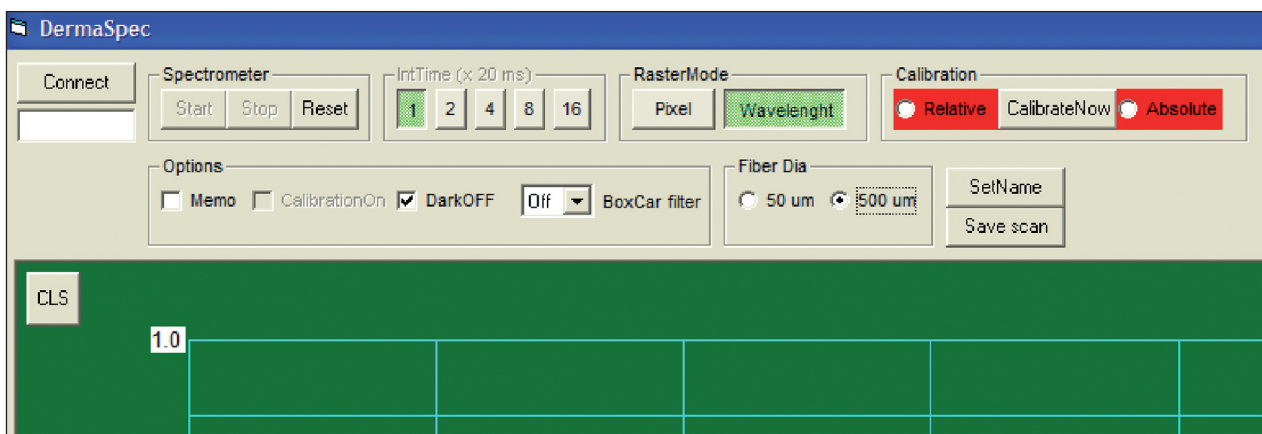
Zachytený signál z kože sa spracováva zákazníckym softvérom na zber dát, ktorý sa vytvoril špeciálne pre túto aplikáciu. Softvér prešiel celým radom úprav a prispôbení, aby umožňoval užívateľovi čo najjednoduchšiu prácu pri používaní spektrometra (obr. 6). Operačný softvér po pripojení spektrofotometra k počítaču v prvom rade zabezpečí synchronizáciu zariadenia. Poskytuje možnosť pracovať s optickým vláknom priemeru 50 mm a 500 mm. Následne sa celé zariadenie kalibruje oproti absolútnemu (bárium sulfát) a relatívnemu (okolitá zdravá koža) štandardu. Ďalšia možnosť je buď automatické odpočítavanie elektrickej tmy alebo pracovať bez tejto možnos-

ti ako aj možnosť mať zvolenú kalibráciu aktivovanú alebo nie. Možné je meniť aj integračnú dobu na CCD snímači v rozsahu 20 ms až 320 ms. Opakovacia frekvencia meraných spektier je 3 Hz až 10 Hz, v závislosti od nastavenej integračnej doby. Súčasne je v ovládaní softvéru aj možnosť vyhladzovania zobrazovanej krivky aktiváciou tzv. BoxCar filtra. Intenzitu snímaného signálu je možné sledovať na obrazovke buď v zobrazení na škále pixlov alebo priamo vo vlnovej dĺžke. Každé meranie z jedného miesta opakujeme 5x a pre ďalšiu analýzu sa používa aritmetický priemer jednotlivých signálov, ktoré sa ukladajú na pevný disk počítača. Zápis každého merania sa skladá z niekoľkých súborov, ktoré sa rozlišujú názvom súboru. Hlavný súbor má zaznamenané všetky namerané hodnoty vrátane surových dát a takto poskytuje možnosť dodatočných prepočtov jednotlivých meraní. Okrem hlavného súboru (označenie nesie dátum a čas merania) sa zapisujú aj súbory už s automatickým prepočtom reflektancie, absorpcie, intenzity absolútnej a relatívnej kalibrácie. Reflektanciu $R(\lambda)$ vyjadrenú v percentách získame pomerom spektrálneho signálu $S(\lambda)$ odrazeného svetla vzorky pri každej vlnovej dĺžke λ a referenčného spektra na bielu $S_{ref}(\lambda)$, ktoré je definované ako 100% odrazivosť pri všetkých vlnových dĺžkach s následnou korekciou oboch signálov na signál pri úplnej tme D .

$$R(\lambda) = \frac{S(\lambda) - D}{S_{ref}(\lambda) - D} \quad (6)$$

$$A(\lambda) = -\log R(\lambda) \quad (7)$$

Získané súbory sa následne zobrazujú softvérom SpekWin 32, ktorý autor softvéru na našu žiadosť doplnil aj o naše špeciálne požiadavky výpočtov a zobrazení reflektancie a absorpcie. Softvér má okrem možností matematických operácií s jednotlivými signálmi aj možnosť exportovania jednotlivých nameraných kriviek ako štandardné obrázky (formát bmp, tif, png).



Obr. 6. Záhlavie operačného softvéru (výrez).

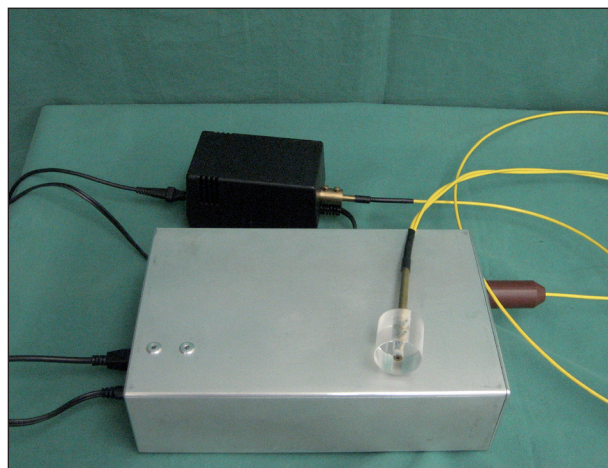
MOŽNOSTI KLINICKÉHO VYUŽITIA METÓDY

Klinické využitie DRS je všestranné. Prakticky najvýznamnejšie je jej použitie **pri hodnotení erytémov a pigmentácií**. Táto metóda umožňuje objektívne hodnotiť erytém rôzneho pôvodu: UV svetlom navodený erytém (11), presne stanovuje MED (minimálnu erytémovú dávku) (1, 14), hodnotí erytém pri epikutánných kožných testoch a fototestoch (24), zápalových procesoch (erysipelas, erythema chronicum migrans), pri tuberkulínových testoch (Mantoux I, II) (7) a slúži aj ako kontrola pri liečbe vaskulárnych lézií (naevus flammeus, teleangiektázie, hemangiómy). Hodnotí pigmentové kožné lézie, benígne a malígne pigmentové névy (26), lentigá a seboroické keratózy (8, 9, 10, 19), stanovuje koncentrácie bilirubínu pri iktere, meria farbu kože (5, 13, 14, 19, 20), vyhodnocuje kožné fototypy (14). Z mnohých ďalších možností použitia tejto metódy môžeme spomenúť sledovanie penetrácie liekov (lokálne aplikovaných kortikosteroidov), štúdium systémovo podaných liekov na kožu, vyšetovanie ciev, objektívne hodnotenie hojenia chronických rán, objektívizáciu zmien mnohých dermatitíd a dermatóz, priebežné sledovanie rozličných kožných eflorescencií (napr. psoriázy, atopie), sledovanie kožných zmien hemodialyzovaných osôb, kontrolu fotodynamickéj liečby (20, 23) a vyhodnocovanie účinnosti ochranných krémov s UV filtrom (kontrola ich SPF) (16). DRS má široké uplatnenie aj v iných medicínskych odboroch, ako napríklad v stomatológii pri štúdiu zubov, zubných materiálov (20), v oftalmológii pri sledovaní fotopigmentov sietnice (20) a v blízkom infračervenom pásme optického spektra pri testovaní svalov (srdcový sval, mozog pri acidobázickej nerovnováhe).

Dôležitým faktorom pre zaradenie tohto prístroja do bežnej dermatologickej praxe je v dnešnej dobe nielen jeho funkčnosť, ľahká manipulácia, vzhľad, ale predovšetkým jeho veľkosť. Nami zostrojený DRS a jeho sonda všetky tieto požiadavky spĺňajú (obr. 7).

ZÁVER

O problematiku metódy difúznej reflexnej spektrofotometrie a najmä o jej začlenenie do klinickej praxe je v súčasnosti veľký záujem. Vo všeobecnosti je snaha minimalizovať použitie invazívnych metód len na nevyhnutné prípady a všade kde je to možné uprednostniť neinvazívny prístup. Prínosy pre dermatológiu, ktoré poskytujú neinvazívne vyšetovacie metódy nielen vedeckým pracovníkom, ale aj klinickým dermatológom sú skutočne početné a nie je možné spomenúť ich všetky, preto sme vybrali pre túto publikáciu tie najvýznamnejšie s ohľadom na klinickú prax. Vytvorením hodnotiacej škály na základe meraní



Obr. 7. Difúzny reflexný spektrofotometer našej konštrukcie s vyšetovacou sondou.

realizovaných na pacientoch podstupujúcich epikutánne kožné testy by sa objektivizovali a zjednotili hodnotiace názory varujúce medzi jednotlivými vyšetrujúcimi. Spôľahlivo by bolo možné odlišiť minimálnu pozitívnu reakciu od negatívnej a tak by sa odstránili neistoty pri interpretácii sporných výsledkov kožných testov. Taktiež určenie správneho kožného fototypu je mimoriadne dôležité najmä pri výbere ochranných krémov s UV filtrom. Tým sa zabráni nadmernej expozícii kože slnku, pôsobí sa preventívne pred vznikom kožných fotodermatóz, pred tvorbou neželaných hyperpigmentácií a v neposlednom rade sa primerane chráni koža pred možným vznikom malígnych lézií. Kontrola liečby erytémových kožných ochorení a sledovanie účinnosti lokálne aplikovaných liečiv má nielen kontrolný význam pre dermatológa, ale predovšetkým pre pacienta, ktorý v boji so zdĺhavým chronickým dermatologickým ochorením má dôkaz, že realizovaná terapia funguje a stav ochorenia sa zlepšuje. Tento objektívny dôkaz účinnosti aplikovanej liečby má najmä psychologický efekt.

LITERATÚRA

- ANDERSEN, P.H., ABRAMS, K., BJERRING, P. et al. A time correlation study of UVB induced erythema measured by reflectance spectroscopy and laser Doppler flowmetry. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed*, 1991, 8, p. 1-16.
- ANDERSON, RR., PARISH, A.J. The optics of human skin. *J. Investigative Dermatol*, 77, 1981, p. 13-19.
- ARAUJO, C. Filter Transmission setup. Catholic University of Vaparaíso, 2001, <http://www.ctio.noao.edu/instruments/filters/setup.html#top>.
- DEARDEN, S. Spectroscopy, astronomy and optics: Basement Spectroscopy: Spectrograph mountings: The Czerny-Turner mounting and variations. Forum for Amateur AstroSpectroscopy, 2004, <http://www.astrosurf.com/dearden/Web%20Pages/Basement%20Page/Mountings/Mountings%20Page%204.htm>.

5. FIKRLE, T., CETKOVSKÁ, P., RESL, V. Měření přirozené pigmentace kůže metodou remitenční spektrofotometrie. *Čes.-slov. Derm.* 79, 2004, 3, p. 103-108.
6. HORIBA, J.Y. MikroHR, a compact versatile Czerny-Turner Spectrometer. Horiba Jobin Yvon, 2005, <http://www.jobinyvon.com/usadivisions/mono/microhr.htm>.
7. CHAMBERS, M.A., JAHANS, K., WHELAN, A. et al. Simple objective measurement of the cutaneous delayed-type hypersensitivity reaction to tuberculin using spectrophotometry. *Skin Research and Technology*, 8, 2002, p. 89-93.
8. CHINEA CORDO, M., SENDRA SENDRA, J. R., SILVA LÓPEZ, S. M. et al. Pigmented skin lesions studies by VIS – NIR reflectance spectroscopy in the Canary Islands: preliminary study. *Proc. SPIE*, 5141, 2003, p. 157-167.
9. KOLLIAS, N., BAQER, A. On the assessment of melanin in human skin in vivo. *Photochem Photobiol*, 43, 1986, p. 49-54.
10. KOLLIAS, N., BAQER, A. Spectroscopic characteristics of human melanin in vivo. *J. Investigative Dermatol*, 85, 1985, p. 38-42.
11. KOLLIAS, N., BAQER, A. Quantitative assesment of UV – induced pigmentation and erythema. *Photodermatol.* 5, 1988, p. 53-60
12. KOLLIAS, N., STAMATAS, G.N. Optical Non-invasive approaches to diagnosis of skin diseases. *The Society for Investigative dermatology*, 7, 2002, p. 64-75.
13. KOLLER, L. Analytická chémia: Prístrojové analytické metódy: Spektrálne metódy. Technická univerzita v Košiciach 2002, p. 57-102.
14. KRAEMER KLOECKNER, C., MENEGON BARATZ, D., CESTARI FERREIRA, T. Determination of the minimal phototoxic dose and colorimetry in psoralen plus ultraviolet a radiation therapy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 21, 2005, p. 242-248.
15. LIEBOLD, K., FÄBLER, D., SCHMIDT, W.D. et al. In vivo spectroscopy in dermatology: methods and new fields of application. *JEADV*, 14, 2000, p. 1-4.
16. MOYAL, D., REFRÉGIER, J.L., CHARDON, A. In vivo measurement of the photostability of sunscreen products using diffuse reflectance spectroscopy. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 18, 2002, p. 14-22.
17. REICHERTZ, J. Astronomie: Spectralanalyse. Das Redaktionsbüro für Technik – Themen, 2005, <http://REICHERTZ Das Redaktionsbüro für Technik-Themen.htm>.
18. RESL, V., PRŮCHA, J., CETKOVSKÁ, P. et al. Objektivizace barvy kůže – chromametrie (kolorimetrie, chromatometrie) a remitenční spektrofotometrie – I. *Čes.-slov. Derm.* 76, 2001, 6, p. 318-321.
19. RESL, V., PRŮCHA, J., CETKOVSKÁ, P. et al. Objektivizace barvy kůže – chromametrie a remitenční spektrofotometrie – II. *Čes.-slov. Derm.* 77, 2002, 1, p. 35-44.
20. RESL V. Bioinženýrské metody v dermatovenerologii I. Prístrojové metody ke stanovení různých parametrů kůže. *Čes.-slov. Derm.* 77, 2002, 3, p. 133-138.
21. RESL, V. Bioinženýrské metody v dermatovenerologii II. Prístrojové vyšetřovací metody zobrazující kůži nebo její struktury. *Čes.-slov. Derm.* 77, 2002, 6, p. 264-272.
22. RESL, V., PRŮCHA, J., CETKOVSKÁ, P. et al. Kožní spektrofotometr s kontinuálním spektrem. *Čes.-slov. Derm.* 77, 2002, 3, p. 125-130.
23. RIORDAN, B., SPRIGLE S., LINDEN M. Testing the validity of erythema detection algorithms. *Journal of Rehabilitation Research and Development*, 38, 2001.
24. SENDERÁKOVÁ, D.: Fraunhoferova difrakcia svetla na mriežke, <http://www.fmph.uniba.sk/~senderakova/ko/luc/fp3/Uloha-10.pdf>, p.1-4.
25. STATAMAS, G. N., ZMUDZKA, B. Z, KOLLIAS, N. et al. Non-invasive measurement of skin pigmentation in situ. *Pigment Cell Res*, 17, 2004, p. 618-626.
26. TAKIWAKI, H., MIYAOKA, Y., KOHNO, H. et al. Graphic analysis of the relationship between skin colour change and variations in the amounts of melanin and haemoglobin. *Skin Reasearch and Technology*, 8, 2002, p. 78-83.

Došlo do redakce: 19. 1. 2009

MUDr. Katarína Soršáková-Trnovská
 Detská dermatovenerologická klinika DFNsP
 a LFUK
 Limbová 1
 833 40 Bratislava
 SR
 E-mail: sorsakova@zoznam.sk

Ediční plán

Česko-slovenská dermatologie, 84. ročník, rok 2009

Číslo 3: Lymfedém

Číslo 4: Rozacea a perorální dermatitida

Číslo 5: Diabetická noha

Číslo 6: Sarkoidóza

Česko-slovenská dermatologie, 85. ročník, rok 2010

Číslo 1: Korektivní dermatologie