

VŠB – Technická univerzita Ostrava
Fakulta elektrotechniky a informatiky
Katedra kybernetiky a biomedicínského inženýrství

Objektivní metoda neinvazivního měření pigmentační variability

Objective methods of non-invasive measurement of pigmentation variability

Zadání diplomové práce

Student:

Bc. Dan Kamenský

Studijní program:

N2649 Elektrotechnika

Studijní obor:

3901T009 Biomedicínské inženýrství

Téma:

Objektivní metoda neinvazivního měření pigmentační variability
Objective Methods of Non-invasive Measurement of Pigmentation
Variability

Jazyk vypracování:

čeština

Zásady pro vypracování:

1. Literární a patentová rešerše k zadané problematice.
2. Problematika měření barevného povrchu a objektivních metod snímání pigmentu včetně vymezení chyb při měření.
3. Měřicí zařízení pro kolorimetrii se zaměřením na zdroje světla, optické senzory.
4. Návrh a realizace hardwaru optického měřicího systému pro metodu neinvazivního měření pigmentační variability.
5. Návrh a realizace softwarového řešení měřicího systému.
6. Technická dokumentace k vytvořenému měřicímu systému a legislativně-právní forma uvedení zařízení na trh.
7. Testování měřicího zařízení a zhodnocení dosažených výsledků.

Seznam doporučené odborné literatury:

- [1] HANI, Ahmad F. M. a Dileep KUMAR. *Optical Imaging for Biomedical and Clinical Applications*. CRC Press, 2017, 422 s. ISBN 978-1315351384.
- [2] SERUP, Jorgen, Gregor B. E. JEMEC a Gary L. GROVE. *Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin*. 2. ilustrované vydání, přepracované vydání. CRC Press, 2006, 1056 s. ISBN 978-1420003307.
- [3] SANTOS, José Luís a Faramarz FARAHI. *Handbook of optical sensors*. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group, [2015]. ISBN 978-1439866856.
- [4] AGACHE, Pierre a Philippe HUMBERT. *Measuring the Skin*. Ilustrované vydání. Springer Science & Business Media, 2004, 784 s. ISBN 978-3540017714.
- [5] FROSCH, Peter J. a Albert M. KLIGMAN. *Noninvasive Methods for the Quantification of Skin Functions: An Update on Methodology and Clinical Applications*. Ilustrované vydání. Springer Science & Business Media, 2012, 319 s. ISBN 978-3642781575.

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Iveta Bryjová**

Datum zadání: 01.09.2018

Datum odevzdání: 30.04.2019



doc. Ing. Jiří Koziorek, Ph.D.
vedoucí katedry



prof. Ing. Pavel Brandštetter, CSc.
děkan fakulty

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně. Uvedl jsem všechny literární prameny a publikace, ze kterých jsem čerpal.

V Ostravě 30. dubna 2019

Kamenický

Mé poděkování patří Ing. Ivetě Bryjové za odborné vedení, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování diplomové práce věnovala. Dále bych rád neopomenul Ing. Václava Líznera a Dominika Šimoníka za technické konzultace a samozřejmě své rodině za psychickou podporu.

Abstrakt

Kvantifikace kožních parametrů je důležitá pro *in vivo* hodnocení kožních reakcí na vnější podněty. Těmi mohou být různé dráždivé látky, účinky kortikosteroidů, ale i vliv ultrafialového záření. Měření barvy je zejména užitečné pro kvantitativní hodnocení účinnosti terapií kožních lézí. Pro tento účel byl v této diplomové práci navržen a zrealizován přenosný optoelektronický přístroj DKP (detektor kožního pigmentu), který je aplikovatelný při klinickém výzkumu v oborech dermatologie, fyziologie, farmakologie nebo kosmetického průmyslu. Jelikož barva není skutečná fyzikální veličina, ale spíše smyslové vnímání založené na barevném vjemu měla by být jakákoli získaná kolorimetrická data interpretována pečlivě. Výstupem celé práce je komplexní, inovativní řešení, na které bylo nahlíženo z hlediska uživatelského komfortu, zařízení je navrženo v miniaturním provedení, které moderně spolupracuje s uživatelským rozhraním ve formě multiplatformní aplikace, která zobrazuje zpracovaná data. Výstupem jsou indexy erytému, melaninu, také RGB a CieLab hodnoty, které jsou ukládány do databáze pacientů k dalšímu subjektivnímu hodnocení specializovaným odborníkem.

Klíčová slova: objektivní metoda, neinvazivní měření, měření barvy kůže, pigmentace, detektor kožního pigmentu, kolorimetr, Arduino Nano, RGB senzor, Bluetooth komunikace, napájecí obvody, multiplatformní aplikace

Abstract

Quantification of skin parameters is important for *in vivo* evaluation of skin responses to external stimuli. These may be various irritants, corticosteroid effects, but also the effect of ultraviolet radiation. Color measurement is particularly useful for the quantitative evaluation of efficacy of skin lesion therapies. For this purpose, a portable optoelectronic device DKP (skin pigment detector), which is applicable in clinical research in the fields of dermatology, physiology, pharmacology or cosmetics, was designed and implemented. Since color is not a true physical quantity but rather a sense perception based on color perception, any colorimetric data obtained should be carefully interpreted. The output of this work is a complex, innovative solution, which was viewed from the point of view of user comfort. The output is erythema, melanin, RGB and CieLab indices, which are stored in a patient database for further subjective evaluation by a specialist.

Key Words: objective method, non-invasive measurement, skin color measurement, pigmentation, skin pigment detector, colorimeter, Arduino Nano, RGB sensor, Bluetooth communication, power circuits, multiplatform applications

Obsah

Seznam použitých zkratk a symbolů	9
Seznam obrázků	10
Seznam tabulek	11
Seznam výpisů zdrojového kódu	12
1 Úvod	13
2 Rešerše publikované literatury	15
2.1 Výsledky	15
2.2 Objektivní detekce parametrů kůže	17
3 Teoretická část	24
3.1 Problematika pigmentu a jeho analýza	24
3.2 Měření barevného povrchu	29
3.3 Měřicí zařízení pro kolorimetrii	34
3.4 Zdroje světla a optické senzory	38
4 Praktická část	44
4.1 Návrh hardwarového řešení	44
4.2 Realizace hardwarového řešení	52
4.3 Legislativně-právní forma	58
4.4 Software	61
4.5 Návod k použití a technické parametry	63
4.6 Testování a výsledky měření	65
5 Závěr	68
Literatura	71
Přílohy	74
A Zdrojový kód aplikace	75
B Elektronické schéma DPS část 1.	75
C Elektronické schéma DPS část 2.	75
D Horní strana DPS	75

E Spodní strana DPS 75

F Obsah CD 75

Seznam použitých zkratek a symbolů

SDZ	– Standardizované digitální zobrazování
SIA	– Spektrofotometrická intrakutánní analýza
HSV	– Barevný model: odstín, sytost barvy a hodnota jasu
RGB	– Barevný model: červená, zelená, modrá
CMYK	– Barevný model: azurová, purpurová, žlutá, černá
VSS	– Vancouverská škálovací stupnice
LDZ	– Laserové dopplerovské zobrazování
LSP	– <i>Laser Speckle Imaging</i>
LSPI	– Laserové spektrofotometrické zobrazování
UV	– Zkratka pro ultrafialové záření z anglického <i>ultraviolet</i>
TGN	– Trans-Golgio síť z anglického <i>trans Golgi network</i>
FOP	– Z anglického <i>fiber optic plates</i>
MED	– Minimální erytémová dávka
BSD	– Z anglického <i>Berkeley Software Distribution</i>
DKP	– Detektor kožního pigmentu
DPS	– Deska plošného spoje
LED	– Z anglického <i>Light-Emitting Diode</i>
ZP	– Zdravotnický prostředek
EU	– Evropská unie
Sb	– Sbírka zákonů
USART	– Synchronní/asynchronní sériové rozhraní
PWR	– Z anglického <i>power</i>
USB	– Univerzální sériová sběrnice
PWM	– Pulzně šířková modulace
Bd	– Jednotka modulační rychlosti z anglického <i>baud rate</i>
BSD	– Z anglického <i>Berkeley Software Distribution</i>
SMD	– Součástky pro povrchovou montáž <i>surface mount device</i>
PLA	– polymléčná kyselina z anglického <i>polylactic acid</i>
PHP	– Skriptovací programovací jazyk z anglického <i>Hypertext Preprocessor</i>

Seznam obrázků

1	Grafická ilustrace reflexní spektroskopie.	18
2	Monomery eumelaninu a feomelaninu. Převzato: https://qph.fs.quoracdn.net	26
3	Ukázka struktury melanosomů ve stádiu I–IV.	27
4	Distribuce melanosomů v epidermis u fototypu I–VI.	28
5	Přístroj Minolta Chromameter CR 400®.	35
6	Závislosti hustoty vyzařování na vlnové délce. Převzato: https://edu.techmania.cz	40
7	Ukázka zapojení fotodiody.	42
8	Blokové schéma DKP.	45
9	Napájecí část DKP.	46
10	Schéma Arduino Nano a připojené indikující LED R/G.	47
11	Schéma senzoru.	50
12	Komunikační vztah <i>master/slave</i>	51
13	Ukázka sběrnice I^2C	52
14	Ukázka napájené DPS spodní část.	53
15	Ukázka napájené DPS horní část.	53
16	Ukázka otvorů krabičky, navrženo v programu 3D CAD.	55
17	Ukázka otvoru pro senzor přístroje.	55
18	Ukázka rozměrů krabičky.	56
19	Ukázka průběhu 3D tisku pomocí tiskárny Ultimaker.	56
20	Ukázka balení DKP, vlevo po otevření obalu, vpravo spouštěcí tlačítko.	64
21	Ukázka indikace nabití baterie, vlevo vybitá, vpravo plně nabitá.	64
22	Ukázka neaktivního/aktivního snímání vlevo, vpravo ovládání aplikace.	64
23	Boxplot R hodnot u 10 probandů, vlevo muži, vpravo ženy.	66
24	Boxplot G hodnot u 10 probandů, vlevo muži, vpravo ženy.	66
25	Boxplot B hodnot u 10 probandů, vlevo muži, vpravo ženy.	66
26	Schéma v programu EAGLE, Arduino Nano, napájecí obvody, bluetooth modul.	84
27	Schéma v programu EAGLE, senzor.	85
28	Horní strana DPS.	86
29	Spodní strana DPS.	87
30	Obsah příloženého CD.	88

Seznam tabulek

1	Komerční přístroje z hlediska výrobní společnosti	21
2	Komerční přístroje z hlediska měřicího parametru	21
3	Komerční přístroje z hlediska ceny	21
4	Tabulka koeficientů	33
5	Tabulka technických parametrů Arduina Nano.[28]	47
6	Tabulka technických parametrů Bluetooth modulu HC-06.[30]	50
7	Specifikace technických parametrů DKP.	65

Seznam výpisů zdrojového kódu

1	Ukázka inicializace čipu.	48
2	Ukázka nastavení barevných filtrů a zapnutí bílých LED.	49
3	Ukázka instalace příkazů pro nastavení SDK	61
4	Zdrojový kód v jazyce Dart.	76

1 Úvod

Hlavním cílem této práce je systematický návrh zařízení, který chytrým řešením umožní neinvazivně snímat parametry kožní pigmentace. Kůže je nejrozsáhlejší částí lidského těla, která přichází jako první do kontaktu s vnějším prostředím, proto je často náchylná ke kožním onemocněním. Jedním z primárních parametrů je pigment, který definuje její barvu. Ta je klíčovým znakem při vzniku kožních abnormalit. Z tohoto důvodu je tato diplomová práce fokusována právě na tuto problematiku.

Je uspořádaně sestavena z části teoretické, její hlavní složka je tvořena rešerší dostupných komerčních řešení, které ovlivňují další sled celé práce, protože z jejich znalostí byl vytyčen směr návrhu i realizace. Mimo jiné jsou zde popsány metody detekce parametrů kůže, problematika analýzy pigmentu, kvantifikace barevného povrchu, chybovost měření a zdroje světla.

Tyto znalosti byly nezbytné pro část praktickou. Metodika postupu vyplývá z logického smýšlení. Na začátku je uveden návrh řešení, který vychází ze zvolené optoelektronické metody, která je zaměřena na detekci množství reflektovaného záření od povrchu kůže. Dále je podmíněn vstupními podmínkami, které navazují na moderní vývojovou tendenci, miniaturizace, zmenšování rozměrů a hmotnosti elektronických součástí tak, aby byla umožněna co nejjednodušší manipulace. Zahrnuta je i jednoduchost ovládacích prvků.

V další části je seznámení s jednotlivými komponenty. Jedná se o napájecí část, která slouží k udržení stálého napětí při provozu, zvolený mikroprocesor k řízení komponent a zpracování informace, senzor k detekci vstupních dat a komunikační modul ve formě bluetooth ke spojení s chytrým mobilem. Ke každému z nich je přiloženo schéma vygenerované z editoru Eagle. Jejich implementace do jednoho celku tvoří sumární návrh DPK. Dále je popsána realizace návrhu zařízení. Zde je shrnut její reálný vývoj od tvorby desky plošného spoje a seznamu použitých součástí pro jeden výrobek, tvorba externí krabičky pomocí technologie 3D tisku, která zaobaluje všechny technické moduly a funkčně doplňuje celý výrobek. Tyto jednotlivé díly vytváří kompletní hardware celého přístroje.

Softwarová stránka je rozdělena do dvou směrů a to naprogramování vývojové desky Arduino Nano a samotné aplikace. Popis jednotlivých metod i konstruktorů je součástí této kapitoly. Vizuální stránka aplikace je nedílným elementem celé práce, jelikož nahrazuje displej. Zobrazuje tak veškerá data a zpracovává výsledky.

Z uživatelského hlediska a nadnesení celého výrobku na vyšší úroveň na něj bylo nahlíženo jako na produkt, který by měl být v budoucnu plnohodnotným ve sféře klinické. Z těchto důvodů byla nastíněna problematika legislativně-právní formy procesu uvedení zdravotnického výrobku na trh, součástí této procedury je i návod k použití, který je úvodním vstupem ke splnění podmínek pro uvedení zdravotnického prostředku na trh České republiky a členských států.

Poslední součástí celé práce je testování výrobku a výsledky z něj vycházející. Neopomenuta je i stránka dalších, budoucích kroků, které by bylo vhodné zrealizovat k splnění nadcházejících

cílů na tento výrobek kladených. Zejména rozsáhlého testování a klinických měření, které by mohly plynule navázat na disertační práci.

2 Rešerše publikované literatury

Počet článků: 13

Časové vymezení: 2000–2018

Klíčová slova:

Objektivní metoda, neinvazivní měření, měření barvy kůže, pigmentace, melanin, kolorimetr, 3D kamera, laser, analýza obrazu

Keywords:

Objective method, non-invasive measurement of skin colour, pigmentation, melanin, colorimeter, 3D camera, laser, image analysis

V rámci rešerše bylo provedeno systematické vyhledávání literatury pomocí databází Web of Science, PubMed a Cochrane. Identifikovaná zařízení byla poté klasifikována a rozdělena do skupin, podle specifických parametrů. Při vyhledávání bylo nalezeno 87 článků. Po další přesnější selekci bylo vybráno 13 vědeckých publikací, které používaly objektivní měřicí systémy nebo nástroje pro měření pigmentační variability. Přístroje, které se zabývají problematikou objektivní detekce kožních parametrů, lze z širšího hlediska rozdělit na ty, které měří barvu, metrické proměnné, strukturu, biomechanické vlastnosti a patofyziologické poruchy.

2.1 Výsledky

Rychlý pokrok technologií ve zdravotnictví umožňuje vyvíjet objektivní nástroje i v oborech, které nejsou primární oblastí zájmu z hlediska vztahu života a smrti, ale spíše jejich účel spadá do klinické či vědecké sféry.

Po přezkoumání dostupných publikací bylo zjištěno, že přístroje, které slouží k objektivní detekci kožních parametrů vykazují poměrně přesné a reprodukovatelné výsledky. Problémem jsou spíše vlastnosti subjektivního charakteru jako je svědění či bolest, které v dnešní době objektivně měřit nelze.

Z výsledků zpracovaných článků bylo vymezeno několik přístrojů, které by měli poskytovat kvalitní data měření následujících parametrů: plocha, barva, tloušťka, viskoelastičita, textura nebo topografie. Všechna uvedená zařízení jsou komerčně dostupná. Z kamerových 3D systému jsou doporučovány: *Eykona 3D kamera*, *Lifewiz*, *Vectra H1*. Pro detekci odstínu pigmentu: kolorimetr *DSM II*. V oblasti snímání tloušťky je doporučen: vysokofrekvenční ultrazvuk *Dermascan*. A pro detekci pružnosti a ohebnosti pokožky: kutometr. Nástroje byly porovnávány a vyhodnocovány z hlediska reprodukovatelnosti, snadnosti použití a nákladů viz tabulky 1, 2, 3.

Dále je nutné zmínit, že k ověření užitečnosti a spolehlivosti těchto zařízení jsou zapotřebí další odborné studie, které definují jejich výhody a nevýhody ve srovnání se subjektivním hodnocením lékaře. Doporučuje se, aby byly nové objektivní technologie před použitím v klinických

studiích posuzovány z hlediska spolehlivosti intra-rater¹, inter-rater². Tento postup je však časově i nákladově velice náročný, řešením by mohla být rozsáhlá spolupráce vědy, průmyslu, klinického výzkumu a skupinami pacientů, který by umožnil celý proces zefektivnit, zdokonalit a podpořit tak testování a představení nových, inovativních produktů.

Ačkoli je v porovnání s předchozími desetiletími kladen větší důraz na vývoj a testování přístrojů, které měří fyzikální parametry, nebyla věnována dostatečná pozornost měřením fyziologických charakteristik. Je nezbytné vyvinout nástroje, které mohou být použity k měření a kvantifikaci metabolické a buněčné aktivity v postižených oblastech kůže tak, aby léčba mohla být přizpůsobena pacientům individuálně. Nástroje pro detekci vlastností kůže často vycházejí z technologií vyvinutých pro různá průmyslová odvětví, např. kutometr pro oblast dermatologickou, barevné sondy pro měření barev materiálů v potravinářském, stavebním průmyslu a ultrazvukové tvrdoměry jako např. SU-100 pro testování tvrdosti materiálů ve zpracovatelském průmyslu. Jako taková je jejich užitečnost pro pacienty s dermatologickými problémy většinou nedůsledně prokázána.[1]

Objektivní nástroje jsou důležité zejména pro intervenční klinické studie, jelikož umožňují analyzovat i porovnávat poškození kožní tkáně a účinek terapií přesněji, než je možné samotným subjektivním pohledem lékaře. Ten však stále tvoří hlavní roli v kombinaci těchto dvou metod, jelikož umožní zahrnout typ proměnných, které v současné době nejsou možné s objektivními měřicími zařízeními, jako je například již zmíněná bolest, či svědění. Některé publikované studie skutečně porovnávaly efektivnost kombinace obou metod pro měření kožních parametrů. Zavedení těchto možností do standardní klinické praxe, ovšem stále čelí řadě překážek a existuje mnoho důvodů proč se potenciálně skvělé technologie nedaří zabudovat do systému zdravotní péče. Jedním z problematických faktorů je nedostatek funkcí pro zabezpečení dat, i když se tento problém pravděpodobně týká spíše mobilních aplikací než fyzických zařízení.

Dalším z problémů jsou vysoké náklady. Dokonce i nejjednodušší technické komponenty, např. barevné sondy, dosahují u komerčních výrobků ceny okolo 90 000 Kč. A to bez ročních nákladů na servis. Bez kvalitních výsledků výzkumu o klinickém a patientském přínosu je nesmírně obtížné odůvodnit zisk a náklady těchto zařízení.[2]

Jak již bylo zmíněno dříve, mnoho nových technologií z této oblasti bylo vyvinuto předně pro průmyslové účely. Inženýři při jejich návrhu úzce spolupracovali s klinikami a pacienty. Zmíněn byl také fakt, že někteří kliničtí lékaři vidí implementaci nových technologií v klinické praxi spíše jako překážku.

¹Intra-rater je shoda mezi jedním posuzovatelem, kdy je test posuzován opakovaně s časovým rozestupem.

²Inter-rater je metoda shody mezi dvěma posuzovateli, kdy je daný test hodnocen dvěma na sobě nezávislými pozorovateli.

2.2 Objektivní detekce parametrů kůže

Barva je hlavním faktorem, který ovlivňuje vzhled pokožky. Je tvořen převážně ze dvou složek: melaninu (hnědého pigmentu způsobeného aktivovanými kožními melanocyty) a erytému (červené zbarvení, které je způsobeno zvýšeným prokrvením, díky rozšíření krevních cév). Jiné pigmenty, které se lokalizují v místech onemocnění, jako je žluč a karoten, mohou také přispět k celkovému vzhledu povrchu kůže.

Objektivní detekci pigmentu kůže mohou ovlivňovat různé faktory, jako je tloušťka pokožky, odraz od povrchu kůže a faktory prostředí, včetně světla a teploty. Měření je dále ovlivněno faktory souvisejícími s pacientem, jako je jeho způsob životního stylu či polohování postižených oblastí při diagnostice, což může způsobit změnu krevního oběhu, a tudíž i erytému kůže.

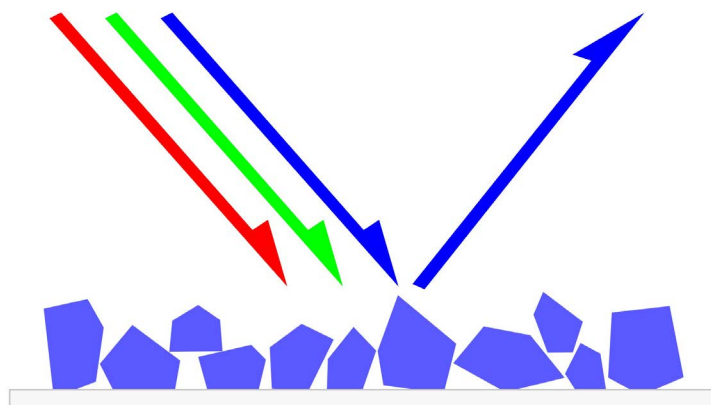
Ačkoli vizuální hodnocení barvy bylo začleněno do různých stupnic, jde stále o metodu subjektivní evaluace. I za normálních okolností nemůže lidský mozek správně vyčíslit barvu nebo její intenzitu. Jelikož obrovský vliv na barevný vjem má okolní světlo. Známým příkladem je rozdílné barevné vnímání stejného objektu v různých časech, v pravé poledne, kdy je sluneční svit přímý je jasová hodnota mnohem vyšší než v podvečer. Dále závisí vždy na vnitřních stavech snímaného objektu, v případě kožního povrchu dochází k změnám barvy při náhle změně vaskularizace a pigmentace, kdy může docházet v jejich vzájemném překrývání, tento proces výrazně ztíží situaci pro pozorovatele. V praxi je například velice složité posoudit pigmentaci jizvy ve velmi vaskularizované jizvě, kdy erytém zakrývá nárůst nebo snížení množství pigmentu.[3]

Mimo jiné, kožní choroby jsou často charakterizovány nerovnoměrným rozdělením barev, to komplikuje pozici pozorovatele při určování střední hodnoty pro danou oblast postižení. Pro řešení podobných situací bylo vyvinuto několik objektivních a reprodukovatelných metod, které lze obecně klasifikovat takto:

- kolorimetrie a spektrofotometrie,
- laserové zobrazování,
- počítačová analýza digitálních fotografií.

Kolorimetrie a spektrofotometrie jsou osvědčené technologie více než 50 let. V současnosti je jednou z nejběžněji používaných metod pro měření barvy.

Přístrojová technika využívající tuto technologii kvantitativně měří barvu a intenzitu odraženého světla. Jednoduše může být celý proces může být popsán dějem, kdy zdroj světla produkuje vlnové délky, které odpovídají barvě červené, modré a zelené. Ty dopadají na určitý materiál, který má tu vlastnost, že pohlcuje pouze červené, zelené světlo a naopak odráží modrou složku, kterou lidské oko detekuje a přiřadí povrchu modré zbarvení viz obrázek 1. Biologickým příkladem je odhalování okysličování hemoglobinu. Pokud je hemoglobin osvětlen bílým světlem absorbuje vyšší podíl spektra modré složky a naopak odráží zpět složku červenou, zatímco deoxygenovaný hemoglobin absorbuje vyšší množství červeného světla, a proto se zdá být spíše



Obrázek 1: Grafická ilustrace reflexní spektroskopie.

modrým. Ve skutečnosti je tento proces komplikovanější, jelikož světlo, které svítí (nazývané incidentní) na biologické tkáni se může odrážet v mnoha různých trajektoriích, tento rozptyl se také podílí na ovlivnění našeho barevného vnímání.

V současné době existuje několik spektrokolorimetrických zařízení, které využívají principu odrazové kolorimetrie, *Minolta Chromameter* (Minolta Camera Co., Osaka, Japonsko), *Labscan XE* (Inc., Reston, VA), *DSM II Colormeter* (Cortex Technology, Hadsund, Dánsko), *NF-333* (Nippon Denshoku Co. Ltd, Japonsko), *Micro Color* (Dr. Bruno Lange GmbH, Düsseldorf, Německo), Spektrofotometr *X-Rite SP64* (X-Rite Inc., Michigan, USA), *Mexameter* (Courage + Khazaka) a *Visi-Chroma VC-100* (Bio-photonics, Belgie).

Tyto přístroje měří vaskularizaci a pigmentaci na základě rozdílů v absorpci červeného a zeleného světla, hemoglobinem a melaninem. *Dermatospektrometr*, nebo jeho novější verze *DSM II Colormeter* a *Mexameter* jsou příklady přístrojů, které využívají právě tohoto principu. Ve srovnání se zařízeními *Minolta Chromameter* a *Labscan XE* je *Colormeter DSM II* menší, přenosný, poskytuje indexy erytému a melaninu, které jsou z hlediska zpracování a detekce dat méně náročné, než barevná analýza $L^* a^* b^*$, která je výstupní informací přístroje *Minolta Chromameter*.

Další ze studií ukázala, že komplexní hodnocení chorob pokožky s *Dermaspektrometrem* a *Minolta Chromametrem* je spolehlivější než vizuální hodnocení pozorovatelem. Nicméně, zařízení, která se spoléhají výhradně na odrazovou kolorimetrii, vykazují slabší korelaci s patientskými škálovacími stupnicemi, a to zejména při měření pigmentovaných nebo hypopigmentovaných poruch kůže.[6]

Rovněž bylo prokázáno, že *Labscan XE* má mírně lepší korelaci s klinickými metodami hodnocení v porovnání s *Chromametrem*. Dle posledních publikací byl *Dermatospektrometr* stažen z trhu a nahrazen novějším modelem *DSM II Colormeter*. Tato aktuální verze je charakterizována jako přenosné zařízení, menších rozměrů, které využívá kombinaci technologie kolorimetrické a spektrofotometrické. Proto je umožněno získat spolehlivé výsledky měření. Jeho hlavní výho-

dou oproti předchozí verzi je v době detekce hodnot, neboť využívá jeden kombinovaný nástroj namísto dvou oddělených. Obvyklé nevýhody všech výše uvedených zařízení spočívají v tom, že detekují malou oblast měření, např. měřicí plocha pro *Chromametr Minolta* je pouze 3 mm, u ostatních zařízení jsou většinou v rozmezí od 5 do 8 mm. Proto je potřeba vždy provést opakovaná měření, zejména u větších oblastí, tak aby bylo dosaženo přesných měření. Navíc zařízení vyžaduje kontakt s pokožkou, což může způsobit změnu barvy kůže, zejména pokud je aplikována příliš velká tlaková síla. Další z okolností, které může způsobovat odchylku měření je vliv okolního osvětlení. Společnosti těchto zařízení např. *DSM II Colormeter*, však tvrdí, že zdroj světla, který v zařízeních používají je dostatečně silný na to, aby překonal a vyrovnal rozdíly.[7]

Spektrofotometrická intrakutánní analýza (SIA) se zabývá barevnými daty čistě ve viditelném spektru. Bylo popsáno, že daný postup není dostatečný k získání informací o hlubších strukturách lézí. Je zapotřebí rozšíření spektra použitého světla do infračervené oblasti (700–1000 nm). SIA je aplikována klinickým přístrojem *SIAscope*, jenž obsahuje sondu (12 × 12 mm nebo 24 × 24 mm), využívá záření v rozmezí 400–1000 nm a produkuje 8 úzkopásmových spektrálně filtrovaných snímků pokožky, které jsou poté zpracovány softwarovými algoritmy a je generována vizualizace a kvantifikace melaninu, kolagenu a krve. Tato metoda byla vyvinuta zejména pro diagnostiku rakoviny kůže, avšak může být použita i k monitorování změn v odezvě na léčbu.

Kamerové systémy. Pro snímání barevných hodnot je nejčastěji využívána 3D kamera *Eykhona*. Nicméně její nevýhodou je skutečnost, že ačkoli jsou náklady na pořízení samotného systému poměrně nízké, vyžadují jednorázové terčíky, které musí být umístěny kolem oblasti zájmu při pořizování snímku, tak aby bylo zaručen kvalitní a přesný výsledek. Tento spotřební materiál je ovšem poměrně drahý a jeho cena se pohybuje okolo 2 000 Kč za 25 kusů. Společnost nicméně deklaruje, uvedení na trh znovu použitelnou variantu.[4, 5]

Velkoplošná spektrofotometrie řeší jeden ze dříve zmíněných problémů. Ve studiích byl popsán proces překonání malých měřicích oblastí tím, že byly použity kamerové systémy, čímž byla umožněna detekce větších ploch. V jedné z publikací využívali digitální fotografie pořízené digitálním fotoaparátem *Nikon D70s* (Tokio, Japonsko) a to pod stálým světelným zdrojem o stejné hodnotě, získané hodnoty L^* a^* b^* pro měřenou oblast zájmu, byly zpracovány pomocí programu *Adobe Photoshop* (Adobe Systems Incorporated, San Jose, CA). Korelace u opakovaně naměřených dat L^* a^* b^* se pohybovala v rozmezí 0,95–0,99 a vykazovala tak velice kvalitní výsledky.

Další významná metoda spektrálního modelování využívá standardizované digitální zobrazování (SDZ). Počítač řízeně spravuje úhel a výkon osvětlení pro kvantifikaci barevných změn. Tento systém umožňuje analyzovat velkou plochu pokožky s pouze o něco slabší přesností oproti dříve uvedeným systémům. Tato metoda se však teprve stává komerčně dostupnou. Nicméně k dispozici je obdobný systém tzv. *Scanoskin* (Leniomed Ltd, Londýn, Velká Británie). Ten využívá polarizované světlo, které má tu výhodu, že blokuje odrazivost od pokožky, to umožňuje lepší analýzu epidermálních a povrchových dermálních vrstev. Systém je v současné době pou-

žíván pouze k posouzení hloubky popáleniny, pomocí zobrazování hemoglobinu, hemosiderinu³ nebo melaninu.

Počítačová analýza digitálních fotografií je další způsob jak získat data barevných hodnot. Digitální fotografie, lze pořídit libovolným standardním digitálním fotoaparátem, např. fotoaparát *Nikon 8400*. Fotografie jsou pak staženy k analýze pomocí proprietárních softwarových balíčků, jako je *KS400* (Kontron Electronic GMB, Carl Zeiss Micro-Imaging, Inc., Thornwood, NY, USA) nebo volně dostupný *ImageJ*. Fotografie, které jsou pořízeny pomocí speciálně upravené zrcadlovky a polarizovanými čočkami jsou zpracovávány dodávaným softwarem, který je rozdělí na samostatné komponenty erytému a melaninu. Jejich kvantifikaci je třeba provést na exportovaných snímcích pomocí softwaru *ImageJ*. Tato metoda je však stále na počátku, nicméně výsledky objektivních měření pigmentace kůže jsou povzbudivé, prozatím vycházejí z relativně malého počtu studií a je stále zapotřebí dalšího výzkumu. Jedna studie využila umělou neuronovou síť k provedení chromatické analýzy digitálního obrazu jizev. Bylo prokázáno, že měření barvy pomocí ImageJ je ekvivalentní k získaným měřením z *Chromametry* (Konica-Minolta).[8, 9]

Několik studií se pokusilo zlepšit objektivitu fotografické analýzy kůže standardizujícími faktory, jako je vzdálenost a osvětlení nebo pomocí počítačových systémů pro snímání obrazu. Tato metoda však neumožňuje objektivní porovnávání kožní pigmentace, protože ve výzkumech nebyly přesně specifikována kritéria pro měření a analýzu barev. U fotografií dle příslušných studií, bylo prokázáno, že mají omezené uplatnění při detekci kožních parametrů. Novější počítačové programy mohou překonat omezení lidského mozku a poskytnout objektivní analýzu digitálních fotografií, avšak nemohou správně „vidět“ barvu, proto musí být barevné informace převedeny na digitální data, čímž dochází ke ztrátě cenných informací.

Počítačové systémy využívají dvě metody k analýze barev. Metoda barvení odstínu (HSV) analyzuje barvu tím, že ji rozdělí na tři hlavní složky: odstín (dominantní vlnová délka), sytost (množství bílé) a hodnota (množství černé barvy). Druhá metoda je založena na barevných modelech, využívány jsou zejména dva: model červený, zelený a modrý (RGB) a model azurová, purpurová, žlutá a černá (CMYK).

Pokud je potřebné odstranit vliv okolního světla u fotoaparátu, obvykle je žádoucí umístit do prostoru, kolem oblasti zájmu, předem definovanou barevnou paletu, tím jsou zaručeny stejné podmínky pro každou pořízenou fotografii, která bude obsahovat informaci známých okolních barevných vlastností.

Počítačová analýza má velký potenciál ve zpracování barevných dat. V dnešní době existuje velká řada prostředků, které se zabývají zpracováním obrazu. Ideálním řešením by byla kombinace fotoaparátu z mobilního telefonu a následně zpracování obrazu v aplikaci, která by poskytla hodnotná data v oblasti detekce parametrů kůže. Důležitým kritériem by muselo být správné definování okolních podmínek, aby byly zajištěny konstantní parametry snímání.

³Forma bílkoviny, charakteristická žlutohnědým zbarvením.

Tabulka 1: Komerční přístroje z hlediska výrobní společnosti

Přístroj	Společnost
Počítačová analýza barev (1)	Sony a Adobe Photoshop
Počítačová analýza barev (2)	Nikon a Adobe photoshop
Labscan XE	Hunterlab
Eykona 3D camera	Fuel 3D
Colorimeter	Courage + Khazaka
Mexameter	Courage + Khazaka
Dermaspectrometer/DSM II Colorimeter	Cortex
SDI + Spektrální modelování (SpM)	Výroba na zakázku

Tabulka 2: Komerční přístroje z hlediska měřícího parametru

Přístroj	Parametr
Počítačová analýza barev (1)	HSV, CMYK
Počítačová analýza barev (2)	$L^*a^*b^*$
Labscan	$L^*a^*b^*$, odstín
Eykona 3D camera	$L^*a^*b^*$
Colorimeter	$L^*a^*b^*$, barevný úhel
Mexameter	index melanin, erytém
Dermaspectrometer/DSM II Colorimeter	Index melanin, erytém, $L^*a^*b^*$
SDI + Spektrální modelování (SpM)	koncentrace hemoglobinu a melaninu

Tabulka 3: Komerční přístroje z hlediska ceny

Přístroj	Cena
Počítačová analýza barev (1)	150 000–300 000 Kč
Počítačová analýza barev (2)	-
Labscan	>300 000 Kč
Eykona 3D camera	<150 000 Kč
Colorimeter	150 000–300 000 Kč
Mexameter	<150 000 Kč
Dermaspectrometer/DSM II Colorimeter	<150 000 Kč
SDI + Spektrální modelování (SpM)	<150 000 Kč

Další z možností jak měřit množství hemoglobinu nebo erytému, je nepřímá a to pomocí laserového zobrazování, které je schopno snímat tyto parametry měřením průtoku krve. Laserové metody mají tu výhodu, že jsou rychlé, reprodukovatelné a mají obstojnou korelaci s VSS, nicméně při jejich použití, kůže podléhá strukturálním změnám a dochází ke kolísání tělesné teploty.

Laserové dopplerovské zobrazování (LDI), LSP (*Laser Speckle Imaging*) a laserové spektrofotometrické zobrazování (LSPI) fungují na podobném principu s rozdílem velikosti snímané plochy. Systémy laserového Dopplerovského průtokoměru jsou *DRT4* (Moor Instruments, Devon, Velká Británie) nebo *LaserfloBPM* (Vasamedics Corp, St. Paul, Minnesota), využívají jednobodovou sondu, která je v kontaktu s povrchem tkáně a poskytuje jednobodové měření pro nepřímé vyhodnocení barvy. Zejména v případech potřeby odhalit proudění krve přítomné v žaludku. Systémy LDF jsou ve srovnání s jinými metodami založenými na laseru omezenější, jelikož měří průtok pouze v malém prostoru, tím pádem jsou nevhodné pro použití detekce ve větších oblastech zájmu.

Naproti tomu zařízení laserové dopplerovské zobrazování (LDI), jako je *Lisca PIM 1.0* (Lisca Development AB, Linköpen, Švédsko) a *The Moor LDI* (Moor Instruments, Devon, Velká Británie) využívají laserový paprsek ke skenování několika bodů na povrchu tkáně a generují tak 2D barevný obraz, který je korelován s průtokem krve. Používají se především pro hodnocení hloubky kožních abnormalit. Metoda je však zpomalena dlouhými časy měření a nízkým rozlišením. LSPI je alternativní technika pro monitorování perfuze, která generuje rychlé obrazy tkáně s vysokým rozlišením. Při pohybu červených krvinek v krevním oběhu se vytvářejí dynamické interferenční vzorky, které se s časem mění. Mapy krevního oběhu pak mohou být vytvořeny z koherentního světla, které se odráží od stacionární tkáně, což vytváří vysoký kontrastní bodový vzor, který zůstává v čase statický.

Přístroje LSI mají jisté výhody, zejména rychlejší dobu skenování a schopnost přiblížit se vysokým rozlišením menšího zorného pole, což je funkce, která v rámci *LDI* není poskytována. Největší nevýhoda, která je společná všem laserovým zobrazovacím systémům, je jejich objemné řešení, které úzce souvisí s faktem, že nejsou příliš přenosná (s výjimkou nového komerčně dostupného laserového zobrazovacího zařízení vyvinutého Moorovými nástroji), vzhledem k jejich velikosti jsou to často velmi drahé přístroje, přičemž náklady se pohybují nad 890 000 Kč.[10, 11, 12]

Termografická kamera je dalším z objektivních nástrojů pro možné snímání kožních parametrů. Její technologie detekuje záření v dlouhém infračerveném rozsahu elektromagnetického spektra (9–14 μm) a může být použita k vytváření obrazů nebo videozáznamů. Termografii, lze rozdělit na pasivní (kde je objekt zobrazen přímo, protože má vyšší nebo nižší teplotu než pozadí) a aktivní termografii (kdy snímán přímo zdroj energie pro vytvoření tepelného kontrastu mezi zobrazovaným objektem a pozadím). V několika studiích bylo zkoumáno využití metody termografie k posouzení patologických kožních změn. Jedna z nich popsala testování termografické kamery *FLIR SC7000* (FLIR Systems, Wilsonville, OR, USA) v oblasti hypertrofických

jizev a ukázala, že faktory jako svalová aktivita nebo nedostatek tkáně, chrupavky a kosti mohou ovlivnit termografické hodnoty jizvy více než stupeň samotné hypertrofie. Což spíše vylučuje použití termografie k objektivní kvantifikaci jizev.[13]

3 Teoretická část

Pigment kůže je jeden z prvních faktorů, který ovlivňuje lidské životy již od narození, protože definuje její barvu. Kůže patří mezi takovou část těla, která přichází nejvíce do kontaktu s vnějším prostředím, a proto je velice náchylná k tvorbě různých abnormalit, které se časem mohou přetransformovat až k závažným onemocněním, jako je například rakovina kůže.

Proto se tato část diplomové práce zabývá právě problematikou pigmentace, resp. melaninu a možností jejího objektivního měření. V následujících podkapitolách je popsán melanin z fyziologického a patologického hlediska. Dále je zmíněna technická problematika objektivních metod detekce a chyb, které se mohou při měření povrchu vyskytovat. Nedílnou součástí těchto principů je světlo jako takové, které má velký vliv na kompletní proces snímání, proto je závěr této kapitoly věnován popisu světelných veličin, zdrojům a jejich příslušným sensorům.

3.1 Problematika pigmentu a jeho analýza

Jeden aspekt barvy pleti je obecně neatraktivní, jedná se o nerovnoměrný odstín pleti. Změny v barvě kůže, způsobené ztrátou pigmentu (hypopigmentací) nebo jeho nadprodukcí (hyperpigmentace), nejsou ve většině případů příliš populární. Stařecké a pigmentové skvrny, pihy, melasma⁴ nebo depigmentace je jen pár příkladů dyspigmentací považovaných za problematické po celém světě.

Odpovědnost za rozmanitost kožních odstínů nese melanin, který pochází z řeckého slova „melas“, což znamená tmavé nebo černé. Melanin je komplexní biopolymer, který se skládá ze dvou podtypů: eumelanin a feomelanin, ale přesná chemická struktura zůstává dosud neznámá. Eumelanin má tmavě černohnědou barvu, zatímco feomelanin je barevně označován jako žlutý nebo načervenalý. Kromě kůže se melanin vyskytuje také ve vlasech a pigmentovaném epitelu pod sítnicí oka a několika jinými tkáněmi. Melanin se vyskytuje také u zvířat, rostlin a hub. Přisuzuje se mu několik funkcí, včetně maskování, vylučování volných radikálů a neutralizace bakteriálních toxinů, ale nejobvyklejší je ochrana před škodlivým a mutagenním UV zářením.[14]

V kůži je melanin syntetizován speciálními buňkami bazální vrstvy epidermis melanocyty. V melanocytech je syntéza melaninu uzavřena v organelách, tzv. melanosomech. Melanocyty jsou dendritické buňky, jejichž prodloužení dosahuje až mezi okolní buňky epidermis (keratinocyty) pro přenos melanosomů. Přesný mechanismus tohoto přenosu zůstává dosud neznámý, ovšem v některých publikacích jsou zmíněny hypotézy o pohlcování fagocytózou. Přenesené melanosomy jsou rozptýleny v cytoplazmě keratinocytů, aby se chránily před UV zářením. Vzhledem k tomu, že množství melaninu přítomného v keratinocytech klesá směrem k horní vrstvě epidermis, předpokládá se, že melanin je nějakým způsobem degradován. Vzhledem k výjimečné složitosti biopolymeru jsou v úvaze pouze silná oxidační činidla, z nichž většina je neslučitelná s buněčnou

⁴Kožní abnormalita, charakteristická tmavým zbarvením, většinou u těhotných žen v oblasti dolních končetin.

vitalitou. Jediným činidlem určeným pro intracelulární lokalizaci a degradaci melaninu je peroxid vodíku, který může vzniknout v keratinocytech pomocí NADPH-oxidázy⁵.

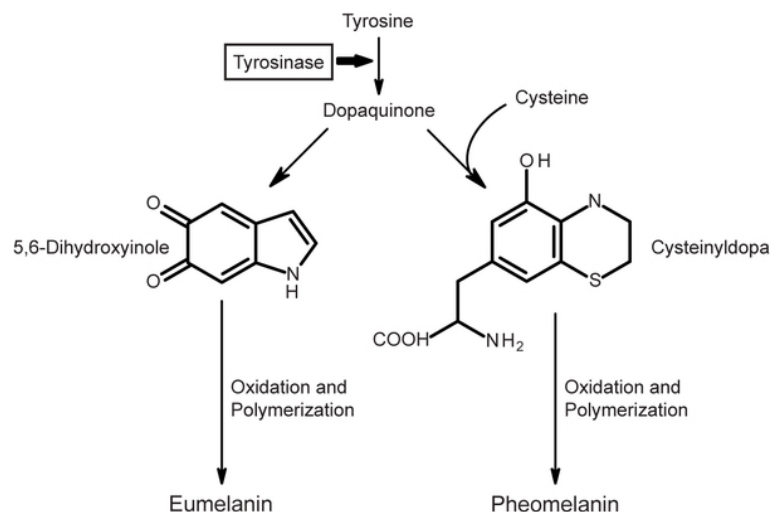
Předpokládá se, že barva pleti závisí na typu a množství melaninu syntetizovaného melano-cyty, stejně jako na jeho distribuci a degradaci v epidermis. Podrobné vyšetření melanozomů z této oblasti kůže a keratinocytů u různých fenotypů, normální a hyperpigmentované kůže (sta-řecké skvrny) by mohlo poskytnout základní znalosti pro pochopení rozhodujících faktorů ve vnímání její barvy. Zejména pak ve spojitosti s vývojem a spouštěcími faktory hyperpigmentace. Důkladné pochopení těchto procesů je nezbytné pro identifikaci potenciálních cílů kosmetického vlivu na pigmentaci kůže. Výsledkem by mělo být nalezení účinných prostředků na opalování a bělení, které vytvářejí přirozený tón pleti a to bez škodlivých vedlejších účinků.

Barva lidské pokožky je bohatá na fenotypy, od téměř černé až po růžovou. Obecně platí, že barva pleti koreluje s geografickou polohou, s latencí a výslednou expozicí slunci. Globalizace a kulturní výměna však vedly k širokému spektru odstínů pleti. Tyto jsou dále diverzifikovány mnoha extrémními a endogenními vlivy, jako je sluneční záření, hormony nebo jiné environmen-tální faktory. Geneticky stanovená úroveň pigmentace, vyjma všech ostatních vlivů, se označuje jako konstitutivní. Na druhé straně indukovaná úroveň pigmentace se nazývá fakultativní.

Dva hlavní biologické pigmenty, které představují barvu pleti jsou hemoglobin a melanin. První jmenovaný je v mikrokapilární síti dermis a poskytuje pokožce červenavý odstín, přičemž intenzita zbarvení se mění s průtokem krve. Melanin je naopak syntetizován v epidermis a zů-stává v epidermálních buňkách. Krátkodobé změny nejsou možné, ačkoliv exogenní a endogenní faktory mohou vyvolat přechod v úrovni pigmentace během několika dní.[15]

Dvě hlavní skupiny melaninů převládají v lidské pokožce a představují různé barevné odstíny. Tmavě hnědý až černý eumelanin je nerozpustný v kyselině a zásadě, pomalým procesem produ-kuje pouze silná oxidační činidla, jako je peroxid vodíku. Na druhou stranu je považován za silné redukční činidlo. Eumelanin je tvořen primárně ze dvou typů monomerů, 5,6-dihydroxyindolu a 5,6-dihydroxyindol-2-karboxylové kyseliny jak je zobrazeno na následujícím obrázku (Obrá-zek č.2). Eumelanin má obecně absorpci v rozsahu 200–2400 nm bez jakýchkoliv charakteris-tických maxim, na druhou stranu v infračerveném spektru, rozmezí 2,5 až 10 μm vykazuje absorpční maxima 3 μm a 6 μm . Druhá skupina melaninů se nazývá feomelanin (Obrázek č. 2), žlutý až červenohnědý pigment. Je tvořen modifikací dráhy syntézy eumelaninu za přítom-nosti cysteinu, který má vysoký obsah síry (9–12 %) a dusíku (8–11 %). Eumelanin naopak obsahuje 6 až 9 % dusíku, avšak téměř žádnou síru (0–1 %). A na rozdíl od eumelaninu vyka-zuje feomelanin rozpustnost v alkalických roztocích. Femolyminový polymer opět obsahuje dva hlavní monomery benzothiazinylalaninu, které jsou vzájemně propojeny stejným způsobem jako eumelaninové monomery.

⁵Enzym, který je důležitým zdrojem oxidantů ve fagocytárních i nefagocytárních buňkách.



Obrázek 2: Monomery eumelaninu a feomelaninu. Převzato: <https://qph.fs.quoracdn.net>.

Melanocyty jsou dendritické buňky, které pocházejí z neurální lišty a migrují do kůže během embryonálního období. Jsou umístěny v bazální vrstvě epidermis. Jejich dendrocyty se dotýkají keratinocytů nejen ve stratum basale, ale sahají až do poloviny stratum spinosum. Každý melanocyt je spojen s 30–40 keratinocyty a je dodáván pigmentem. Tato funkční symbióza se nazývá epidermální melaninová jednotka. Kvantita funkčních melanocytů v epidermis je víceméně konstantní, ale s postupným věkem se jejich počet snižuje.

Mikroskopicky lze melanocyty odlišit od keratinocytů, dle následujících charakteristik: obsahuje cytoplazmu s bledými barvivy, je bez keratinových vláken, nedostatekem desmosomálních spojení se sousedními keratinocyty, tvarem připomíná oválné jádro a přítomností charakteristických pigmentových granulí. Tyto pigmentové granule - melanosomy, jsou lysozomové organely, které nesou syntézu melaninu. Produkce pigmentu je spuštěna a regulována množstvím různých faktorů, přičemž nejdůležitějším z nich je radiční UV záření, může být ovšem ovlivněno i hormony, jako je hormon stimulující melanocyty β -endorfin a dalšími faktory. Ačkoli produkce melaninu je omezena na melanocyty, keratinocyty poskytují stimulační faktory a určují poměr eumelaninu a feomelaninu v syntetizovaném pigmentu.

Melanosomy představují organelu příbuznou lysozomu, která je od endosomů a lysozomů rozpoznatelná, přestože sdílí několik společných charakteristik, jako je přítomnost lysozomálních proteinů a nízké lumenální pH. Melaninové prekurzory a meziproducty biosyntézy, tj. fenoly, chinony a indoly, jsou vysoce oxidujícími činidly, které ohrožují buněčné složky melanocytů. Syntéza melaninu se proto od určitých melanosomů odděluje.

Melanozomální biogeneze zahrnuje čtyři vývojové fáze, které se mírně liší v závislosti na typu syntetizovaného melaninu. V počátečním stadiu jsou eumelanosomy a feomelanosomy více či méně sférické vakuoly vznikající z endosomálních organel, které obsahují špatně organizované strukturální proteiny, pravděpodobně shromážděné v endoplazmatickém retikulu. Melanogenní enzymy, jako je Pmel17, tyrosinasa a tyrosinázový protein 1 (TRP-1), jsou dodávány ze sítě

trans Golgi (TGN z anglického *trans Golgi network*).

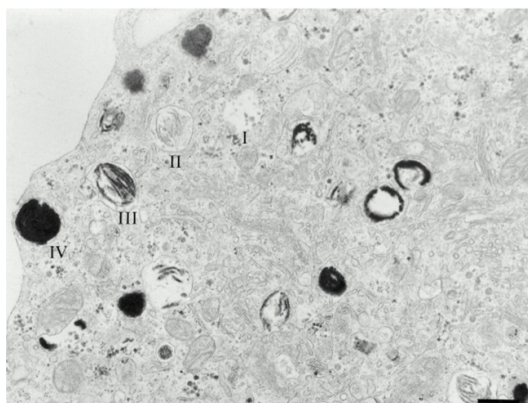
Pmel17 a TRP-1 fúzíjí s předem připravenými premelanosomy, což je označováno jako fáze I, ale zůstávají neaktivní až do pozdějších fází vývoje melanosomů. Ve fázi II se eumelanosomy staly eliptickými a vnitřní struktura se kondenzuje tak, aby byly vytvořeny lamelární proužky.

Ty jsou charakterizovány vlákny bez membrán a jejich tvorba je řízena proteinem Pmel17, který je aktivní převážně v tomto stadiu. Tyrosinasaová aktivita, TRP-1 a TRP-2 byla detekována až ve III. fázi, kdy byla projevena i syntéza melaninu. Pravidelné ukládání melaninu je pozorováno ve formě podélných pruhů. Intraluminální struktura je postupně zakryta a organela je naplněna pigmentem, dokud ve fázi IV melanosomy nevypadají jako vysoce melanizované struktury viz (Obrázek č. 3). Feomelanosomy zůstávají sférické, méně organizované a bez lamelární struktury.

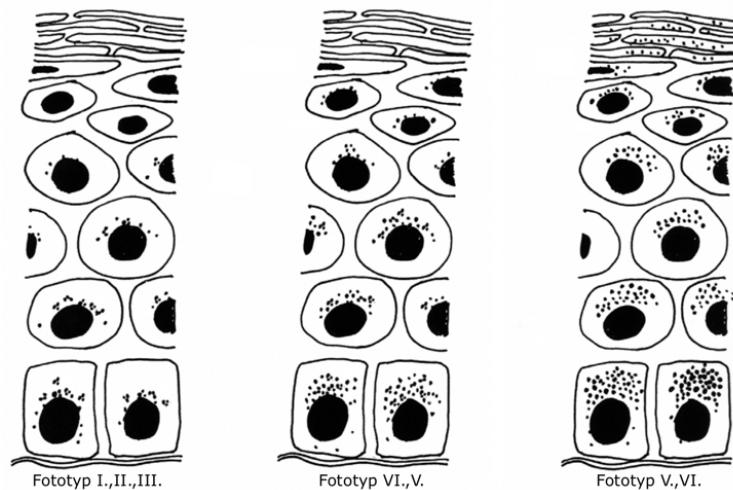
Po přenesení do keratinocytů se melanosomy skládají převážně do apikálního pólu jádra, což je opět usnadněno přenosem mikrotubulů. Melanin účinně absorbuje a rozptyluje dopadající UV záření a poskytuje ochranu před mutagenním poškozením. Strukturální uspořádání melanosomů v keratinocytech se mění podle typu kůže. V tmavé kůži melanosomy měří přibližně 100–250 nm podélně a až 100 nm napříč. Jsou zobrazeny jako jednotlivé organely v celé cytoplazmě. Světlé typy pleti obvykle vykazují menší melanosomy (50–150 nm podél, 50–80 nm napříč), oválný tvar je výraznější než v tmavé kůži.

U všech typů pleti se většina melanosomů vyskytuje u bazálních keratinocytů a jejich počet směrem k povrchu pokožky klesá. Zatímco u fototypu I až III zanikají melanosomy velice brzy u typu IV a V jsou pozorovány po celé délce epidermis, jak je zobrazeno na následujícím obrázku (Obrázek č.4).

Konstitutivní úroveň pigmentace může být ovlivněna několika faktory, ty většinou vedou ke zvýšení pigmentace, příkladem je opalování, nebo proces opačný, tzv. bělení kůže. Melanocyty reagují na různé vnější faktory, včetně hormonu stimulujícího melanocyty, několika růstových faktorů a cytokinů. Nejdůležitějším stimulačním faktorem je však slunce nebo přesněji UV záření. Na jedné straně UV záření indukuje aktivitu tyrosinázy, což vede ke zvýšení tvorby pigmentů,



Obrázek 3: Ukázka struktury melanosomů ve stádiu I–IV.



Obrázek 4: Distribuce melanosomů v epidermis u fototypu I–VI.

na druhé straně spouští přenos již existujících melanosomů na sousední keratinocyty vyvoláním fagocytózy. Navíc existující melanosomy jsou redistribuovány po celé epidermis a posunují se ze stratum basale do horních vrstev, což dočasně snižuje obsah melanosomů ve stratum basale o cca. 10 %. Účinky opalování mohou být také dosaženy kosmeticky pomocí umělých činidel. Tyto látky obvykle obsahují dihydroxyaceton, který pouze znečišťuje vnější vrstvy stratum corneum, ale obsah melaninu v pokožce zůstává nezměněn.

Opalování ovšem není vždy žádoucí: hyperpigmentační poruchy a různé lidské ideály vytvořily potřebu kosmetických, depigmentačních přípravků. Depigmentace může být dosažena ovlivněním transkripce a aktivity melanozomálních enzymů, interferencí s mechanismem přenosu melanozomů na keratinocyty, nebo ovlivněním systému odbarvování melaninu a přeměnou pigmentovaných keratinocytů. Většina dostupných bělicích přípravků, je založena na snížení syntézy melaninu. V ostatních případech jsou dány buď snížením přenosu melanozomů na keratinocyty, jako například niacinamid, nebo odstraněním pigmentovaných keratinocytů na povrchu kůže.

Pigmentace pokožky vykazuje rozdíly mezi různými oblastmi těla v závislosti na průměrné expozici slunečnímu záření příslušných částí. Například, obličej a předloktí obecně vypadají pigmentovanější, než neexponované oblasti jako jsou hýždě. Kromě toho ani malé oblasti kůže nejsou rovnoměrně pigmentované, ačkoli se z hlediska makroskopického mohou zdát homogenní. Za poruchy hyperpigmentace, lze považovat pihy, melazmy, post-zánětlivé hyperpigmentace a stařecké skvrny. Vitiligo představuje hypopigmentační poruchu charakterizovanou postupnou ztrátou nebo dysfunkcí melanocytů v kůži. Jizvy se také jeví jako bledší než okolní kůže, zde je ovšem počet a aktivita melanocytů, a tím i pigmentace srovnatelná se zdravou kůží. Příčina této bledosti je spíše dána vaskulárními a optickými faktory postižené oblasti.

Lentigo je definováno jako malá pigmentovaná léze s typickým rozměrem 1–5 mm. Makroskopicky se mnoho lézí nerozlišuje, např. pihy a stařecké skvrny se vyskytují ve stejné oblasti

těla vystavené slunečnímu záření, tj. tvář, zadní část rukou a předloktí. Mikroskopicky se obě vyznačují zvýšenou pigmentací v stratum basale a variabilním počtem melanocytů, lze však popsat i několik histopatologických rozdílů. Pihy často postihují osoby se světlou kůží, zejména ty se zrzavou barvou vlasů. Kromě hyperpigmentace v stratum basale se kůže nezmění a počet melanocytů je normální.

Stařecké skvrny, nebo lentigo senilis, postihují většinou lidi středního a staršího věku. Jejich distribuce není rovnoměrná a množství s postupem času roste. Počet melanocytů se také zvyšuje. Melanosomy jsou četné nejen v stratum basale, ale i v epidermis. Navíc jsou pozorovány ultrastrukturální modifikace, včetně melanocytů, které klesají do dermis pod keratinocyty. [[16, 17, 18]

3.2 Měření barevného povrchu

Kůže není homogenní povrchová struktura. Vždy záleží na metodě a místě snímání. Příkladem lze poukázat na problematiku mastnoty a vlhkosti pokožky, které se liší právě od místa měření. Tyto fyziologické procesy ovlivňují lesk pokožky a tím i výsledná data. Stejně tak jako vlasy, krevní cévy, skvrny a jizvy. Odraz od kůže je ovlivněn všemi výše uvedenými faktory, což vede k nesprávnému měření barev a významným změnám v odrazivosti. Proto je nutné pečlivě vybírat místa z kterých bude detekce provedena. Pro správnost dat se doporučuje měření opakovat a to několikrát na stejné oblasti zájmu.

Pokud jde o měření erytému, je třeba mít na paměti, že výstupy jsou dány velikostí průtoku krve v dané oblasti. Tyto parametry mohou být ovlivněny mimo jiné kompresí. Na měřicí hlavu nesmí být vyvíjen příliš vysoký nátlak při kontaktu s pokožkou, a zároveň by měl být dodržován ideálně kolmý úhel hlavice k povrchu kůže, aby byla eliminována rozdílná reflektance vycházející ze světelného zdroje.

Objektivní metody pro detekci erytému, vzniklého působením ultrafialového záření využívají principu snímání intenzity odraženého světla. Takové přístroje jsou nazývány dermaspektrometr a erytemametr. Ty se zaměřují na zánětlivý proces pokožky, kdy dochází k rozšíření cév a nárůstu počtu erytrocytů. Jelikož při emitování bílého světla na zánětlivé místo dochází pouze k absorpci spektra zeleného a nikoli červeného, může rovnicí definovat erytemový index a to následovně:

$$EI = \log_{10} R_r - \log_{10} G_r \quad (1)$$

, kde EI je značení pro erytemový index, R_r je velikost odraženého červeného světla a G_r je hodnota reflektovaného světla zeleného.

Snímání melaninu je komplikováno poměrně podobnou absorpcí zeleného i červeného světla, proto je celý systém fokusován pouze na absorpci červeného světla. Index melaninu je dán následujícím vztahem:

$$IM = \log_{10} R_r \quad (2)$$

, kde IM je značení pro melaninový index, R_r je velikost odraženého červeného světla od povrchu.

Hlavním modulem dermaspektrometru je senzor, který obsahuje LED emitující zelené i červené světlo, které po odrazu dopadá na fotodetektor, kde dochází k detekci a zpracování přijaté informace, přes A/D převodník a mikroprocesor jsou výsledné hodnoty indexu melaninu a erytému zobrazeny na displeji.

V případě Erytemometru je konstrukce přístroje velice podobná, místo diod však využívá wolframové halogenové lampy. Toto zařízení, které mělo hmotnost okolo 6 kilogramů bylo v posledních letech nahrazeno novějším modelem *TLS80*, který používá novou metodu patentovanou společností Dia-Stron. Úzký světelný paprsek ze zdroje RGB LED osvětlí vzorek. Průsvitné materiály rozptylují světlo ve snímaném vzorku a část tohoto rozptýleného světla se vrací zpět do sondy. Celkové množství detekované hodnoty sondou zajišťuje technologie *FOP*. Jde o optická zařízení složená ze svazku velice malých optických vláken v řádech mikrometrů. Používá se jako čočka pro přenos světla nebo obrazu s vysokou účinností a nízkým zkreslením. Na rozdíl od běžné optické čočky není vyžadována žádná zaostřovací vzdálenost. Je tedy ideální pro navrhování a budování kompaktních optických zařízení.

Nástroje pro měření barevného povrchu mají široký rozsah využití zejména v oblasti zpracování průmyslových výrobků. Při kterém je neméně důležité zaznamenat povrchová zbarvení, která jsou pouhým lidským okem jen těžko rozpoznatelná a balancují tak na hraničním limitu $0,5 E_{ab}^*$ CIELAB jednotek. Základní ideou je schopnost měřit absolutní spektrum, jak nejpřesněji je to možné. Existují dvě hlavní odvětví technických nástrojů pro měření barevného povrchu, kolorimetrické a spektrofotometrické. První zmíněné jsou trichromatické zařízení, které využívají zdroj světla a funkci přiřazení barev, ty jsou simulovány pomocí barevných filtrů v kombinaci s fotodetektorem. Druhé zmíněné, tedy spektrofotometrické jsou považovány za metody přesnější, jelikož měří spektrální odrazivost jednotlivých vzorků. Její nevýhoda však tkví v rychlosti. Je považována za pomalejší než metoda kolorimetrická a kvůli její citlivosti vůči vibracím a dalším environmentálním požadavkům není možné ji využít mimo laboratorní podmínky. Tyto negativa z části vyvrací konstrukce bez snímacích spektrofotometrů, které jsou založeny na využití diodových detektorů.[21, 19]

3.2.1 Chybovost při měření barevného povrchu

V rámci této kapitoly není možný popis všech technických detailů z hlediska chybovosti, proto bude uvedeno několik z nich nejdůležitějších. Jedním z možných zdrojů chyb je světlo. Světelný zdroj, který by byl srovnatelný se sluncem neexistuje. Většina umělých světelných zdrojů vyzařuje nekontinuální pásy z celého spektra světla, to může vyvolat metamerismus. Například filtry použité ve Chromametri nejsou přesně monochromatické. Zejména na okraji vlnového pásma absorpce, existují odchylky ve filtrační kapacitě, které mohou vést k nesprávnému měření barev. Úhel měřeného objektu, v našem případě kůže, určuje stupeň odrazu, který negativně ovlivňuje barevnou analýzu odraženého světla.

Dalším zdrojem chyby je metoda zapřičiňující změnu barevné variability. U erytému indukovaného UV zářením může docházet při tlaku přístroje k ztrátě červeného zabarvení kvůli kapilární kompresi a akumulaci extracelulární tekutiny. Časový úsek indukce UVA a UVB je odlišný, okamžik měření je tudíž kritický. Pokud jsou na jednom místě vyžadována další měření, je třeba pečlivě umístit hlavici přesně na stejné místo, které bylo zvoleno pro předchozí měření. Posun o několik milimetrů od místa detekce, může zcela změnit vlastnosti snímání. Nedostatek standardizace při výrobě různých kolorimetrů povede k velice odlišným a nesrovnatelným výsledkům měření. V případě detekce pouze jedním přístrojem je reprodukovatelnost obvykle velmi vysoká, a to zejména v případě, kdy dochází k měření stejného objektu na stejném místě. Zde jsou popsány hlavní kvalitativní chyby měření povrchové barvy. Aby bylo možné docílit přesných výsledků je potřebné stanovit a opravit chyby měření. Zde je jejich výčet:

- aproximace výsledků,
- zaokrouhlováním,
- fotometrická nelinearita,
- nesprávnost nulové úrovně (offset),
- zesilovačem, vzorkovačem atp.

Celý problém chyb se týká přesnosti měření a porovnání hodnot naměřené zařízením a hodnotě skutečné. Proto jsou měřicí přístroje vybaveny označením třídy přesnosti, která indikuje kvalitu měření. Většina používaných zařízení, které se vyskytují v dražší třídě přístrojů dosahují vyšší přesnosti než levnější varianty. Nejistota zase určuje rozsah hodnot, kde by se měly vyskytovat naměřené hodnoty, tak aby mohlo být měření považováno za přesné. Chybu měřicího přístroje můžeme jednoduše popsat jako rozdíl mezi naměřenou hodnotou a skutečnou. Problém vzniká při stanovení přesné skutečné hodnoty. Toho lze dosáhnout použitím různých standardů, které ovšem nejsou běžně k dostání. Některé standardy představují komplexní struktury s přesně definovanými parametry. Takovými standardy mohou být například etalony.

Chyby lze rozdělit na absolutní a relativní. Jejich výpočet je dán následujícími vzorci:

$$\Delta_x = x_m - x_s \quad (3)$$

kde: Δ_x je znakem chyby absolutní, x_m - hodnota naměřená, x_s - hodnota skutečná.

Relativní chyba - δ_x , vychází ze znalosti chyby absolutní, kdy je stanovena poměrem s hodnotou x_s a je udávána v procentech, dle následujícího matematického vyjádření:

$$\delta_x = \frac{\Delta_x}{x_s} = \frac{x_m - x_s}{x_s} \times 100 \text{ [%]} \quad (4)$$

Dále můžeme chyby dělit podle toho zda vznikají náhodně či systematicky. V případě, že dojde k zaznamenání stejné chyby opakovaně, či lze její výskyt předvídat, hovoříme o chybě systematické, která je odstranitelná, pokud známe její původ. Příčinou může být špatně nastavený offset, v průběhu zesílení, nebo chybou metody, kdy dojde k zanedbání postupu měření. Druhou zmíněnou je chyba absolutní, její vznik je dán náhodně a nelze ji tak předvídat, možným řešením je pouze statistická metoda, kde se využívá zejména pojem směrodatná odchylka, což představuje rozptyl naměřených výsledků.

Dále je možné hovořit o již výše zmíněné nejistotě, dělí se podle typu na A či B. Ty jsou považovány za tzv. standardní nejistoty. V prvním případě, tedy nejistoty A jde o takovou hodnotu, kterou je možné naměřit v případě opakovaných měření za stejných, stabilních podmínek nebo pomocí statické analýzy. V momentě, kdy je využito k měření pouze okolní světlo, není možné tyto podmínky dodržet, protože denní osvětlení se s časem mění. Proto v takových případech mluvíme o nejistotě typu B. Ta je získávána pouze pokud je známá příčina, nebo v momentě, kdy nezávisí na počtu opakovaných měření, využívá se pro vyhodnocení nepřesnosti snímání, naopak pro typ A je typické, že s narůstajícím počtem měření hodnota nejistoty klesá. Standardní nejistota je označována písmenem u a pro výpočet kombinované nejistoty je využito vztahu

$$u = \sqrt{(u_a^2 + u_b^2)} \quad (5)$$

, kde dolní index u_{ab} znázorňuje typ nejistoty.

Pro následný popis se v literatuře objevuje pojem rozšířená standardní nejistota, která umožňuje zvýšit pravděpodobnost správné, výsledné hodnoty. Je dána k -násobkem u .

$$U = k \times u \quad (6)$$

Problematické jsou samy o sobě komponenty, které upravují signál přímo v přístroji, takovým příkladem může být zesilovač signálu, vzorkovač, nebo filtrace. Výstupní hodnoty pak ovlivňuje jejich zpracování, kdy v některých případech může dojít k pochybení u aproximace, linearizace atp. Pro stanovení jednotlivých typů nejistot je dodržována specifická metodika. Jak již bylo popsáno výše pro typ A je při opakovaných měřeních získáno několik údajů n , které se využívají pro výpočet směrodatné odchylky výběrového rozptylu, matematické vyjádření je tedy následovné

Tabulka 4: Tabulka koeficientů

n	k
2	7
3	2,3
4	11,7
5	1,4
6	1,3
7	1,3
8	1,2
9	1,2č

$$u_a = s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{1}{n \times (n - 1)} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (7)$$

kde x znázorňuje naměřené veličiny a \bar{x} je výběrový rozptyl. Podmínkou pro dosažení kvalifikovaného odhadu nejistoty je zapotřebí minimálně 10ti opakování, pokud tato podmínka není splněna je doporučena tabulka 4 s koeficienty. Podle počtu měření je výsledek právě s tímto koeficientem vynásoben, dle vztahu

$$u_{ak} = k \times u_a \quad (8)$$

Metodika pro typ B je odlišná. V první řadě se určí pravděpodobné zdroje nejistot, následně se nastaví meze možných odchylek a maximální přípustná chyba, ta je definována příloženou dokumentací přístroje a je označena jako z_{max} . Poté se postupuje statistickou analýzou a stanoví se pravděpodobnost rozdělení odchylky pomocí Gaussova, rovnoměrného nebo trojúhelníkového rozdělení. Výsledkem je hodnota relativní standardní nejistoty.

$$u_b = \frac{z_{max}}{\chi} \quad (9)$$

Často se používá Gaussovo rozdělení, to sděluje, zda se 95 % výstupních hodnot nachází v intervalu nejistoty daného zařízení, která byla nastavena, tomu odpovídá hodnota U jak bylo uvedeno ve výrazu č. 6. Ostatních 5 % může přerůst přes její hranici této hodnoty. Rovnoměrné rozdělení, lze použít v případech, pokud existuje stejná pravděpodobnost přítomnosti odchylky v určitém intervalu. Použití trojúhelníkového rozdělení je v případech, kdy je zdrojem nejistoty takový nástroj, který by měl být dle výrobce spolehlivý, a lze u něj očekávat, že bude s malými chybami.

Různé specifické zdroje nejistot, lze provést odhadem. To je umožněno pouze kvalifikovanému odborníkovi, který své rozhodnutí podloží vždy výpočtem, tak aby v případě určitých rozdílů mezi nejistotami byly zanedbatelné. V rámci kalibračního certifikátu by měla být uvedena hodnota viz rovnice č. 6, výstupní hodnoty měření a využitá metodika k jejich získání.[23]

3.3 Měřicí zařízení pro kolorimetrii

Pro medicínské a vědecké účely bylo vyrobeno několik kolorimetrů. Ty nejpůlárnějši jsou uvedeny v této kapitole.

Přístroj **Labscan 6000®** zkonstruován společností Hunter Associates Inc., má hodnotu odrazivosti 0° a osvětlovací geometrii bez zrcadlové složky 45° . Přístroj je kalibrován dodávaným bílým standardem. Je řízen mikropočítačem *IBM-XT*, který provádí všechny barevné výpočty z digitalizovaných spektrálních dat prostřednictvím programů dodaných přístrojem. Povrch kůže se měří na otevřeném kruhovém otvoru o průměru 30 mm s 26 mm osvětlovací plochou, přičemž modul senzoru je přikládán ve vodorovné pozici. Mohou být získány reflexní spektra v rozsahu vlnových délek 400–700 nm, které vyžadují dobu měření přibližně 3 s. Výstupem jsou přístrojem zobrazena data CIELAB L^* a^* b^* a barevný odstín. Vzhledem k objemu a hmotnosti přístroje není vhodný pro rutinní klinické aplikace.

Minolta Chromameter CR 400® (Osaka, Japonsko) je lehký a kompaktní analyzátor pro měření odražené barvy od objektu. Použitím vysoce citlivých křemíkových fotobuněk, filtrovaných tak, aby odpovídaly CIE standardnímu pozorovateli, zaručuje Chromameter CR 400® velmi kvalitní přesnost a reprodukovatelnost (chyba měření 1 %). Jednotlivé detekce měřicí hlavou jsou zpracovávány vestavěným mikropočítačem a digitálně zobrazována na displeji s tekutými krystaly.

Měřicí hlava obsahuje svůj vlastní standardní světelný zdroj: vysokovýkonnou xenonovou obloukovou lampu, která zajišťuje difúzní osvětlení pod daným úhlem pro konstantní, rovnoměrné osvětlení ve vertikální směru snímání objektu. Komora senzoru je válcová, s kuželovým otvorem směřujícím k povrchu kůže. Tyto dvě části jsou odděleny difúzní deskou s vnitřním kruhovým otvorem o průměru 4 mm. Vnější otvor má 11 mm a odhadovaný průměr oblasti měření je 8 mm. Fotografický přijímač je umístěn v horní části komory a tříčlenná optická soustava se šesti křemíkovými fotobuňkami je umístěna přímo v jednotce sondy, v předchozích variantách byla fokusována až do těla zařízení. Přesný systém měřiče pomocí šesti fotočlánků detekuje jakékoliv nepatrné odchylky v spektrálním rozložení xenonového světla, ty jsou následně kompenzovány počítačem, tím je zajištěna maximální přesnost měření. Ukázka přístroje Minolta Chromameter CR 400® je uvedena na obrázku č. 5.

Chromameter nabízí pět režimů snímání: dva režimy měření barevnosti - Y_{xy} a L^* a^* b^* , a tři režimy měření barevných odchylek (Y_{xy1} , (L^* a^* b^*) a E_{ab}). Hmotnost Minolta CR-200 je 1951 g.

Dr. Lange Micro Color® pochází z německé společnosti Dr. Bruno Lange GmbH. Hodnoty L^* a^* b^* jsou zobrazeny na digitálním displeji. Světelným zdrojem je osvětlení s xenonovým bleskem. V zařízení je komora s kruhovým otvorem o průměru 5 mm směřujícím k povrchu kůže. Měřicí a referenční fotografické přijímače se montují na horní část modulu. Optická vlákna vedou signál do hlavního těla zařízení, které obsahuje šest křemíkových fotobuněk pro analýzu barev (červená, zelená, modrá). Součástí je krátký kabel o délce 600 mm, který propojuje sondu



Obrázek 5: Příklad přístroje Minolta Chromameter CR 400®.

s hlavní části přístroje. Hmotnost celého zařízení činí 6 Kg. Před použitím je nutná kalibrace přístroje pomocí bílých kalibračních matic.

Pro praktickou manipulaci s jednotlivými přístroji je uživatel vždy odkazován na přiložený návod k obsluze.[20]

3.3.1 Oblast využití

Aplikace reflexních chromametrů v klinické praxi a dermatologickém výzkumu je široká a stále se zvětšuje. Nejdůležitější z nich uváděné v literatuře jsou měření:

- erytém vyvolaný UV zářením,
- erytém způsobený dráždivými látkami a kontaktními alergeny,
- účinek kortikosteroidů,
- barva kůže,
- pigmentace indukovaná UV zářením,
- křivky odezvy na dávku UV, která indikuje vznik erytému a pigmentace,
- bělící účinek depigmentačních činidel.

Posouzení citlivosti lidské kůže na UV záření je důležité pro fotochemoterapii, diagnostiku fotodermatózy, fotoaging, fotokarcinogenezi a fotoprotekci. V jedné ze studií byl testován vliv UV záření na vyvolání erytému u 8 probandů. Byly vytyčeny 3 oblasti na ventrální straně levého předloktí, v místech bez ochlupení, patologických změn či zjizvení. Testované oblasti byly vystaveny sérii čtyř simulovaných dávek slunečního záření, po každé aplikaci předchozí dávky byla ta následující zvyšována o faktor dodané energie 22/3. Radiační dávka byla zvolena tak, aby jedna nebo dvě testovací oblasti (ze čtyř) dostali dávku rovnající se jedné minimální

dávce erytému (MED⁶). Aplikovaný sluneční simulátor byl složen z xenonové obloukové lampy s výkonem 1000 W s kolimační čočkou (f/0,7).

Po 24 hodinách byla všechna ozářená místa vizuálně hodnocena dvěma nezávislými vyšetřovateli, dle příslušné subjektivní stupnice, která byla definována v rozsahu 0–3, přičemž 0 byla rovna žádnému znatelnému erytému a maximální hodnota, tedy 3 odpovídala tkáni s indurací či puchýři. Poté byl erytém měřen pomocí chromometru II Reflectance®. Stejně místo bylo měřeno dvakrát v režimu L* a* b*. Hodnota a* je nejlepším indexem pro měření erytému. Což vychází z trojrozměrném diagramu barevného prostoru (CIE 1976), protože symbol * označuje chromatické souřadnice v rozsahu od červené po zelenou. Dále byla pro srovnání změněna oblast neozářené sousední kůže. Rozdíl mezi těmito dvěma faktory udává barevný aspekt erytému kůže (a*).

Chromometr vždy směřoval kolmo k povrchu kůže. Měřicí hlavice je opatřena aplikátorem, čímž je zamezeno stlačení kožní tkáně a ovlivnění barvy kůže. Úhlové chyby ve svislé měřicí poloze hlavy přístroje neprokázaly žádný vliv na souřadnice a*, b* chromatičnosti a poskytly nepatrnou odchylku souřadnice L*. Z výsledku studie lze vyčíst, že po vzniku erytému došlo ke snížení hodnoty L*, ale v menším měřítku než u parametru a*, která symbolizuje ztmavnutí kůže. Poslední souřadnice tedy b* se v měřeních významně nezměnila. Bylo poukázáno na fakt, že po aplikaci UV záření na kůži došlo ke změnám na výstupu přístroje, lze tak objektivně detekovat změny na kůži, tím hodnotit a potenciálně předcházet nebezpečným účinkům UV.

Téměř totožnou metodou byla zpracovávána data po aplikaci silného dráždivého anthralinu⁷ na zánětlivou kůži. Celý systém je založen na výhodě kolorimetrických metod změřit a kvantifikovat kožní reakce na alergie vyvolané aplikací kosmetických a dermatologických produktů. S vizuálním odstupňováním byla reakce na podráždění považována za intenzivnější v normální kůži než u depigmentované. Na rozdíl od vizuálních odhadů ukazatele chromometru prokázaly, že změny v zarudnutí způsobené anthralinem byly výraznější u vitiliga než na normálně pigmentované kůži. Zbarvení vytvořené anthralinem se jevilo jako pravidelné a mělo stejnou intenzitu, když byla porovnána vitiliginní a sousední pigmentovaná testovaná místa. Právě tato skutečnost byla potvrzena kolorimetrickými měřeními.

Vztah mezi stupněm pigmentace a odezvou na podráždění anthralinem, lze hodnotit pouze pomocí citlivé kolorimetrické metody. Vizuální odhad erytému může být zavádějící, protože je známo, že zčervenání pozorované na pigmentované kůži je spojeno se skutečným erytémem a červenou složkou komplexního hnědého zbarvení. Lidské oko nemůže rozlišovat tyto dva různé zdroje zarudnutí. Kolorimetrická měření mohou překonat tento problém. Z této studie vyplynulo, že melaninový pigment má inhibiční účinek na dráždivou reakci vyvolanou anthralinem pravděpodobně zachycením volných radikálů a reaktivních forem kyslíku.

Opalování je kardinální odezva lidské kůže na UV záření. Spektrofotometrická technika pro měření změn rychlosti přechodu mezi první erytematózní odpovědí a zpožděnou tvorbou pig-

⁶MED je definováno jako množství potřebné energie k vyvolání erytému.

⁷Anthralin - sloučenina, která se využívá při léčbě kožních onemocnění např. psoriázy.

mentu je více než důležitá v oblasti hodnocení účinnosti opalovacích krémů a potenciálních prostředků pro zvýšení pigmentu. Bohužel, klinická užitečnost spektrofotometrů pro měření tohoto barevného přechodu kůže byla omezena technickými problémy. Mezi ty, lze zařadit stabilitu světelného zdroje, potřebu externích referencí a použitím velkého počtu filtrů pro získání přesné barvy pleti. S ručním kolorimetrem byly tyto problémy překonány. Přirozené odstíny pleti mohou být uloženy v paměti kolorimetru pro přímé srovnání s barvou kůže vystavenou slunečnímu záření. Schopnost kolorimetru současně hodnotit odstín a sytost barvy kůže poskytuje lepší možnost kvantifikovat přechod z kožního erytému na kůži po opalování.

V rámci těchto výsledků měření byl porovnáván objektivní přístroj Minolta Chromametr se subjektivním hodnocením dermatologa. Zařízení ukázalo jemný, kontinuální přechod mezi primární erytamózní odezvou a opálením kůže. Jak je vidět ve výsledcích dermatologa a ve výstupech přístroje, při detekci byly počáteční změny pod vizuální prahovou hodnotou. Lineární regrese porovnávající skóre lékaře s hodnotami chromometru ukázala, že erytém na expozici UVA a UVB byl vnímán jako čistě červený posun v barvě pleti, ztmavnutí intenzity s pokračující expozicí až do doby, kdy začalo opalování. Naopak opalování bylo vnímáno jako intenzivní žlutý odstín překrytý existujícím erytémem. Variabilitu erytému z hlediska dermatologa by částečně vysvětloval fakt, že lidské oko integruje všechny vizuální podněty, jakékoli směsi barev nebo jiných proměnných, např. kožní skvrny, tón pleti, kvalitu osvětlení atd. Tyto výsledky poukazují na obtížnost vizuálně rozlišovat mezi erytémem a opalováním.

Další z oblasti využití těchto metod je křivka odezvy na dávku UV, která indikuje vznik erytému a pigmentace. Pro tuto metodu jsou do budoucna navrženy systémy sofistikované fotografického testování, jako je například měření ochrany, jež je poskytována opalovacími krémy. Stanovení odezvy na dávku by mohlo lépe pomoci odrážet změny v citlivosti na UV záření. Křivky dávkové odezvy pro erytém, lze snadno měřit až do 24 hodin po ozáření kůže. Souhrnně lze říci, že barva kůže je pro měření citlivosti na UV záření vhodnější prediktor než typ kůže jako takový. Ačkoli typizace pleti dle fenotypu, bude i nadále používána a to zejména z důvodu jednoduchosti. Ale je třeba si uvědomit, že má závažné omezení jako prediktor citlivosti na UV záření, protože rozptyl tónu pleti je rozsáhlý a specifikace na pouze několik typů není příliš přesná. Možná, pokud se zjistí, že existuje dostupný prostředek pro snadné odhadnutí konstituční barvy pleti v místě očekávaného ozáření, bude nalezena účinnější metoda předvídání citlivosti na UV záření.

Existuje potřeba prokázat účinnost léků při léčbě hyperpigmentačních poruch, jako jsou melasma, pihy, postinflatorní hyperpigmentace atd. Mnoho výrobků zabývajících se bělícím účinkem depigmentačních činidel je uvedeno na trhu. Jejich přínos z hlediska změny barvy je možné prokázat právě pomocí objektivních metod měření, které by mohli po delším časovém úseku prokázat, zda jde jen o krátkodobý efekt, či jejich využití splňuje i dlouhodobé účinky.

Jak již bylo řečeno, složitost erytematogenní odezvy v opticky komplexním vícevrstevném systému kůže je obtížné aproximovat pomocí vzorce. Indexy erytému založené na takovýchto rovnicích musí být výpočetně velice náročné, přesné a bez chyb, jinak vypočítané matematické

interpretace mohou vést k nevhodné korelaci se stupněm erytému. Výhodou měření erytému kůže pomocí systému CIE hodnot je to, že není třeba provádět žádné úvahy o procesech, které jsou základem tvorby erytému. V klinických situacích, např. když je vyžadován pouze stupeň citlivosti kůže na UV záření, lze jednoduše odhadnout jeho velikost porovnáním s normální sousední kůží. Z tohoto důvodu, zejména v raných stádiích tvorby erytému, není nutné brát v úvahu různé průsvitné vrstvy kůže, pigmenty v každé z těchto vrstev a stupeň rozptylu světla. Tyto další vlastnosti jsou upraveny při porovnávání erytematózní kůže s normální kůží. Pro vědecké účely vyšetřování jsou kolorimetrická měření nezbytná. Kolorimetry používající systém CIE umožňují tak, kvantitativní srovnání erytému a pigmentace u jednotlivců a mezi jednotlivci způsobem, který je v souladu s vizuálními úsudky, ale s větší spolehlivostí a reprodukovatelností, než by bylo možné u lidských pozorovatelů. Tímto způsobem mohou být vytvořeny spolehlivé křivky odezvy na dávku záření. Kolorimetry schopné kvantifikovat odražené barvy z kůže pomocí systému CIE a zdají se být přesné, rychlé a vhodné při manipulaci.[20]

3.4 Zdroje světla a optické senzory

Bez viditelné části elektromagnetického záření (světla), jehož frekvence leží v intervalu $3,9 \times 10^{14} - 7,9 \times 10^{14}$ Hz a vlnová délka odpovídá 390–760 nm, není možné vygenerovat barevný vjem. Zdroje světla proto hrají velmi důležitou roli v oblasti kolorimetrie. Světelným zdrojem může být i samotná barva a to například v případě ohňostrojů, avšak mnohem častěji jsou barvy spojovány s objekty, které místo toho, aby samy emitovaly elektromagnetické záření, tak spíše odrážejí nebo vysílají světlo vyzařované světelnými zdroji. Nicméně, to že vlastnosti těchto světelných zdrojů mohou mít vliv na vzhled barevných předmětů, je známou skutečností. Obdobně jako informace, že červené a žluté objekty jsou při denním světle viděny v jiných odstínech, než je tomu pod světlem wolframových vláken nebo svíček, kdy vypadají světleji a barevněji, zatímco modré objekty jsou tmavší a méně barevné. Pokud by se vizuální systém nepřizpůsobil úrovni a barvě převažujícího osvětlení, byly by tyto změny ještě větší.

Již bylo zmíněno, zdroje světla se podílejí na kolorimetrii různými způsoby. Za prvé, u reflexních a emitujících objektů se hodnota tristimulu Y, obvykle vyhodnocuje tak, že $Y = 100$ pro perfektně odrážející difuzér nebo pro dokonalý vysílač. Za druhé, vyhodnocení dominantní vlnové délky a čistoty excitace vyžaduje přijetí achromatického podnětu, za ten je obvykle považován perfektní difuzor nebo vysílač osvětlený daným světelným zdrojem. Za třetí, proměnné v systémech CIELUV a CIELAB vyžadují použití referenční bílé barvy. Za čtvrté, páry barev, které se shodují pod jedním světelným zdrojem, nemusí odpovídat dalším párům, pokud se liší jejich spektrální složení. Za páté, vzorky, které fluoreskují, se obvykle liší barvou, protože používají světelné zdroje různých spektrálních kompozic, zvláště pokud dochází ke změnám v ultrafialovém obsahu světelných zdrojů. Ve všech těchto případech se tedy specifikace barev vztahují vždy k danému světelnému zdroji. Ve skutečnosti pro odrážející a emitující objekty jsou tristimulové hodnoty X, Y, Z a veškeré kolorimetrické parametry z nich odvozené, z velké části bezvýznamné, pokud není přesně specifikovaný využitý světelný zdroj. Viditelné záření, které je

součástí optické radiace z hlediska kratších vlnových délek tvoří ultrafialové záření a ze strany delších pak navazuje na oblast infračerveného záření.[22]

Je tedy zřejmé, že správná specifikace zdrojů světla je nezbytnou součástí kolorimetrie. Náhled do této problematiky je popsán v následující kapitole.

3.4.1 Úvod do světelných veličin

Světelné jednotky a veličiny zastřešuje mezinárodní organizace pro osvětlení CIE. Ta stanovila takzvaného normálního fotometrického pozorovatele, ke kterému se všechny pojmy z oblasti světla vztahují. Tento pozorovatel je popsán standardními vlastnostmi oka, tak aby nedošlo k chybě, jelikož každé oko má různou citlivost k vlnovým délkám světla. Základní jednotka ze soustavy SI, která popisuje světelné vlastnosti je svítivost, jednotkou je kandela [cd].

Světelný tok Φ je definován jako množství vyzářené energie zdroje do okolního prostředí. Jeho jednotkou je lumen [lm]. Zářivý tok je dán velikostí výkonu, který je procesem záření přenášen, emitován nebo vysílán.

Matematicky, lze světelný tok vyjádřit na základě monochromatickosti záření, pokud není záření monochromatické, lze zářivý tok popsat následujícím vztahem:

$$\Phi_e = \int_0^\infty \Phi_{e\lambda}(\lambda)d\lambda = \int_0^\infty \frac{d\Phi_e(\lambda)}{d\lambda}d\lambda \cong \sum_{i=1}^n (\Phi_{e\lambda})_i \Delta\lambda_i \quad (10)$$

kde $\frac{d\Phi_e(\lambda)}{d\lambda}$ odpovídá spektrální hustotě toku. Její grafické zobrazení je na následujícím obrázku č. 6.

V případě, že se jedná o zářivý tok monochromatického záření, lze jeho celkovou hodnotu vypočítat součtem jednotlivých monochromatických toků.[23]

$$\Phi_e = \sum_{i=1}^n (\Phi_{ei})(\lambda_i) \quad (11)$$

Svítivost je veličina, která popisuje distribuci světelného záření do okolního prostředí. Stanovuje hodnotu světelného toku, který je vyzářen ze zdroje v prostorovém úhlu. Jednotkou svítivosti je kandela [cd]. Její střední hodnotu, lze určit ze světelného toku Φ , což je popsáno v následující rovnici:

$$I = \frac{d\Phi}{d\Omega} \quad (12)$$

kde I je svítivost [cd], $d\Phi$ je světelný tok, $d\Omega$ odpovídá prostorovému úhlu.

Kontrast jasu popisuje vztah mezi jasem pozorovaného předmětu a jeho okolím, jejich rozdílem vyjádříme viditelnost předmětů, matematicky je kontrast jasu možné vyjádřit následujícím způsobem:

$$K = \frac{|L_a - L_b|}{L_b} \quad (13)$$

kde K je kontrast, L_a - jas předmětu [$cd \cdot m^{-2}$], L_b - jas pozadí [$cd \cdot m^{-2}$]

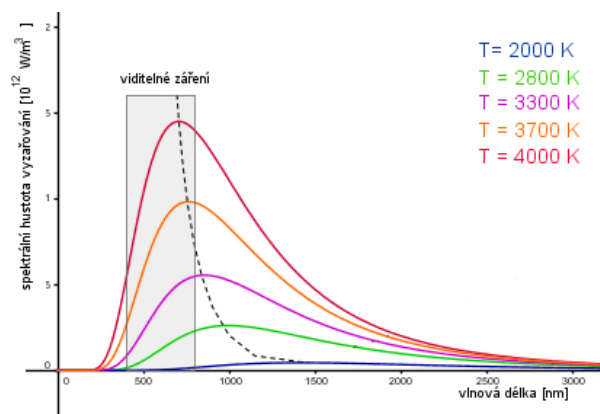
V případě předchozí rovnice jsou použity pouze absolutní hodnoty, a to z důvodu, že jas může být jak pozitivní, tak i negativní. Hranici, na které je možné rozeznat nejmenší kontrast jasu nese název práh rozlišitelnosti a je popsán vztahem:

$$K_{min} = \frac{|L_a - L_b|_{min}}{L_b} \quad (14)$$

Měrný výkon světelných zdrojů nám popisuje změnu z elektrické energie na světelnou je dán podílem světelného toku a elektrického příkonu. Výstupem je tedy hodnota, která udává kolik světelného toku, lze získat z 1 wattu. Pro jeho stanovení je důležité ověření, zda je výpočet prováděn se světelnými zdroji s předřadníky nebo bez předřadníků. Pro první případ platí, že je potřebná definice takového měrného výkonu, který je zvětšený o výkon spotřebovaný předřadníkem. V druhém případě je daný výkon roven příkonu světelného zdroje.

$$\eta_p = \frac{\Phi}{P} \quad (15)$$

kde η_p je měrný světelný výkon [$lm \cdot W^{-1}$], Φ odpovídá světelnému toku [lm] a P je elektrický příkon [W]. [23]



Obrázek 6: Závislosti hustoty vyzářování na vlnové délce. Převzato: <https://edu.techmania.cz>.

3.4.2 Optické senzory

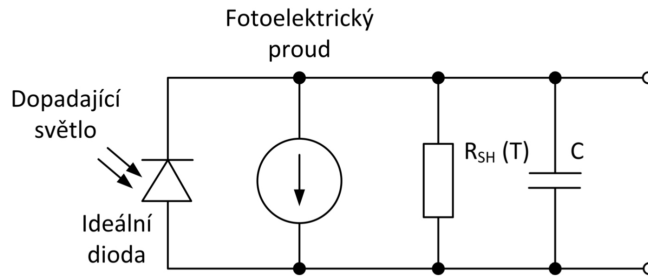
Optika a její vlastnosti hrají v této diplomové práci klíčovou roli. Obecně lze fotodetektory popsat ve viditelné nebo infračervené oblasti. Jejich základním cílem je transformace světla na elektrický proud, tak aby bylo umožněno další zpracovávání pomocí ostatních elektronických komponentů. Primární princip fotodetektoru je přeměna energie detekovaných fotonů na měřitelnou informaci. Z tohoto hlediska jsou popisovány fotodetektory tepelné a fotoelektrické. První zmíněné transformují energii na teplo, nejsou v praxi příliš populární, jelikož jejich rychlost není dostatečná. U fotoelektrických jde o navýšení energetické úrovně v momentě, kdy jsou fotony absorbovány příslušnou látkou. Tím dochází ke vzniku pohyblivých nosičů náboje. Působením elektrického pole vzniká přesun těchto nábojů ve formě elektrického proudu. Jedná se o tzv. fotoefekt, ten je rozdělen na vnitřní a vnější. Jak plyne z názvu, jedná se o průběh při kterém excitované náboje zůstávají v dané látce nebo jsou naopak přemístovány z látky ven. Komunikace probíhá v intervalu 0,8–2 μm .

Obou těchto jevů je využíváno u následujících součástek. Polovodičové fotodiody využívají vnitřního jevu. Jedná se o typ s PN přechodem, dvou materiálů o různé vodivosti. V oblasti vrstvy *P* se vyskytují negativně nabitě náboje a vrstva *N* obsahuje kladné. Tím je definován potenciál v oblasti přechodu a po připojení zdroje je potenciál koncentrován na diodě. Ta funguje ve dvou stavech, jako rezistor citlivý na světlo, dokáže poměrně rychle reagovat a z tohoto důvodu je využívána zejména pro datové přenosy. Druhým stavem je fotovoltaický, kdy se chová jako zdroj energie. Schématické zapojení je nastíněno na obrázku 7.[24, 25]

Požadavky na snímače charakterizují kvalitu výstupních výsledků, ovlivňují také rychlost, kompletní komunikaci atp. Zejména se jedná o následující technické předpoklady:

- velká spolehlivost,
- velká životnost,
- malé rozměry,
- malý šum,
- krátká doba odezvy z hlediska šířky pásma,
- velká elektrická odezva,
- velká citlivost.

Citlivost popisuje souvislost mezi elektrickým proudem, který se šíří skrze detektor, a přijatým světelným výkonem. Počet zachycený fotonů je roven množství uvolněných elektronů. To znamená, že pokud je detekován jeden foton, odpovídá to jednomu elektronu. Pokud dojde k navýšení vlnové délky, která dopadá na přijímač, dochází k nárůstu počtu uvolněných elektronů.



Obrázek 7: Ukázka zapojení fotodiody.

V této oblasti existují dva typy citlivosti, které je možné popsat následujícím matematickým vztahem:

$$I_p = RP = \frac{I_p}{P} [A/W] \quad (16)$$

, kde I_p je integrální citlivost. A následující vzorec odpovídá spektrální citlivosti.

$$R_\lambda = \frac{I_p}{P_\lambda} [A/W] \quad (17)$$

Dalším důležitým faktorem v oblasti detekce je dlouhovlnná mez detektoru, která popisuje šířku zakázaného pásma. Na to navazuje parametr rozlišení detektoru. Je určen maximální výkonovou hodnotou, který je přijímač schopen detekovat. V této oblasti je důležité znát tzv. temný proud, který určuje hranici rozlišitelnosti. V případě překročení nastává situace, kdy již není schopný signály pod touto mezí rozlišovat. Jeho charakteristika je velice podobná bílému zašumění, proto je důležitým faktorem pro zpracování vztahu mezi šumem a signálem.

V rámci této problematiky je také diskutováno o šířce pásma snímače, která popisuje rozsah harmonických kmitočtů při kterém nedochází k útlumu. Je ovlivněna externími faktory, z hlediska vnitřních stavů jde zejména o rychlost tvorby nosičů, dále závisí na elektrických parametrech v zapojeném obvodu. V blízkém vztahu se šířkou pásma je doba odezvy, což je čas potřebný k transportu fotodiody mezi jednotlivými hodnotami fotoproudů.

V momentě, kdy dojde ke styku s mezní frekvencí je nutné generovat nosiče v místech, kde je zaručeno jejich ideální dělení. Takový prostor se nachází mezi vysoce dopovanými N a P . To je umožněno pomocí PIN fotodiody. Velký přínos je z hlediska možnosti kontroly tloušťky vnitřní vrstvy, která je úměrná oblasti vyčerpání, ta se nachází mezi N a P , její vznik je způsoben připojením závěrného napětí.

Fotodiody APD je konstruována několika vrstvami. Mezi N^+ a P je ochrana ve formě polovodiče N , který z určité části dokáže zamezit napětovému průrazu, v této oblasti totiž dochází ke vzniku lavinového jevu. Do předcházející oblasti je přesunut nově vzniklý pár elektron-díra, který byl vytvořen dopadajícím světlem. Dále je urychlen za vzniku nového páru, tento proces vychází z působení elektrického pole, které svým vlivem vytváří neustále další páry, čímž je docí-

leno tzv. lavinového jevu. Je využíván zejména v komunikačních systémech na velké vzdálenosti. V medicíně slouží tento jev pro pozitronovou emisní tomografii. Výhody a nevýhody u lavinové fotodiody APD jsou následující. Poskytuje kvalitní citlivost, ale na rozdíl od klasických diod obsahuje vyšší hodnoty šumu, dále je zapotřebí k její funkci vysoké napětí.[24, 25]

4 Praktická část

Hlavním stěžejním celé diplomové práce byl návrh komplexního řešení, jehož výstupem bude hardwarové zařízení, které dokáže detekovat pigment kůže. V první fázi bylo tedy nutné stanovit primární myšlenku funkce celého přístroje. Ta vycházela z předem definovaných počátečních podmínek. Jelikož je přístroj určen zejména do klinického prostředí, byla jednou z priorit uživatelská jednoduchost. Z tohoto hlediska bylo zapotřebí směřovat návrh zařízení tak, aby bylo dosaženo malých rozměrů s minimální hmotností a nebylo zatěžováno již tak náročné povolání lékaře či jiných zdravotníků. Cílem bylo tedy vytvořit jednoduchý, ale efektivní komplexní systém. Pro tento výrobek byl zvolen název DKP, neboli detektor kožního pigmentu. V následujících podkapitolách jsou jednotlivě popsány fáze vývoje a procesy realizace, neboli kompletní technická dokumentace, včetně seznamu součástek. Mimo jiné i softwarového řešení, které inovativním způsobem napomáhá ke splnění zmíněných podmínek.

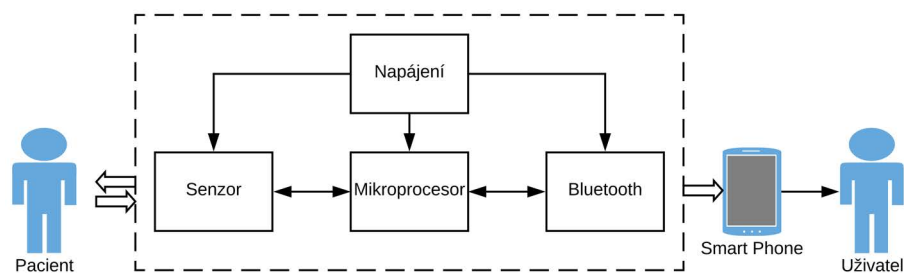
4.1 Návrh hardwarového řešení

V rámci rozsáhlé rešerše byla stanovena optická metoda, která je založena na detekci odraženého záření. K pochopení funkce jako celku bylo vytvořeno následující blokové schéma, které je zobrazeno na následujícím obrázku č. 8. Na jeho počátku je pacient, který symbolizuje vytyčenou oblast měření. Ta je emitovaným bílým světlem ze senzoru nasvícena a zároveň její reflektovaná část i zpětně detekována. Spektrum odražených vlnových délek odpovídá příslušným barvám. Tato informace je ve formě frekvence posílána do mikroprocesoru, kde je změřena funkcí *PulseIn*, jenž je softwarově implementována v čipu ATmega328p. Dále je odeslána přes sériovou asynchronní komunikaci USART do bluetooth modelu, odkud jsou RGB hodnoty transportovány do koncového zařízení, kterým může být například chytrý telefon nebo tablet, zde jsou zpracovaná data zobrazena uživateli.

Všechny elektronické bloky pak spojuje jeden komponent, jsou to napájecí obvody, které slouží k dodávání stabilního napětí do všech částí přístroje. Jeho řešení bude detailněji popsáno v následujících podkapitolách.

Pro doplnění celého návrhu bylo nalezeno inovativní řešení, které se v rámci komerčních dostupných zařízení nevyskytuje. Z důvodu minimalizace celého přístroje byl kompletně eliminován displej, který je ve většině případů součástí hardwaru, výstupy systému jsou tedy chytře zobrazovány v reálném čase na multiplatformní aplikaci na kterémkoliv zařízení, které podporuje Android či iOS aplikace. Tímto specifickým řešením se výrazně odlišuje od ostatních výrobků, umožňuje tak data zpracovávat kdekoli a kdykoli přímo v mobilním telefonu.

K uživatelskému komfortu bylo nahlíženo i z hlediska ostatních komponent. Efektivním způsobem doplňují celé zařízení. První z nich je externí krabička, která je vyrobena pomocí technologie 3D tisku a je svým tvarem přizpůsobena pevnému uchopení, zahrnuje popis jednotlivých portů, DATA pro ovládání mikroprocesoru, RESET pro restart celého zařízení v případě poruchy a PWR (z anglického *power*) pro napájení.



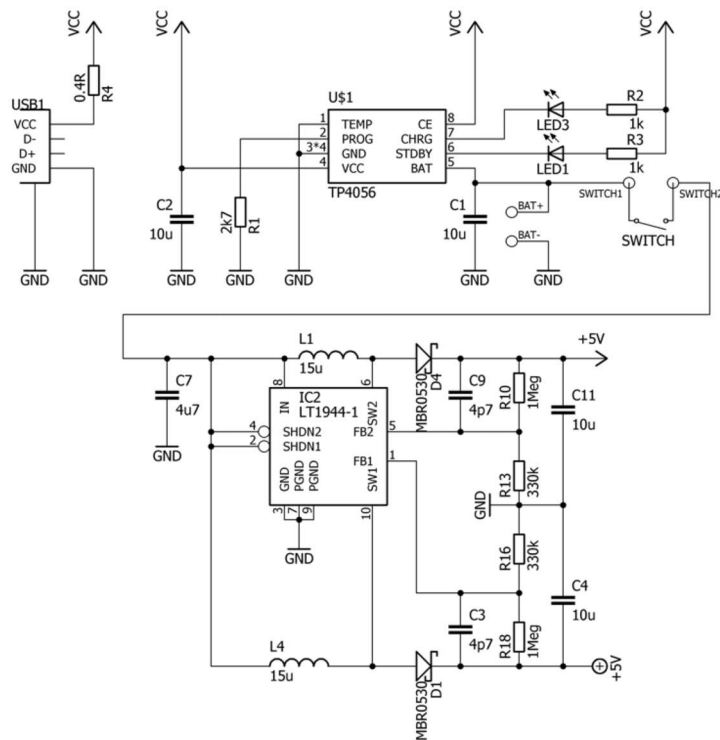
Obrázek 8: Blokové schéma DKP.

Další implementovaný prvek je LED, který je funkčně úzce navázán na poslední zmíněný port, svou indikací poukazuje při jeho zapojení na kapacitu baterie. V případě, že je akumulátor nabitý, svítí modrou barvou, pokud vybitý emituje červené zbarvení. Dále při kontaktu s kůží svítí LED oranžově. Uživatel je tak jednoduchým systémem upozornění obeznámen s aktuálním stavem zařízení.

4.1.1 Napájecí část

Vzhledem k podmínce, že má být zařízení uživatelsky co nejpohodlnější, nebyla forma klasické baterie a její pravidelné výměny příliš vhodná, jednat se tedy mělo o požadavek bezdrátového zařízení, bylo tedy nutné řešit bateriové napájení obvodů. Aby nebylo potřebné v zařízení měnit baterie, byl jako zdroj energie použit lithium-polymerový akumulátor (Li-Pol), na obrázku č. 9 je akumulátor zapojen mezi svorky BAT+ a BAT-. U akumulátoru je nutné vyřešit i jeho dobíjení, toho je docíleno pomocí jednoduchého zapojení s obvodem TP4056, které nepotřebuje velké množství externích součástek. Pomocí odporu R1 je nastavena maximální hodnota nabíjecího proudu. V zapojení byla zvolena hodnota $2700\ \Omega$, která odpovídá maximálnímu nabíjecímu proudu 450mA , tak jak je uvedeno v normě.[26] Tato hodnota byly zvolena s ohledem na maximální proudové zatížení USB, které je u většiny PC 500mA . Dále jsou zde signalizační LED1 a LED3, pomocí kterých lze vidět, zda se akumulátor právě nabíjí, nebo je již baterie plně nabitá.

Za nabíječkou je umístěn zvyšující měnič s obvodem LT1944, který konvertuje napětí z baterie na požadovanou vyšší úroveň. V tomto případě jde konkrétně o napětí 5V , které je potřeba pro napájení všech bloků zapojení. Obvod LT1944 má dva výstupy, kde jeden je použit pro napájení Arduina a druhý pro napájení senzoru a bluetooth modulu. Volba součástek u LT1944 je volena podle doporučeného zapojení z katalogového listu.[27]

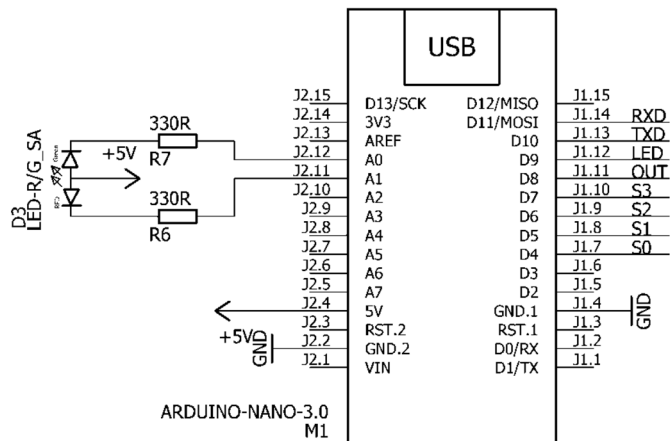


Obrázek 9: Napájecí část DKP.

4.1.2 Mikroprocesor

Pro řízení celého zapojení bylo zvoleno Arduino Nano s procesorem Atmega328p, z důvodu snadného použití při programování pomocí jazyku *Wiring* přes USB přímo z PC. Je napájen 5 V a jednotlivé piny mohou generovat nebo akceptovat maximální proud 40 mA. Dále obsahuje interní *pull-up*⁸ rezistor na 20–50 kΩ. Obsahuje 14 digitálních pinů, které lze použít jako vstupy nebo výstupy, což je nastavováno softwarově pomocí funkcí *digitalWrite()*, *digitalRead()*. Sériový kanál používá pin pro příjem RX (*recieve*) a pro posílání TX (*transmit*), ty jsou připojeny na piny *FTDI USB-to-TTL* čipu. Dalšími využívanými piny jsou 3, 5, 6, 9, 10 a 11, které generují 8-bitový *PWM* výstup, pro který je využívána funkce *analogWrite()*. Má 8 analogových vstupů, které poskytují rozlišení 10 bitů, to znamená 1024 různých hodnot. Všechny technické parametry jsou pro přehlednost uvedeny v tabulce č. 5. Na obrázku č.10 níže je zobrazeno zapojení Arduina Nano. Na piny A0 a A1 je připojena signalizační R/G dioda, která slouží k signalizaci stavu zařízení. Může svítit zeleně, červeně nebo oranžově podle toho které z pinů A0 a A1 jsou právě aktivní. Dále jsou zde signály LED, OUT, S0, S1, S2 a S3, které slouží k propojení se senzorem. Jsou připojeny na piny D4–D9. Popis těchto signálů bude uveden v podkapitole o senzoru. Posledními použitými signály jsou RXD a TXD, které jsou připojeny na piny D10 a D11. Slouží pro propojení s bluetooth modulem pomocí asynchronní sériové komunikace (USART).[28]

⁸Přes tento typ rezistoru je vedeno napětí na datové linky. Zachovává stav HIGH v klidovém stavu.



Obrázek 10: Schéma Arduino Nano a připojené indikující LED R/G.

Tabulka 5: Tabulka technických parametrů Arduina Nano.[28]

Parametr	Hodnota
Architektura	AVR
Provozní napětí	5 V
Vstupní napětí (doporučení)	7–12 V
Vstupní napětí (meze)	6–20 V
Počet digitálních I / O pinů	14
Počet PWM pinů	6
Počet analogových vstupů	8
Proudové zatížení na 1 pin	40 mA
Flash paměť	32 kB
SRAM	2 kB
EEPROM	1 kB
Rychlost CLK	16 MHz
Velikost desky	18 x 45 mm
Hmotnost	7 g

4.1.3 Senzor

Nedílnou součástí celého přístroje je senzor, který je počátečním komponentem pro vstupní informaci. Slouží tedy pro detekci množství pigmentu v kůži, pomocí optické metody, která využívá odrazu světla. Vychází ze senzoru s označením TCS230, který je složen z několika částí, ty jsou zobrazeny na následujícím schématu (Obrázek č. 11). Aby bylo snímání realizovatelné je nejdříve zapotřebí spustit zdroj světla. Ten je zobrazen v pravé části schéma, ve formě 4 bílých LED (D2, D5, D6, D7), které z principu vyzařují celé barevné spektrum. Předřadné rezistory 330 Ω před každou LED slouží k upravení maximálního proudu, který může obvodem procházet. V technické specifikaci LED je roven hodnotě do 20 mA, což odpovídá odporu minimálně 130 Ω , ve většině případů se však spíše využívá odpor 220 Ω nebo 330 Ω , jako i v tomto případě. Po emitování záření, je potřebné část odraženého světla detekovat k tomu slouží pole fotodiod, které je složeno ze tří barevných filtrů pro všechny barevné složky RGB. Ty jsou postupně spouštěny, což je implementováno softwarově pomocí následujících signálů. Jejich počet je v navrženém senzoru roven 6. S0, S1 tyto signály slouží pouze k inicializaci čipu TCS3200, pro jeho použití je nutné, aby byl signál S0 v logické „0“ a S1 v logické „1“, viz výpis zdrojového kódu č. 1, který pochází z *open-source* zdroje. LED tento signál spíná tranzistor T1, který slouží k rozsvícení nebo zhasnutí bílých LED.[29]

```
// nastavení propojovacích pinů
#define pinS0 4
#define pinS1 5
#define pinS2 6
#define pinS3 7
#define pinOut 8
#define pinLED 9

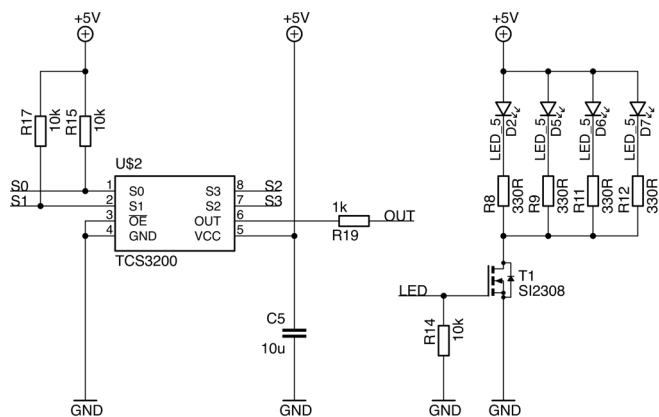
void TSC_Init()
{
// nastavení propojovacích pinů S0,S1 jako výstupních
pinMode(pinS0, OUTPUT);
pinMode(pinS1, OUTPUT);
// inicializace čipu senzoru
digitalWrite(pinS0, LOW);
digitalWrite(pinS1, HIGH);
}
```

Výpis 1: Ukázka inicializace čipu.

S2, S3 pomocí těchto signálů jsou nastavovány aktivní barevné filtry senzoru, pro filtr červené barvy musí být ve stavu S2 = S3 = „0“, pro filtr zelené barvy S2 = S3 = „1“, v neposlední řadě pro filtr modré barvy S2 = „0“ a S3 = „1“. Signál OUT je jako jediný vstupem do mikroprocesoru. Jedná se o frekvenční výstup ze senzoru TCS320, kde frekvence odpovídá vlnové délce odraženého světla. Konfigurace uživatelem je zobrazena ve výpisu kódu č. 2.

```
// nekonečná smyčka loop
void loop() {
// rozsvícení LED
digitalWrite(pinLED,HIGH);
// proměnné pro uložení frekvencí barev
int frekvenceCervena, frekvenceZelena, frekvenceModra;
// nastavení měření červené barvy
digitalWrite(pinS2,LOW);
digitalWrite(pinS3,LOW);
// krátká pauza pro přesné měření
delay(500);
// načtení frekvence červené barvy
frekvenceCervena = pulseIn(pinOut, LOW);
// nastavení měření zelené barvy
digitalWrite(pinS2,HIGH);
digitalWrite(pinS3,HIGH);
// krátká pauza pro přesné měření
delay(500);
// načtení frekvence zelené barvy
frekvenceZelena = pulseIn(pinOut, LOW);
// nastavení měření modré barvy
digitalWrite(pinS2,LOW);
digitalWrite(pinS3,HIGH);
// krátká pauza pro přesné měření
delay(500);
// načtení frekvence modré barvy
frekvenceModra = pulseIn(pinOut, LOW)
}
```

Výpis 2: Ukázka nastavení barevných filtrů a zapnutí bílých LED.



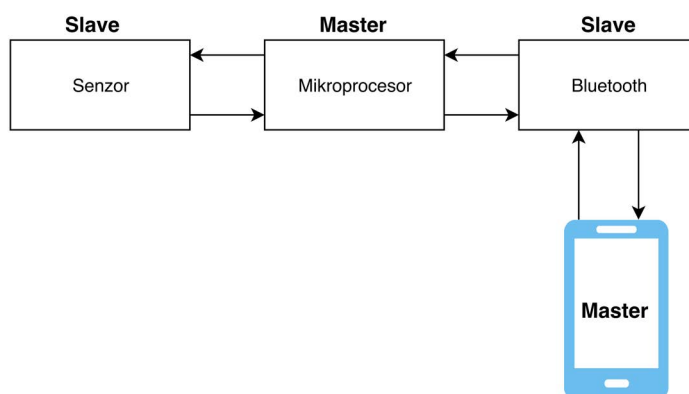
Obrázek 11: Schéma senzoru.

4.1.4 Bluetooth modul a komunikace

Pro komunikaci mezi hardwarem a aplikací je využit bluetooth model HC-06. Spojení probíhá v pásmu $2,4\text{ GHz}$ a jeho dosah odpovídá vzdálenosti do 10 m , důležité jsou okolní podmínky ve kterých komunikace probíhá, zda jde o otevřený či uzavřený prostor a další. Technické parametry modulu jsou detailněji popsány v následující tabulce (Tabulka 6). Stav funkce je indikován příslušnou LED. V případě, že periodicky bliká není propojení plně navázáno. Pokud svítí, spojení je zachyceno a nastává přenos dat ze vstupu. Součástí modulu je již předdefinovaná rychlost sériového přenosu, která činí 9600 Bd . Komunikační proces z hlediska telefonu a modulu je ovlivněn správným nastavením vztahu *master/slave*. Tato komunikace bude podrobněji popsána níže.

Tabulka 6: Tabulka technických parametrů Bluetooth modulu HC-06.[30]

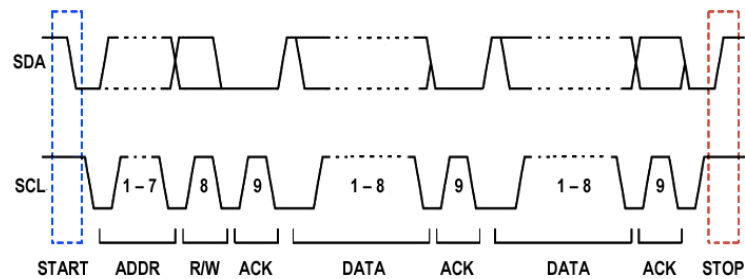
Parametr	Popis
Verze	V2.0+EDR
IO napětí	3,3 V
Vstupní napětí	3,3–6 V
Rychlost sériového přenosu	9600 Bd
Maximální dosah	10 m
Anténa	Integrovaná
Konektory	VCC, GND, TXD, RXD
Velikost desky	35 x 15 mm
Hmotnost	7 g



Obrázek 12: Komunikační vztah *master/slave*.

Přenos datové informace je dán nastavením mezi jednotlivými komponenty. Jejich komunikace ve vztahu *master/slave* je nastíněna v následujícím blokovém diagramu (Obrázek 12). *Master* tedy zařízení, které přebírá jednosměrné řízení je v případě DPK ze strany přístroje Arduino Nano a z druhé mobilní zařízení. *Slave* pak odpovídá bluetooth modulu a senzoru. I^2C je sériové sběrnice, které slouží k zapojení nízkorychlostních periférií, jak je zobrazeno níže propojuje senzor, mikroprocesor a bluetooth modul. Bluetooth modul s koncovým zařízením ve formě chytrého telefonu je naopak založen na rádiovém přenosu, jelikož nositelem dat je rádiová vlna.

Komponenta mikroprocesoru (*master*) zahajuje přenos dat a vytváří hodinový signál (CLK), s ostatními procesy (*slave*) řídí přenos dat pomocí specifických adres. Princip je založen na zaslání START bitu, čímž dojde ke změně datové linky ze stavu LOW na HIGH, pokud je nastavena na stav LOW dochází k zasílání všech ostatních bitů. Po aktivaci start bitu je SDA linka nastavena z úrovně HIGH na LOW. Slave kontinuálně hlídá stav obou linek a nereaguje na ostatní podněty (příkazy) dokud nedojde k změně stavu, která je rovna start bitu. Poté je odeslán bit, který je adresou koncového zařízení. Ta má velikost 7 bitů a díky tomu je možné zapojit až 128 komponentů s různými adresami. Posledním bitem tedy č. 8 je definován směr toku dat, který je označován jako R/W (Read/Write). Jak plyne z názvu slouží k symbolice, zda jde o zápis či čtení dat. V případě, že jde o čtení je bit nastaven na 1 a v druhém případě zápisu je hodnota bitu 0. Jakmile slave detekuje adresu, ověří ji, zda je shodná s identifikátorem a pokud ano, je zaslán ACK bit. Tím je potvrzen příjem dat, nebo neúspěch přenosu. Následně master pokračuje v asílání dalších bitů, nebo ho ukončuje a to STOP bitem, tedy změnou stavu z LOW na HIGH na lince SDA, pokud je i signál CLK ve stavu HIGH. Průběh těchto stavů je graficky znázorněn na obrázku 13.



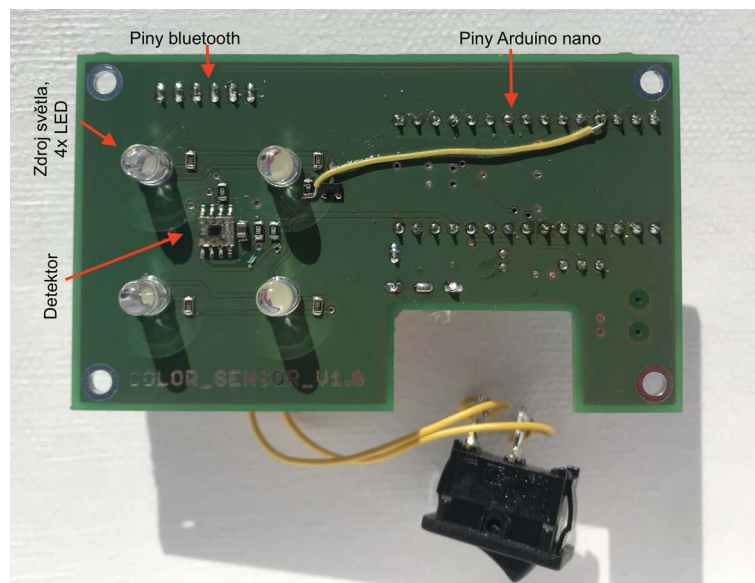
Obrázek 13: Ukázka sběrnice I^2C .

Komunikace na rozhraní arduina se senzorem. Je implementována softwarově, to zajišťuje jak nastavení, inicializaci senzoru tak i čtení z registrů. Na začátku celého procesu dochází k resetu modulu senzoru a to zápisem sekvence bajtů: Adresa slave, ta odpovídá hodnotě (1000100), adresový bajt na kterém proběhne zápis (0x00 hexagonálně) a datový bajt, který nese celou informaci. Následně dochází k nastavení filtrů senzoru, jak bylo popsáno v kapitole 4.1.3, vše je zapsáno do příslušných registrů.

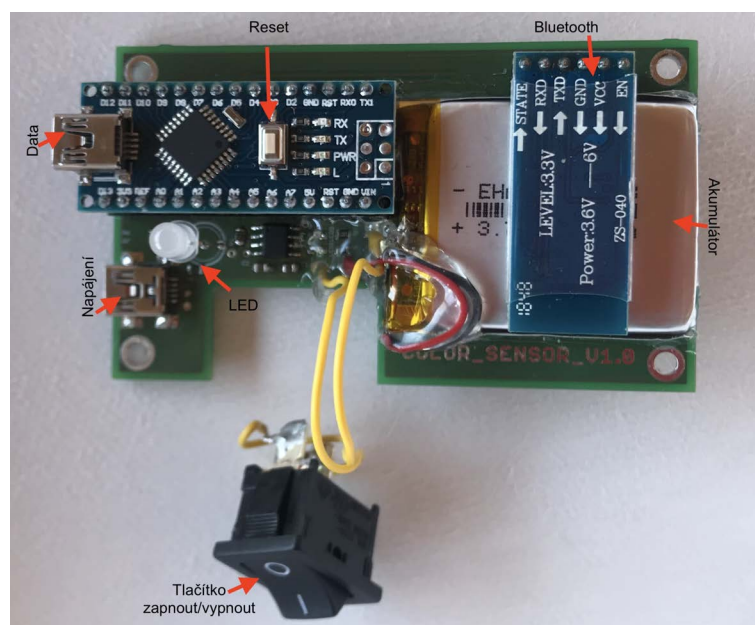
Podobným způsobem je řešen i proces čtení a zapisování. Opět je podmíněn sekvencí bajtů. Po START bitu je další v pořadí adresa Slave, která zapisuje R/W bit, v případě, že se jedná o čtení je zapsána hodnota 1, v druhém případě tedy pro zápis 0. Po dodání bitu je zařízením Slave odpovězeno ACK bitem. Dalším bajtem je adresový ten poukazuje na takový registr, ze kterého bude probíhat čtení.

4.2 Realizace hardwarového řešení

Pro DKP byla navržena vlastní oboustranná DPS (deska plošného spoje) v editoru programu Eagle, její návrh je z důvodu příliš velkého formátu k nahlédnutí v příloze B, C. Návrh byl řízen pravidly tvorby DPS, tedy splnění šířky cest, izolační mezery atp. Deska je konstruována tak, aby odpovídala počátečním podmínkám, proto je zde z důvodu velikosti např. výřez pro vypínač, který by za normálních okolností zabíral příliš velké množství prostoru. Na horní straně je vidět konektor USB mini, který slouží pro napájení baterie, dále pak nabíjecí obvody s akumulátorem. Baterie je umístěna v pravé části desky. V levé části se nachází konektor pro připojení Arduina Nano, které slouží k programování mikroprocesoru. Mezi konektory je umístěn také zdroj, jeho strategické umístění je dáno hlavně z důvodu miniaturizace. V pravé horní části je konektor pro připojení bluetooth modulu. Do každého rohu byly umístěny montážní otvory, pomocí kterých je DPS uchycena do krabičky viz Obrázek č. 15. Tím je zajištěna stabilizace desky. Na spodní straně DPS je umístěn pouze senzor se 4 LED, které by měli kůži rovnoměrně osvětlovat viz obrázek č. 14. Díky realizaci krabičky, která umožňuje krytí senzoru, nedochází k velkému ovlivňování měření okolním světlem.



Obrázek 14: Ukázka napájené DPS spodní část.



Obrázek 15: Ukázka napájené DPS horní část.

Pro výrobu samotné desky byla využita externí společnost. Po jejím dodání došlo k finálnímu pájení pomocí cínové pájky, kalafuny a pájecí stanice Toolcraft ST50-D. Ve většině případů šlo o povrchovou montáž SMD součástek, dále bylo využito několik klasických drátových součástek a pinů. Jejich přesný seznam je uveden v kapitole 4.2.2.

Prostor pro vylepšení a úpravu prototypových zařízení je opravdu rozsáhlý. V případě DPK by bylo přínosné měření napětí přímo na baterii za pomoci Arduina, tak aby bylo možné detekovat stav baterie. Tato informace by se mohla následně pomocí bluetooth modulu posílat a zobrazovat v koncovém zařízení např. telefonu přímo v aplikaci. Další z možností vylepšení by bylo použití pouze jednoho USB, které by umožnilo jak nabíjení baterie, tak možnost programování, to by vyžadovalo drobnou úpravu zapojení.

4.2.1 Realizace externích částí

Kompletní zařízení musí být uzpůsobeno pro koncového uživatele. V takovém případě bylo zapotřebí navrhnout a zrealizovat efektivní krabičku, která bude uživatelsky příjemná a zároveň bude doplňovat jeho funkční požadavky, tak aby bylo docíleno co nejpřesnějších měření.

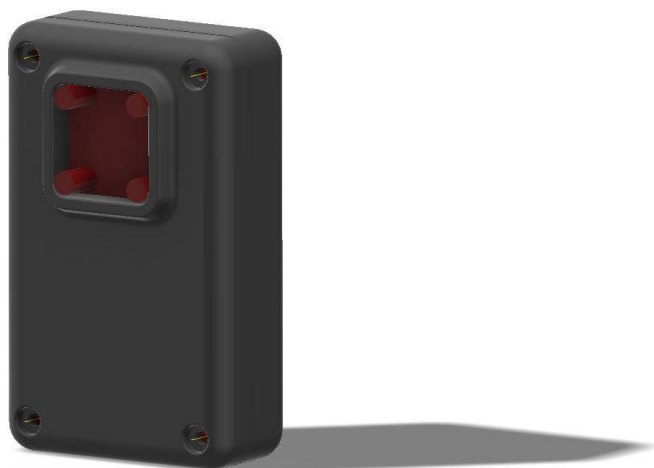
K návrhu byl využit program 3D CAD, kde byl vytvořen návrh ve formě digitálního souboru, který byl následně zaslán do 3D tiskárny. Na počátku byl vymodelován blok ve tvaru kvádrů, následovalo vyhloubení otvoru směrem dovnitř. Hrany byly zaobleny a z jejich vnitřní strany byly implementovány sloupky pro zpevnění obou dílů šrouby. Krabička byla rozdělena na dvě poloviny, aby byla možnost ji jednoduše rozložit a zase zpět složit. Vrchní strana obsahuje otvory pro šrouby se zápusťnou hlavou. Pro indikaci kontaktu s pokožkou, nebo úplného dobití baterie je zde výřez pro R/G LED. Dále se na této straně vyskytuje malý otvor označený jako RESET, ten slouží k restartování Arduina, aby bylo možné ho i kdykoliv přeprogramovat. Následně byl vytvořen z čelní strany další výřez pro mini USB, který nese název DATA. Na stejné straně je i další otvor, který slouží pro napájení celého zařízení a je označen jako PWR (*Z anglického power*) jak je zobrazeno na obrázku 16. Ze spodní straně je velice podstatný výřez, který ohraničuje 4 LED, které slouží jak už bylo zmíněno pro osvětlení kůže. Díky zarovnání krabičky právě s těmito LED dochází k eliminaci okolního světla, čímž je omezen vliv chyby měření viz obrázek 17.

Krabička byla vyrobena pomocí metody 3D tisku na míru, dle rozměrů hardwaru. Okótovaný produkt je zobrazen na následujícím obrázku č. 18. Během procesu 3D tisku je nejdůležitější správnost nanesení první vrstvy. Zvolený materiál byl černý PLA (kyselina mléčná), který je spolehlivý a umožňuje získat vynikající kvalitu povrchu. Pro krabičku není zapotřebí materiály pro vyšší tepelnou odolnost (nad 60°C), jelikož zařízení neprodukuje tak velké množství tepla. Teplota vyhřívané podložky je 50°C a kompletní tisk byl dokončen za 8 hodin a 16 minut. Ukázka tisku je zobrazena na obrázku 19.

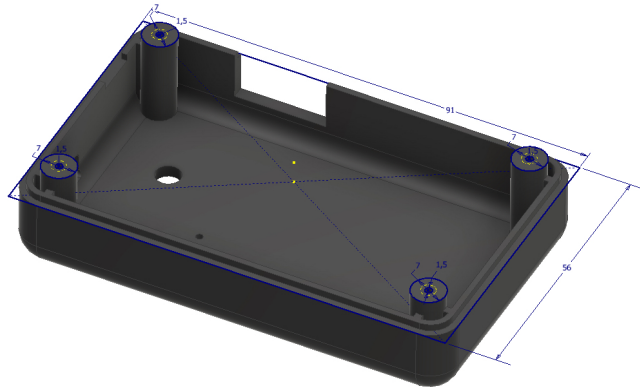
Celá metoda je založena na pokládání jednotlivých vrstev materiálu postupně na sebe, tím vznikají jednotlivé vrstvy a postupem času i finální produkt. K výrobě byla využita 3D tiskárna Ultimaker od společnosti Ultimaker B.V.



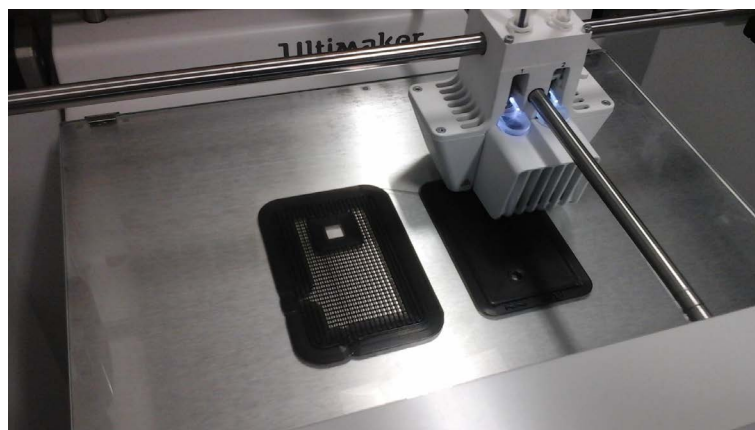
Obrázek 16: Ukázka otvorů krabičky, navrženo v programu 3D CAD.



Obrázek 17: Ukázka otvoru pro senzor přístroje.



Obrázek 18: Ukázka rozměrů krabičky.



Obrázek 19: Ukázka průběhu 3D tisku pomocí tiskárny Ultimaker.

4.2.2 Seznam součástek

DPS

- 5x Kondenzátor 10 μF
- 3x Kondenzátor 4 pF
- 2x Schottkyho dioda (MBR0530)
- 4x LED
- 1x LED R/G
- 2x LED (CHIP-LED0805)
- 1x Regulátor spínacího napětí (Paket MSOP-10)
- 2x Cívka 15 μH
- 1x Svorka (BAT+)
- 1x Svorka (BAT-)
- 1x Rezistor 2k7 Ω (R0805)
- 3x Rezistor 1 $k\Omega$ (R0805)
- 1x Rezistor 0,4 Ω (R0805)
- 4x Rezistor 10 Ω (R0805)
- 6x Rezistor 330 Ω (R0805)
- 2x Rezistor 330 $k\Omega$ (R0805)
- 2x Rezistor 1 $M\Omega$ (R0805)
- 1x Tranzistor (SOT23)
- 1x Nabíječka (TP4056)
- 1x Nabíječka (TP4056)
- 1x Modul TSC230
- 1x Konektor USB mini
- 1x Arduino Nano
- 1x Bluetooth HC-06

- 2x Dutinková lišta BL820G
- 1x Baterie LI-PO 3.7 V

Ostatní

- Izolační materiál
- Cínová pájka a kalafuna
- Pájecí stanice Toolcraft ST50-D
- Vrtačka
- Kleště
- Digitální multimetr
- Osciloskop

4.3 Legislativně-právní forma

Popis celého systému zavedení zdravotnického prostředku je velice rozsáhlý. Zde budou uvedeny pouze důležité části, které je nutné splnit, aby bylo možné uvést přístroj do provozu v oblasti medicíny. Dále budou součástí této kapitoly definovány základní pojmy bez kterých nelze legislativně-právní formu popisovat.

Kompetenčním zákonem je Ministerstvu zdravotnictví svěřená veškerá správa zdravotnických prostředků. Má tedy hlavní pravomoc v oblasti udělení autorizace, změny posouzení shody zdravotnického prostředku (dále jen ZP), či jeho pozastavení nebo kompletního zrušení. V případě podezření na ohrožení bezpečnosti nebo zdraví fyzického subjektu, oplývá kompetencí dočasně stáhnout zařízení z trhu. Právní rámec, který shrnuje problematiku uvedení výrobku na trh v rámci této kapitoly, pracuje zejména se zákonem č. 268/2014 Sb., o zdravotnických prostředcích a č. 22/1997 Sb., o technických požadavcích na výrobky.[31, 32]

Pojmy, které je potřebné uvést do legislativně-právní oblasti jsou v rámci této kapitoly objasněny tak, aby byla zřejmá jejich podstata v následující problematice.

Registrace je uvedena zejména ve vztahu k osobě, která zachází se ZP. Pojem notifikace odpovídá naopak spíše charakteru zdravotnické prostředku jako hmatatelného objektu, není tak specifikován k osobě jako takové. Jejich provedení spadá pod Registr zdravotnických prostředků. To je ovšem jediný společný znak pro oba tyto pojmy, liší se téměř ve všem ostatním, včetně předmětu, správně-právní povahy i různých lhůt. Pojem nakládání se zdravotnickými prostředky je definován jako „všechny konkrétní fyzické úkony se zdravotnickým prostředkem“. Výroba ZP se dle zákona zaobírá problematikou vývoje, dokumentace, balení či označování. Nachází se tak v blízkém vztahu s výrobcem. Stejně tak pojem distribuce a dovoz souvisí s distributorem a dovozcem. Rozdíl je zde kladen na oblast pořízení. V případě, že je produkt dovezen z oblasti

mimo členské státy, je označován jako dovoz. V druhém případě, tedy, kdy je výrobek ze zóny členských států jde o distribuci.

ZP musí mít označení CE a to čitelně na místě viditelném, jak je dáno předpisy EU. Jeho cílem je sdělení, že *„výrobek splňuje technické požadavky stanovené ve všech nařízeních vlády, které se na něj vztahují a které toto označení stanovují nebo umožňují, a že byl při posouzení jeho shody dodržen stanovený postup.“*

Pro uvedení zdravotnického prostředku na trh je potřebné definovat pojem uvedení na trh, který je součástí §4 odst. 2 zákona o zdravotnických prostředcích, zní *„první dodání zdravotnického prostředku jiného než určeného pro klinickou zkoušku nebo hodnocení funkční způsobilosti se záměrem jeho rozšiřování nebo používání na trhu členských států tvořících Evropský hospodářský prostor, Švýcarska a Turecka (dále jen „členský stát“), bez ohledu na to, zda je nový nebo plně obnovený“*. Výrobek může být tedy uveden pouze výrobcem nebo dovozcem a nikoli distributorem. Také musí splňovat hodnocení funkční způsobilosti a musí být posouzena shoda.

Přiřazení statusu zdravotnického prostředku musí projít přes dvě kritéria. V prvním případě je zapotřebí, aby výrobce jasně stanovil, zda opravdu výrobek spadá do této kategorie a jednoznačně popsal účel použití, dalším je souhlas, jenž je zapotřebí ze strany objektivní, která vyplývá z preklinických a klinických výsledků. Po stanovení statusu následuje proces určení třídy míry zdravotního rizika. Celý systém je zkoumán notifikovanou osobou či správním orgánem, který může schválit či neschválit daný proces a ovlivnit tak ponechání ZP na trhu.[33]

4.3.1 Proces uvedení zdravotnického prostředku na trh

Z logického hlediska jsou nezbytné určité kroky, bez kterých nelze o možnosti uvedení výrobku na trh ani pojednávat. Základem je provést návrh, dále důsledný vývoj, který plynule přechází ve výrobní proces a hodnocení analýzy rizik společně s preklinickým hodnocením. Po dovršení těchto podmínek následuje systém plnění dílčích úkonů, stanovených zákonem. Prvním z nich je klinické hodnocení, jenž je popsáno v §11 odst. 1 zákona o zdravotnických prostředcích, jehož cílem je docílit kritického vyhodnocení získaných výsledků a tím prokázat charakter přístroje z hlediska jeho bezpečnosti a činnosti za běžných podmínek. Její ověření je realizovatelné pomocí dvou metod, literární rešerší a klinickou zkouškou.

Klinická zkouška je pod záštitou Helsinké deklarace, která ji definuje podmínky, které musí být splněny. V zásadě se jedná o proces, kdy je u vybrané cílové skupiny pacientů provedeno systematické měření. Výstupem klinického hodnocení by měla být informace, zda je ZP nezávadný či způsobuje přijatelné riziko. Takový proces je dlouhodobý a měl by trvat v řádu několika let. Tak, aby byla na subjektech hodnocení, opravdu potvrzena nezávadnost zařízení. Větší množství dat z klinických zkoušek může sloužit jako zdroj pro následnou literární rešerši, stejně jako odborné články a publikace. Předmět rešerše musí být shodný s prostředkem, který je účelově hodnocen.

Hodnocení funkční způsobilosti je vedeno v případě diagnostických zařízení *in vitro*. Postup je obdobný výše uvedenému. Rozdílný je v metodě aplikace, kdy ZP není v přímém kontaktu s vyšetřovanou osobou.

Posouzení shody je prostředek pro prokázání parametrů, vlastností z hlediska účinnosti a bezpečnosti deklarovaných výrobcem. Příslušnou osobou je vydán certifikát, který je následně ze strany výrobce doplněn prohlášením o shodě a přidělením označení CE. Pro získání certifikátu musí být doložena technická dokumentace a výstupní zpráva z klinického hodnocení. Certifikace je využívána z hlediska výrobce v případě notifikace, společně s číslem ZP a číslem notifikované osoby.

Prohlášení o shodě vydává výrobce a to na základě získaného certifikátu. Ze zákona musí být navíc také označen jako CE.

Dalším nedílnou součástí je přiložení tzv. návodu k použití. Je opět vydáván výrobcem a zahrnuje veškeré informace o správnosti používání celého zařízení. Včetně bezpečnosti, preventivních opatření, funkčních záležitostí i technických parametrů. Tato položka spadá pod vyhlášku o provedení některých ustanovení zákona o zdravotnických prostředcích. Doporučuje se zpracovat návod k použití pro všechny rizikové třídy. Existují určité výjimky, které jsou určeny pro takové přístroje u kterých je zřejmý způsob použití, odpovídají rizikové třídě I či IIa. Na území České republiky je závazné přiložit návod v českém jazyce. Nařízení Komise č. 207/2012, o elektronických návodech k použití zdravotnických prostředků určilo dvě varianty ztvárnění a to formu elektronickou či tištěnou.

V poslední fázi celého procesu je zapotřebí provést notifikaci ZP. Ta nastává až ve chvíli, kdy je ZP uveden na trh. Je spíše charakteru administrativního a výrobce musí doložit všechny potřebné dokumenty. V opačném případě dochází k udělení sankce, nikoliv stažení ZP z trhu, proces spadá pod správní řízení. V rámci notifikace je nutno doložit:

- registrační číslo osoby podávající žádost,
- obchodní název ZP,
- doplněk názvu v případě více variant ZP,
- katalogové číslo pro každou variantu,
- účel výrobku v českém jazyce,
- identifikaci notifikované osoby,
- číslo certifikátu,
- návod k použití v českém jazyce.

Odchýlený způsob procesu je vyhraněn pro dovozce či distributora ZP, v rámci této diplomové práce a DKP se nejedná právě o tyto zmíněné varianty výroby či dovozu, proto nejsou tyto typy procesu v předchozím textu popsány. Kapitola je věnována výrobcem na území České republiky.[33]

4.4 Software

Aby byla dodržena komplexnost návrhu zařízení, bylo zapotřebí vyvinout inovativní řešení zobrazování dat. Ve většině komerčních zařízení se výstup zobrazuje přímo na displeji přístroje, to ovšem způsobuje vyšší rozměry a hmotnost celého zařízení. Proto bylo nalezeno důmyslné východisko, nahrazení displeje ve formě vývoje multiplatformní aplikace, která umožňuje kvalitnější systém zpracování a přehlednější zobrazování dat.

4.4.1 Aplikace

Možnost přístupu pro všechny uživatele různých typů mobilních systémů (Android, iOS) byla jednou ze základních podmínek celého návrhu aplikace, proto byla vytvářena v populárním mobilním *frameworku* zvaném *Flutter*. Základem pro psaní zdrojového kódu je *open-source* programovací jazyk Dart, která spadá pod licenci BSD (*Berkeley Software Distribution*). Jeho velkou výhodou je možnost podpory serveru i klienta, čímž se odlišuje od jazyků jako je *JavaScript* nebo *PHP*. Jazyk obsahuje program interpret sloužící k interpretaci zdrojového kódu v jazyce Dart, což je jednou ze základních funkcí tohoto jazyka.

K psaní zdrojové kódu byl využíván *Dart Editor*, který je součástí balíčku *Dart SDK*. Ten umožňuje kvalitní detekci chyb, rozsáhlé metody nápovědy atp. Aplikace je spouštěna v prostředí *Dartium*.

V první části vývoje byla zapotřebí správná konfigurace. Té předchází instalace *git* klienta a stanovení správné cesty k programu, tím zajistíme správnou funkci všech nástrojů.

```
// Instalace git klienta
git clone -b beta https://github.com/flutter/flutter.git
// Instalace komponent a kontrola konfigurace prostředí
flutter doctor
```

Výpis 3: Ukázka instalace příkazů pro nastavení SDK

V podstatě je Flutter složen z velkého množství tzv. widgetů, ty se vyskytují ve dvou stavech, *stateless* a *statefull*. První z nich je neměnný, jeho vizuální podoba odpovídá volanému konstrukturu. Opakem je *statefull* widget, který je dynamicky závislý na svém vnitřním stavu, ten musí mít funkci *build*, která vrací takový widget, který chceme zobrazit. V momentě, kdy dochází ke změně stavu, musí být provedena funkce *setState*. Obsahově je složen ze *stateless*, ty mají svá data, která jsou využívána.

V této funkci je řešena vizuální stránka aplikace. Ta vychází z designu od společnosti Google, který je pojmenován jako *MaterialApp*. Příkladem jsou widgety *Scaffold* pro základní zobrazení obrazovky nebo *AppBar*, který definuje horní, modrý pruh. Součástí této metody jsou tzv. *Actions*, které obsahují tlačítka ve formě zápisu *IconButton* 1 a 2.

Pro klik je definována funkce *onPressed* ta v případě spojení zavolá funkci *getValues*, čímž dochází k zápisu do charakteristiky hodnoty R v hexadecimálním tvaru a následné odpovědi,

že došlo k předání. Tímto procesem je vždy přiřazena příslušná barva, nejprve dochází k zápisu červené, poté algoritmus 1 s vyčká a následuje nařízení přiřadit zelenou, poté modrou barvu.

Container zobrazuje bílé pozadí v prostřední části a posledním příkladem je *FloatingActionButton* pro ukládání dat do databáze.

Hlavní třídou je *baseApp*, která vytváří *state*. Pomocí této třídy dochází k nalezení knihovny pro komunikaci přes bluetooth a jsou definovány určité proměnné, příkladem je definování barev do maximálních hodnot 255.

Úvodní funkce zavolá knihovnu *findDeviceAndConnect*, ta začíná skenovat a vyvolávat příslušnou funkci opakovaně, dokud nenajde správné zařízení a nevyvolá funkci zpět, pomocí tzv. *callback*. Následně proběhne kontrola, zda existuje název příslušného bluetooth modulu a pokud ano, dochází k zavolání funkce *connectToDevice*, kde je přidáno nalezené zařízení. Poté dochází k přerušení skenování, jelikož je zřejmé, že zařízení je v dosahu. Dojde k zavolání stejné knihovny, kdy je nastaveno připojení a naslouchání, tím je myšleno, zda je nebo není zařízení stále připojeno. Je tedy indikován stav připojení. Velmi zajímavá funkce je tzv. *setState*, která po jejím zavolání obnoví obrazovku a případě spojení dochází k zbarvení bluetooth ikony zelenou barvou.

Každý modul má navíc svůj vlastní seznam služeb k jeho vyvolání je využito funkce *ListenToBlue*. Jednotlivé služby mají svůj další seznam, zapotřebí je najít takovou, která umožňuje čtení i zápis. V rámci této aplikace je implementována pevně a v případě, kdy je připojena začíná naslouchání.

V oblasti renderování jsou dány zejména dva widgety a to *ColorCircle*, kterému do konstruktoru vchází jednotlivé barvy ve formě *this.r*, *this.g*, *this.b*, to je specifický zápis právě pro *Flutter*, který pomocí *this* provádí v celé třídě hledání a následný zápis typu globální proměnné. Po zavolání konstruktoru dochází k výpočtům daných vztahů z jednotlivých barevných dat. Výstupem je tedy:

- melanin index,
- erytém index,
- RGB barevný prostor,
- Cielab barevný prostor, (RGB \rightarrow XYZ \rightarrow CieLab).

Mimo jiné byla zajištěna grafická přehlednost výsledků, jelikož zobrazení výsledných hodnot je umístěno do bloku, který dle získaných RGB dat orientačně vykresluje danou barvu měření. Při vývoji tedy došlo k problematickému čtení, jelikož bylo písmo nastaveno na černou barvu a pokud byla zobrazena tmavá kůže, výsledné hodnoty byly špatně čitelné, proto došlo k implementaci prvku, který z RGB hodnot zjistí, zda naměřená barva odpovídá tmavé nebo světlé, zápis probíhá jako *true*, *false*. Po této detekci dochází ke změně barvy jejího písma. Postup je tedy následující, v případě, že je naměřena barva tmavá, text je zobrazen jako bílý a naopak. Kompletní zdrojový kód je k nahlédnutí viz příloha A.

4.5 Návod k použití a technické parametry

Celé zařízení bylo konstruováno pro použití v klinické praxi. Jednotlivé prvky byly řešeny jednoduše, ale efektivně. Nejen z těchto důvodů, ale i z hlediska stanov legislativně-právní normy vyplývá, že je zapotřebí doložit návod k použití, právě tomu je věnován obsah této kapitoly. Kde jsou shrnuty základní informace pro koncového uživatele a to z hlediska ovládaní i technických parametrů viz tabulka 7.

K použití zařízení pro detekci kožního pigmentu jsou zapotřebí 2 hlavní komponenty. Samotný přístroj DKP a chytrý mobilní telefon s operačním systémem Android nebo iOS. Jejich vzájemný vztah je popsán v následujícím postupu používání přístroje.

Krok první. Při prvotní manipulaci je samotný přístroj uložen v bílé krabičce 140×180 mm, ta je vyplněna materiálem z pěnového polyetylénu, který slouží k ochraně před mechanickým poškozením z důvodů neopatrného zacházení či jiných neočekávaných událostí. Po otevření krabičky je zřetelně viditelné, že výrobek je umístěn do výkroje této výplně. Nicméně je velice jednoduše uchopitelný pro jeho okamžitou manipulaci viz obrázek č. 20.

Krok druhý. Součástí balení je konektor USB mini, který slouží k napájení celého zařízení. Po jeho vyjmutí z krabičky je doporučeno připojení výrobku k počítači a ověření stavu maximálního nabití baterie. To je indikováno zbarvením LED, pokud svítí červeně, baterie není plně nabitá v takovém případě je vhodné připojit kabel s konektorem do počítače a vyčkat na modrou indikaci. Ta symbolizuje plně nabitý přístroj a jeho připravenost k použití viz obrázek 21.

Krok třetí. Dalším bodem je zapnutí celého systému, to je řízeno spouštěcím tlačítkem, umístěným na boční straně DKP. Po jeho stlačení je ze senzoru emitováno světelné záření, což na první pohled signalizuje aktivní status.

Krok čtvrtý. V tomto momentě je potřeba vzájemná synchronizace s aplikací. Tu je nutné nainstalovat do chytrého zařízení. Poté provést její zapnutí společně s přístrojem, tím dochází k automatickému hledání a následně vzájemné synchronizaci. V případě úspěšného propojení je tento stav signalizován přímo v uživatelském rozhraní aplikace, kde je v pravém horním rohu umístěna ikona bluetooth, v případě shody nastává změna její barvy z červené na zelenou, která je v oblasti elektroniky i širšího lidského vnímání považována za kladnou, stejně jako v tomto případě.

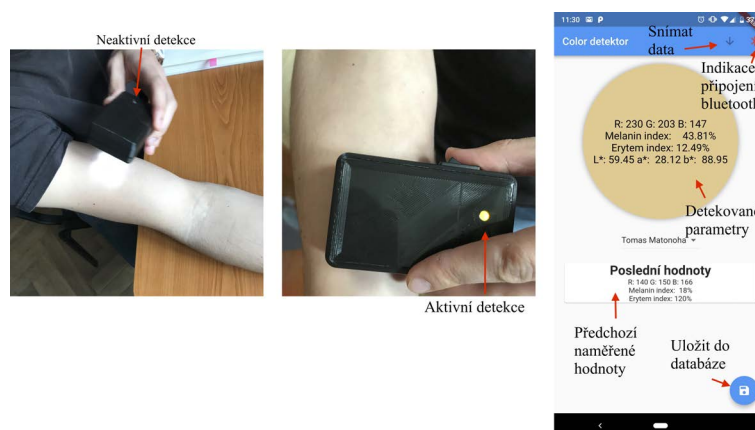
Krok pátý. Po přiložení senzoru na kůži je příjem dat signalizován oranžovým světlem ze stejné LED, která sdělovala informaci o kapacitě baterie, pokud je neaktivní (nesvítí), musí být tedy přiložen blíže ke snímanému povrchu. Je doporučeno, aby se okraje senzoru dotýkaly oblasti zájmu. Pro získání dat měření stačí využít symbol šipky dolů, přímo v aplikaci, která v momentě stisku stáhne data do telefonu. Pro jejich uložení do databáze slouží ikona diskety v pravém dolním rohu. Pro přehlednost jsou ve spodní části aplikace zobrazena předchozí data měření, aby bylo možné interpretovat předběžné závěry ihned na místě. Další funkcí je nastavení jména pacienta. Celá tato metodika, včetně popisu je zobrazena na obrázku 17.



Obrázek 20: Ukázka balení DKP, vlevo po otevření obalu, vpravo spouštěcí tlačítko.



Obrázek 21: Ukázka indikace nabití baterie, vlevo vybitá, vpravo plně nabitá.



Obrázek 22: Ukázka neaktivního/aktivního snímání vlevo, vpravo ovládání aplikace.

Tabulka 7: Specifikace technických parametrů DKP.

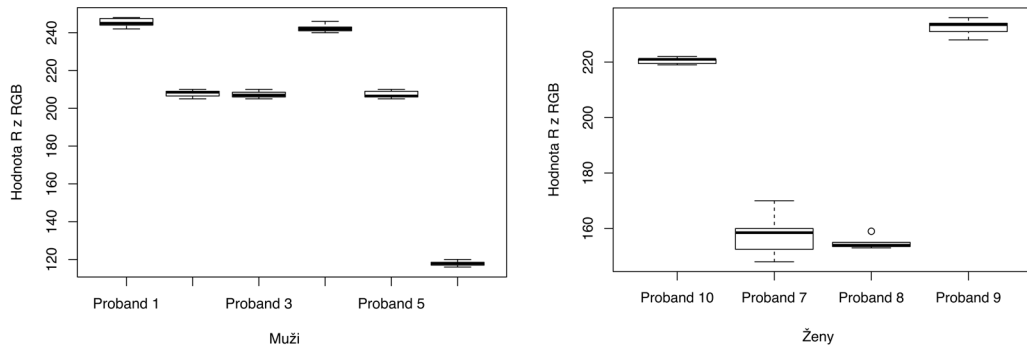
Parametr	Popis
Jméno	DKP
Šířka	56 mm
Výška	91 mm
Hloubka	24 mm
Oblast měření	25 × 25 mm
Váha	97 g
Váha včetně krabičky	197 g
Barevný prostor	RGB, CieLab
Indexy	erytém, melanin
Zdroj světla	4×LED
Rozsah emitovaných vlnových délek	470–640 nm
Typ baterie	Li-Pol
Napětí baterie	3,7 V
Nabíjecí napětí	4,2 V
Nabíjecí čas	1–3 h
Kapacita	900 mAh
Doba měření	1 s
Interval měření	volitelný

4.6 Testování a výsledky měření

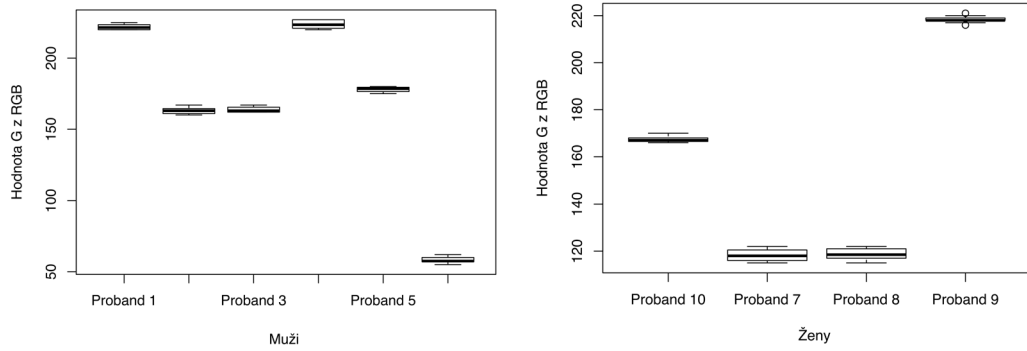
Z odborných publikací je zřejmé, že pro uvedení důvěryhodného produktu na trh je potřeba rozsáhlého testování, které potvrdí, zvláště v oblasti zdravotnictví, jeho bezpečnost a nezávadnost. Doporučuje se několikaleté ověřování pod dohledem odborného týmu specialistů. Výsledky by měli být potvrzené statistickým zpracováním a jejich odbornou interpretací. Takový postup je důležitou součástí z hlediska úspěchu při procesu uvedení výrobku na trh, které je blíže popsáno v kapitole 4.3.

Po vývoji produktu vede stále dlouhá cesta ověřování. Nicméně pro vstup do této kapitoly přístroje DKP byla jeho funkce testována u 10 probandů.

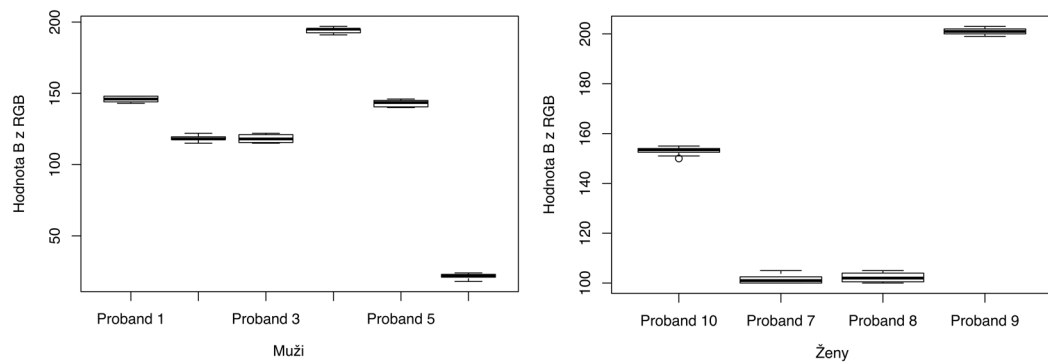
V rešerši byla zmíněna oblast zájmů u podobných komerčních řešení. Ta byla stanovena v místech, kde se nevyskytuje příliš velké ochlupení, které by svým leskem mohlo ovlivnit výsledky měření, pokud se vyskytovalo došlo k jeho odstranění pomocí žiletky. Z těchto důvodů byla zvolena část ruky, přesněji ulnarní strana předloktí zepředu. V té bylo vytyčeno místo zájmu a provedeno několik za sebou následujících měření. U každého probanda se jednalo o podobně stejně vzdálené místo, vždy šlo o jakýsi pomyslný bod mezi zápěstím a loktem, přibližně v polovině. Subjektem zkoumání bylo 6 mužů ve věkovém rozsahu od 24 do 53 let a 4 ženy od 22 do 53 let. Fototypem téměř všichni spadají do kategorie II. a III., výjimkou je jeden muž ve věku 25 let (Mulat). Celkem bylo měření opakováno vždy 10×. Získáno bylo tedy 100 pro každý parametr. Data byla následně sepsána a zpracovávána pomocí volně dostupného programovacího jazyka R v prostředí RStudio.



Obrázek 23: Boxplot R hodnot u 10 probandů, vlevo muži, vpravo ženy.



Obrázek 24: Boxplot G hodnot u 10 probandů, vlevo muži, vpravo ženy.



Obrázek 25: Boxplot B hodnot u 10 probandů, vlevo muži, vpravo ženy.

Z důvodů široké komplexity zadání a realizace zařízení jako takového, byly výstupy zpracovány pouze základními prvky statistiky, zaměřeny zejména na oblast přesnosti měření.

V první bloku byly zpracovány naměřené RGB hodnoty, z kterých jsou matematicky odvozeny všechny další, již zmíněné, parametry, proto je jejich přesnost zcela zásadní. Opakovatelnost stejných výsledků při měření na totožných místech je zobrazena na předchozích krabicových grafech (obrázek č. 23, 24, 25). Jsou zde porovnávány naměřené výsledky mezi mužem a ženou. Variabilita dat nad prvním a třetím kvantilem je ve většině případů nevýrazná, je zřetelné, že numerická data jsou si velice podobná. Výsledky téměř nezaznamenaly odlehle hodnoty, pouze v případě probanda č. 8 při detekci barvy červené. Z dat je zejména čitelné, že v případě probanda č. 6, kterým je subjekt tmavšího fototypu byly naměřené hodnoty výrazně nižší to je způsobeno tím, že velká část záření byla absorbována, a nikoli reflektována zpět do senzoru.

Podrobnější zpracování, které by vycházelo z dlouhodobého systematického snímání a následné analýzy dat, by mohlo být předmětem budoucího kroku např. v dizertační práci.

5 Závěr

Lidská kůže a její patologické abnormality je široce diskutované téma. Úzce souvisí s lidským vzhledem, který relativně patří mezi celoživotně probírané faktory.

Problematický je fakt, že lidská kůže je největším orgánem lidského těla, který jako první přichází do kontaktu s vnějším prostředím. To v určitých případech způsobuje celou řadu nechtěných patologických poruch. Příkladem je vliv UV záření, který v nehorší fázi může způsobit vznik melanomu, ten je bezesporu řazen mezi nejagresivnější formy rakoviny.

Sledování parametrů lidské kůže může pomoci jak v oblasti prevence, diagnostiky tak i terapie. Nejdůležitějším faktorem pro definování zbarvení je kožní pigment melanin. Velice častou poruchou jsou melaninové hyperpigmentace, proto byla tato diplomová práce zaměřena právě na tento parametr.

Vstupní, ale velice podstatnou kapitolu pro určení počátečního směru celé práce byla literární a patentová rešerše dané problematiky. Zaoberá se komerčními produkty, které slouží k detekci kožních parametrů a jejich technologií. Pro plochu, texturu a objem existují kamerové systémy Eykona, Lifeviz a Vectra H1. Měření tloušky je prováděno přístrojem Dermascan, pro detekci barvy slouží DSM II nebo skin-colorimeter CL 400. Kutometr MPA 580 umožňuje snímání viskoelastických parametrů a v neposlední řadě pro měření transepidermální ztráty vody existuje Tewametr TM300. Důležitým výstupem této části bylo rozhodnutí o následujícím vývoji optoelektronického systému, který byl zvolen na základě zpracované rešerše, která vyloučila využití kamerových systémů z důvodů negativního ovlivnění dat měření okolním světlem.

Tyto zmíněné skutečnosti byly využity při řešení hlavního cíle práce, tedy umožnit objektivně snímat pigmentační variabilitu. V rámci logického postupu, byl vytvořen návrh funkce celého zařízení. To bylo řešeno z hlediska vztahu mezi pacientem, zařízením a koncovým uživatelem. Proto vzniklo příslušné blokové schéma, které symbolizuje proces detekce pigmentu. Na jedné straně je přístroj, pojmenovaný DKP (detektor kožního pigmentu). Ten je umístěn na oblast zájmu snímání daného pacienta. Jeho funkce je velice komplexní a umožňuje emitovat světelné záření, příslušných vlnových délek, následně detekovat reflektovanou část a přijatou informaci dále zpracovávat. Výsledná data jsou zasílána pomocí bluetooth do aplikace, kde jsou prezentována koncovému uživateli.

Po návrhu řešení, následovala jeho realizace. V editoru programu Eagle bylo vytvořeno schéma a navrhnutá oboustranná deska plošného spoje. Ta byla následně vyrobena. Jednotlivé komponenty a součástky byly napájeny. Aby mohly všechny moduly spolehlivě fungovat, bylo zapotřebí implementovat napájecí obvody. Výsledný produkt tedy umožňuje získat informaci ve formě RGB, ty ovšem jako takové neslouží k hlavnímu popisu variability pigmentace.

Veškeré důležité výstupy jsou zapsány ve vytvořené aplikaci. Ta vznikla v populárním multiplatformním frameworku *Flutter*. Zde byla naprogramována aplikace jak pro uživatele androidu, tak operačního systému iOS, tím bylo docíleno rozsáhlejší oblasti uživatelského využití. Koncovému uživateli je díky matematickým vztahům přímo v aplikaci vygenerováno několik

parametrů: RGB a CieLab barevné hodnoty, melanin a erytém index. Tyto informace je možné uložit do databáze příslušného pacienta.

Součástí kompletního zařízení je také realizace externí krabičky, která funkčně doplňuje celý přístroj, byla navržena tak, aby po jejím přiložení omezovala vliv okolního světla na senzor. Dále je ergonomicky pohodlná a ostatními prvky napomáhá ke komfortnímu řešení. Pomocí metody 3D tisku, byl vytvořen výrobek, který tak doplňuje funkčnost ze strany ochranné proti mechanickému poškození.

Jelikož by výrobek měl v budoucnu sloužit ke klinickému účelu je důležité dosáhnout zisku statusu zdravotnického prostředku. Z těchto důvodů byla nastíněna legislativně-právní forma uvedení výrobku na trh. Byly zde popsány jednotlivé kroky jak tohoto cíle dosáhnout, včetně certifikace, definování účelu přístroje atp. Nezbytnou součástí je i návod k použití, který byl také nastíněn.

Ke konci práce bylo uvedeno testování DKP. V rámci rozsáhlého řešení celé práce byla zpracována pouze základní statistická metoda, která byla zaměřena na rozptyl jednotlivých hodnot RGB, které jsou i z hlediska zpracování ostatních parametrů naprosto klíčové. Tím byla ověřena podobnost naměřených dat.

Shrnutí dosažených výsledků je následující. V této diplomové práci byl vytvořen přístroj, který splňuje předem definované podmínky. Jeho velikost odpovídá menšímu telefonu, je opatřen ovládacími prvky, které umožňují jednoduché ovládání. Spoustu indikujících prvků, které signalizují veškeré potřebné informace. Řešení je inovativní z hlediska návrhu i realizace. A protože na trhu neexistuje výrobek, který by měřil parametry kůže a zobrazoval je v multiplatformní aplikaci, způsob tohoto řešení tak pozvedává úroveň celého komplexního systému DKP výše.

Varianty rozšíření této práce v rámci hardwaru. Prostor pro vylepšení a úpravu prototypových zařízení je opravdu rozsáhlý.

V případě DKP by bylo přínosné umožnit měření napětí přímo na baterii za pomoci vývojové desky Arduino Nano, tak aby bylo možné detekovat přesný stav baterie. Tato informace by se mohla následně pomocí bluetooth modulu posílat a zobrazovat v koncovém zařízení např. telefonu přímo v aplikaci. Další z možností vylepšení by bylo použití pouze jednoho USB konektoru, které by umožnilo jak nabíjení baterie, tak možnost programování příslušného čipu, to by vyžadovalo drobnou úpravu zapojení. Vhodná by byla Implementace systému automatické kalibrace, která by zajistila, před začátkem každého měření, správnost naměřených výstupních hodnot.

Prostor pro vylepšení aplikace je zejména v oblasti grafické a vizuální. Tak, aby byla z uživatelského hlediska na vysoké úrovni. V rámci funkcí, by software mohl poskytovat možnost připojení více zařízení najednou a také většího množství koncových uživatelů. Data jsou v případě této aplikace ukládána přímo do telefonu. Návrh přesunu dat na server by byl také jednou z možností vylepšení celého produktu.

Hlavní částí rozšíření celé práce by mělo být důsledné testování přístroje z dlouhodobého hlediska. Možnosti jak ověřit přínos DKP i v závislosti na aplikaci různých léčivých látek, ochran-

ných prostředků proti UV záření či jiných způsobů terapie lidské kůže. Tyto dlouhodobé studie by ověřili přesnost měření a našli hlavní aplikační sféru přístroje.

Literatura

- [1] NIYAZ, Ahmatjan, Hajime MATSUMURA, Katsueki WATANABE, Tetsukazu HAMAMOTO a Takayasu MATSUSAWA. Quantification of the physical properties of keloid and hypertrophic scars using the Vesmeter novel sensing device. *International Wound Journal* [online]. 2012, 9(6), 643-649 [cit. 2018-09-05] DOI: 10.1111/j.1742-481X.2011.00932.x. ISSN 17424801. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1742-481X.2011.00932.x>
- [2] BLOEMEN, Monica C. T., Michiel C. E. VAN LEEUWEN, Niels E. VAN VUCHT, Paul P. M. VAN ZUIJLEN a Esther MIDDELKOOP. Dermal Substitution in Acute Burns and Reconstructive Surgery: A 12-Year Follow-Up. *Plastic and Reconstructive Surgery* [online]. 2010, 125(5), 1450-1459 [cit. 2019-03-09]. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3181d62b08. ISSN 0032-1052. Dostupné z: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00006534-201005000-00017>
- [3] TSENG, Feng-Yi, Chin-Jung CHAO, Wen-Yang FENG a Sheue-Ling HWANG. Assessment of Human Color Discrimination Based on Illuminant Color, Ambient Illumination and Screen Background Color for Visual Display Terminal Workers. *INDUSTRIAL HEALTH* [online]. 2010, 48(4), 438-446 [cit. 2018-09-07]. DOI: 10.2486/indhealth.MS1009. ISSN 0019-8366. Dostupné z: <https://www.jstage.jst.go.jp/article/indhealth/48/4/-48MS1009/-article>
- [4] LI-TSANG, Cecilia W.P, Joy C.M LAU a Sally K.Y LIU. Validation of an objective scar pigmentation measurement by using a spectrophotometer. *Burns*. 2003, 29(8), 779-784. DOI: 10.1016/S0305-4179(03)00165-7. ISSN 03054179. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0305417903001657>
- [5] VAN DER WAL, Martijn, Monica BLOEMEN, Pauline VERHAEGEN, Wim TUINEBREIJER, Henrica DE VET, Paul VAN ZUIJLEN a Esther MIDDELKOOP. Objective Color Measurements. 2013, 34(3), e187-e194. DOI: 10.1097/BCR.0b013e318264bf7d. ISSN 1559-047X. Dostupné také z: <https://academic.oup.com/jbcr/article/34/3/e187-e194/4565955>
- [6] Draaijers LJ, Tempelman FR, Botman YA, Kreis RW, Middelkoop E, van Zuijlen PP a . Colour evaluation in scars: tristimulus colorimeter, narrow-band simple reflectance meter or subjective evaluation?. *Burns: journal of the International Society for Burn Injuries*. 2004, 30(2), 7–103. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.burns>.
- [7] VERHAEGEN, Pauline D.H.M., Monica C.T. BLOEMEN, Martijn B.A. VAN DER WAL, Adrianus F.P.M. VLOEMANS, Fenike R.H. TEMPELMAN, Gerard I.J.M. BEERTHUIZEN a Paul P.M. VAN ZUIJLEN. Skin stretching for primary closure of acute burn wounds. *Burns*. 2014, 40(8), 1727-1737. DOI: 10.1016/j.burns.2014.03.014. ISSN 03054179. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0305417914001132>

- [8] CHEON, Young Woo, Won Jai LEE a Dong Kyun RAH. Objective and Quantitative Evaluation of Scar Color Using the L*a*b* Color Coordinates. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2010, 21(3), 679-684. DOI: 10.1097/SCS.0b013e3181d7a7eb. ISSN 1049-2275. Dostupné také z: <https://insights.ovid.com/crossref?an=00001665-201005000-00013>
- [9] VÄLISUO, Petri, Toni HARJU a Jarmo ALANDER. Reflectance measurement using digital camera and a protecting dome with built in light source. *Journal of Biophotonics*. 2011, 4(7-8), 559-564. DOI: 10.1002/jbio.201000113. ISSN 1864063X. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbio.201000113>
- [10] ALLELY, Rebekah R., Lan B. VAN-BUENDIA, James C. JENG, Patricia WHITE, Jingshu WU, Jonathan NISZCZAK a Marion H. JORDAN. Laser Doppler Imaging of Cutaneous Blood Flow Through Transparent Face Masks: A Necessary Preamble to Computer-Controlled Rapid Prototyping Fabrication With Submillimeter Precision. *Journal of Burn Care Research* [online]. 2008, 29(1), 42-48 [cit. 2019-03-16]. DOI: 10.1097/BCR.0b013e31815f6eeb. ISSN 1559-047X. Dostupné z: <https://academic.oup.com/jbcr/article/29/1/42-48/4683906>
- [11] TIMAR-BANU, Olimpia, Hughes BEAUREGARD, Jacqueline TOUSIGNANT, et al. DEVELOPMENT OF NONINVASIVE AND QUANTITATIVE METHODOLOGIES FOR THE ASSESSMENT OF CHRONIC ULCERS AND SCARS IN HUMANS. *Wound Repair and Regeneration* [online]. 2001, 9(2), 123-132 [cit. 2019-03-16]. DOI: 10.1046/j.1524-475x.2001.00123.x. ISSN 1067-1927. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1524-475x.2001.00123.x>
- [12] BRAY, Robert, Kevin FORRESTER, Catherine LEONARD, Ross MCARTHUR, John TULIP a Robert LINDSAY. Laser Doppler imaging of burn scars: a comparison of wavelength and scanning methods. *Burns* [online]. 2003, 29(3), 199-206 [cit. 2019-03-16]. DOI: 10.1016/S0305-4179(02)00307-8. ISSN 03054179. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0305417902003078>
- [13] HORTA, Ricardo, NASCIMENTO, João VILAS-BOAS, Filipa SOUSA, Veronica ORVALHO, Alvaro SILVA a José Manuel AMARANTE. Thermographic analysis of facially burned patients. *Burns* [online]. 2016, 42(1), 236-238 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1016/j.burns.2015.10.021. ISSN 03054179. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0305417915003319>
- [14] MACKINTOSH, JAMES A. The Antimicrobial Properties of Melanocytes, Melanosomes and Melanin and the Evolution of Black Skin. *Journal of Theoretical Biology* [online]. 2001, 211(2), 101-113 [cit. 2019-01-24]. DOI: 10.1006/jtbi.2001.2331. ISSN 00225193. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022519301923318>

- [15] CHI, An, Julio C. VALENCIA, Zhang-Zhi HU, et al. Proteomic and Bioinformatic Characterization of the Biogenesis and Function of Melanosomes. *Journal of Proteome Research* [online]. 2006, 5(11), 3135-3144 [cit. 2019-03-17]. DOI: 10.1021/pr060363j. ISSN 1535-3893. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/pr060363j>
- [16] COELHO, Sergio G., Wonseon CHOI, Michaela BRENNER, et al. Short- and Long-Term Effects of UV Radiation on the Pigmentation of Human Skin. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* [online]. 2009, 14(1), 32-35 [cit. 2019-02-24]. DOI: 10.1038/jidsymp.2009.10. ISSN 10870024. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1087002415305074>
- [17] NOBLESSE, E., C. NIZARD, M. CARIO-ANDRÉ, S. LEPREUX, C. PAIN, S. SCHNEBERT, A. TAÏEB a R. KURFURST. Skin Ultrastructure in Senile Lentigo. *Skin Pharmacology and Physiology* [online]. 2006, 19(2), 95-100 [cit. 2019-02-24]. DOI: 10.1159/000091976. ISSN 1660-5527. Dostupné z: <https://www.karger.com/Article/FullText/91976>
- [18] SUSANNA DROSTE, Miriam. Determining factors of skin colouration: a light and electron microscopic study of the distribution of melanin and its degradation in the human epidermis. [online]. Hamburg, Germany, 2006 [cit. 2019-03-17]. Dostupné z: <http://ediss.sub.uni-hamburg.de/volltexte/2007/3276/pdf/DissertationM.S.Droste2007.pdf>. Disertace. University of Hamburg.
- [19] HILTUNEN, Jouni. Accurate Color Measurement. Finsko, 2002. Dizertace.
- [20] SERUP, Jørgen, B. E. JEMEC a Gary L. GROVE. Handbook of non-invasive methods and the skin. 2nd ed. Boca Raton: CRC/Taylor & Francis, 2006. ISBN 0-8493-1437-2.
- [21] WAN, Pengjie, Chris EDWARDS, Jie ZHENG a Alex ANSTEY. Validation of a novel high-intensity LED light source for skin phototesting at 365 nm. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine* [online]. 2012, 28(2), 80-83 [cit. 2019-01-22]. DOI: 10.1111/j.1600-0781.2011.00641.x. ISSN 09054383. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1600-0781.2011.00641.x>
- [22] HUNT, R. W. G. a Michael POINTER. Measuring colour. 4th ed. Chichester, West Sussex, U.K.: Wiley, 2011. Wiley-IS & T series in imaging science and technology. ISBN 978-1-119-97573-1.
- [23] SOKANSKÝ, Karel. Světelná technika. Praha: České vysoké učení technické v Praze, 2011. ISBN 978-80-01-04941-9.
- [24] SANTOS, Jose Luis a Faramarz FARAHÍ, ed. Handbook of Optical Sensors [online]. CRC Press, 2014 [cit. 2019-04-28]. DOI: 10.1201/b17641. ISBN 9780429193521.

- [25] VAŠINEK, Vladimír. Optické komunikace 1 pro integrovanou výuku VUT a VŠB-TUO. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 2014. ISBN 978-80-248-3675-1.
- [26] TP4056. 1A Standalone Linear Li-Ion Batter. Čína: NanJing Top Power ASIC.
- [27] LT1944. Dual Micro-power step up DC/DC Converter. Milpitas: Linear Technology, 2001.
- [28] Arduino Nano [online]. [cit.2019-02-10].
Dostupné z: <https://www.gme.cz/data/attachments/dsh.772-238.1.pdf>
- [29] TCS230. Texas: The LUMENOLOGY Company, 2003.
- [30] HC-06 [online]. [cit. 2019-02-18]. Dostupné z:
<https://www.olimex.com/Products/Components/RF/BLUETOOTH-SERIAL-HC-06/resources/hc06.pdf>
- [31] Zákon č. 268/2014 Sb., Zákon o zdravotnických prostředcích a o změně zákona č. 634/2004 Sb., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů. In: ASPI [právní informační systém]. Wolters Kluwer ČR [cit. 2019-02-16].
- [32] Zákon č. 21/1997 Sb., Zákon o technických požadavcích na výrobky a o změně a doplnění některých zákonů. In: ASPI [právní informační systém]. Wolters Kluwer ČR [cit. 2019-02-15]
- [33] Jitka Dvořáková. Uvádění zdravotnických prostředků na trh. Praha, 2017. Diplomová práce. Univerzita Karlova. Vedoucí práce JUDr. Petr Svoboda, Ph.D.

- A Zdrojový kód aplikace
- B Elektronické schéma DPS část 1.
- C Elektronické schéma DPS část 2.
- D Horní strana DPS
- E Spodní strana DPS
- F Obsah CD

```
{ Program Main.dart}
```

```
import 'dart:io';
```

```
import 'package:flutter/material.dart';
```

```
import 'package:flutter_blue/flutter_blue.dart';
```

```
import 'detector/color-circle.dart';
```

```
import 'info/info-block.dart';
```

```
void main() => runApp(BaseApp());
```

```
enum CurrentProcess {
```

```
  red,
```

```
  green,
```

```
  blue
```

```
}
```

```
class BaseApp extends StatefulWidget {
```

```
  @override
```

```
  State<StatefulWidget> createState() {
```

```
    return BaseAppState();
```

```
  }
```

```
}
```

```
class BaseAppState extends State<BaseApp>{
```

```
  FlutterBlue flutterBlue = FlutterBlue.instance;
```

```
  var scan;
```

```
  var deviceConnection;
```

```
  BluetoothDevice currentDevice;  var chosenChar;
```

```
  CurrentProcess process = CurrentProcess.red;
```

```
  bool connected = false;
```

```

int red = 255;
int green = 255;
int blue = 255;
int currentPacientId = 0;

@override
void initState() {
  findDeviceAndConnect();
  super.initState();
}

findDeviceAndConnect() {
  scan = flutterBlue.scan().listen((scanResult) {
    String name = scanResult.device.name;
    if (name == "BT05") {
      connectToDevice(scanResult.device);
    }
  });

  super.initState();
}

connectToDevice(BluetoothDevice device) {
  scan.cancel();
  deviceConnection = flutterBlue.connect(device).listen((s) {
    if (s == BluetoothDeviceState.connected) {
      currentDevice = device;
      listenToBlue();
      setState(() {
        connected = true;
      });
    } else {
      setState(() {
        connected = false;
      });
    }
  });
}

```

```

listenToBlue() async {
  List<BluetoothService> services = await currentDevice.discoverServices();
  var chosens;
  services.forEach((s) {
    if (s.uuid.toString() == "0000ffe0-0000-1000-8000-00805f9b34fb") {
      chosens = s;
    }
  });
  if (chosens != null) {
    chosenChar = chosens.characteristics[0];
    await currentDevice.setNotifyValue(chosenChar, true);
    currentDevice.onValueChanged(chosenChar).listen((value) {
      var rep = new String.fromCharCode(value);
      switch (process) {
        case CurrentProcess.red:
          {
            setState(() {
              red = int.parse(rep);
            });
          }
          break;

        case CurrentProcess.green:
          {
            setState(() {
              green = int.parse(rep);
            });
          }
          break;

        case CurrentProcess.blue:
          {
            setState(() {
              blue = int.parse(rep);
            });
          }
          break;
        }
      });
    }
  });
}

```

```

    }
}

getValues() async {

    await currentDevice
        .writeCharacteristic(chosenChar, [0x72]); //72 - r , 67 - g , 62 -
        bw
    sleep(const Duration(seconds:1));
    process = CurrentProcess.red;

    await currentDevice
        .writeCharacteristic(chosenChar, [0x67]); //72 - r , 67 - g , 62 -
        bw
    sleep(const Duration(seconds:1));
    process = CurrentProcess.green;

    await currentDevice
        .writeCharacteristic(chosenChar, [0x62]); //72 - r , 67 - g , 62 - bw
    process = CurrentProcess.blue;
}

@override
Widget build(BuildContext context) {
    return MaterialApp(
        home: Scaffold(
            appBar: AppBar(
                title: Text('Color detektor'),
                actions: <Widget>[
                    IconButton(
                        icon: Icon(Icons.arrow_downward),
                        onPressed: connected ? getValues : null,
                    ),
                    IconButton(
                        icon: Icon(Icons.bluetooth, color: connected ? Colors.
                            lightGreenAccent : Colors.red,),
                        onPressed: findDeviceAndConnect,
                    )
                ]
            )
        )
    );
}

```

```

        ],
      ),
      body: Container(
        child: ListView(
          children: <Widget>[
            ColorCircle(red, green, blue),
            InfoBlock(currentPacientId),
          ],
        ),
      ),
      floatingActionButton: FloatingActionButton(onPressed: null, child
        : Icon(Icons.save),),
    ),
  );
}
}

```

{ Program info-block.dart }

```

import 'package:flutter/material.dart';
import 'package:objectdb/objectdb.dart';

class InfoBlock extends StatelessWidget {
  int currentPacient;

  InfoBlock(this.currentPacient);

  @override
  Widget build(BuildContext context) {
    return Column(
      mainAxisAlignment: MainAxisAlignment.center,
      children: <Widget>[
        DropdownButton<String>(
          value: 'Dan Kamensky',
          onChanged: (String newValue) {

          },
          items: <String>['Dan Kamensky', 'Sebesta']

```



```

        .map<DropDownMenuItem<String>>((String value) {
        return DropDownMenuItem<String>(
            value: value,
            child: Text(value),
        );
    }).toList(),
),
Padding(
    padding: EdgeInsets.all(16.0),
    child: Table(
        defaultVerticalAlignment: TableCellVerticalAlignment.middle,
        children: [
            TableRow(children: [
                TableCell(
                    child: Text('255'),
                ),
                TableCell(
                    child: Text('255'),
                ),
                TableCell(
                    child: Text('255'),
                ),
                TableCell(
                    child: Text('15600'),
                ),
                TableCell(
                    child: Text('16800'),
                ),
            ])
        ],
    ),
);
}
}

```

{color-cirle.dart}

```

import 'package:flutter/material.dart';

import 'dart:math';

class ColorCircle extends StatelessWidget {
  final int r;
  final int g;
  final int b;
  double melaninIndex;
  double erytemIndex;

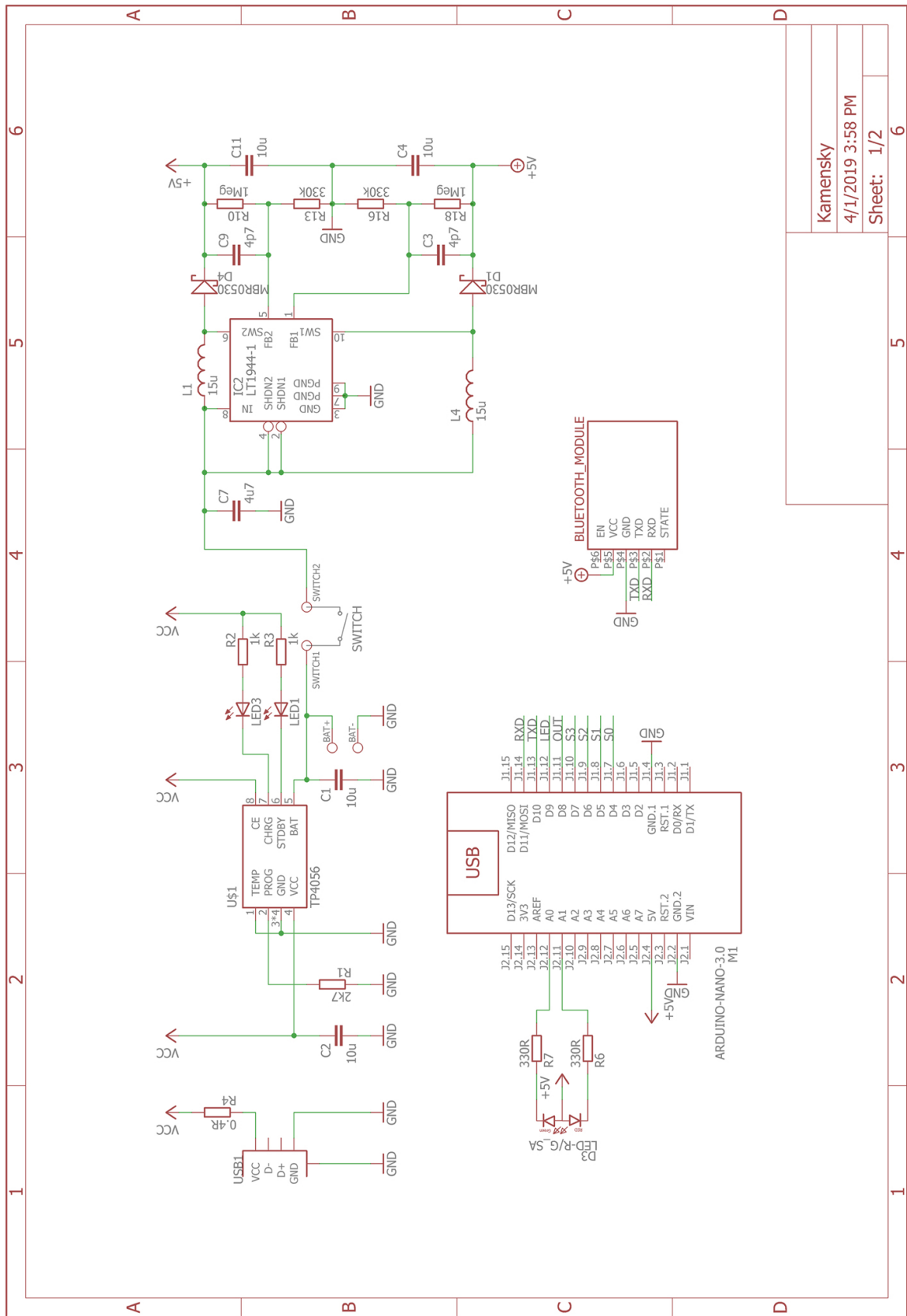
  ColorCircle(this.r, this.g, this.b){
    this.melaninIndex = 100* log(1.0/(r));
    this.erytemIndex = (100* log(1.0/(g)))-(100* log(1.0/(r)));
  }

  @override
  Widget build(BuildContext context) {
    return Container(
      margin: EdgeInsets.all(16.0),
      width: 300,
      height: 300,
      decoration: BoxDecoration(
        boxShadow: [
          new BoxShadow(
            color: Colors.grey,
            blurRadius: 8.0,
          ),
        ],
        color: Color.fromRGBO(this.r, this.g, this.b, 1),
        shape: BoxShape.circle,
      ),
      child: Column(
        mainAxisAlignment: MainAxisAlignment.center,
        children: <Widget>[
          Text(
            'R: ${this.r} G: ${this.g} B: ${this.b}',
            style: TextStyle(fontSize: 20.0),
          ),
        ],
      ),
    );
  }
}

```

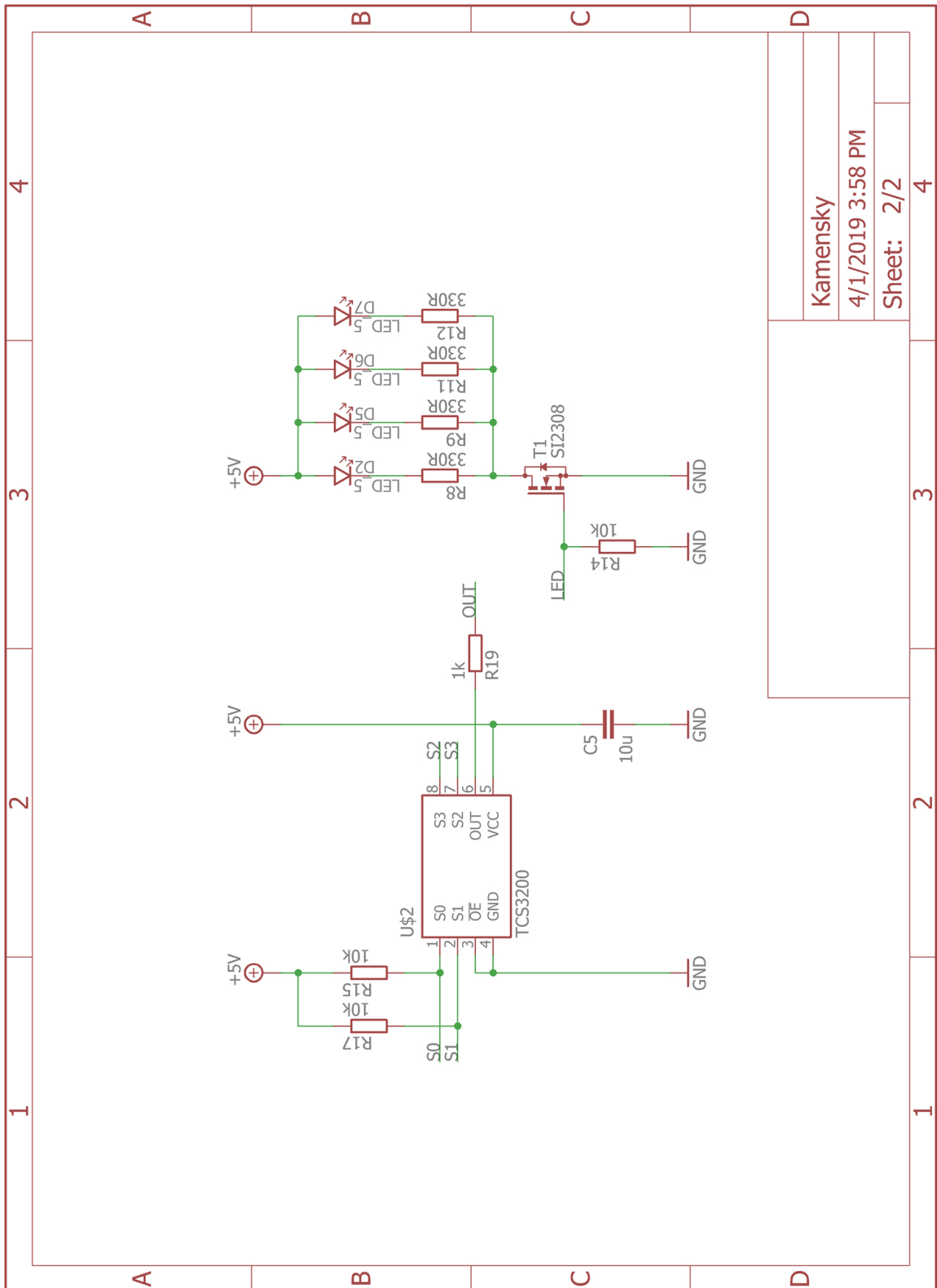
```
Text(  
  'Melanin index:  $\${this.melaninIndex.toStringAsFixed(2)}\%$ ',  
  style: TextStyle(fontSize: 20.0),  
),  
Text(  
  'Erytem index:  $\${this.erytemIndex.toStringAsFixed(2)}\%$ ',  
  style: TextStyle(fontSize: 20.0),  
),  
],  
),  
);  
}  
  
}
```

Výpis 4: Zdrojový kód v jazyce Dart.

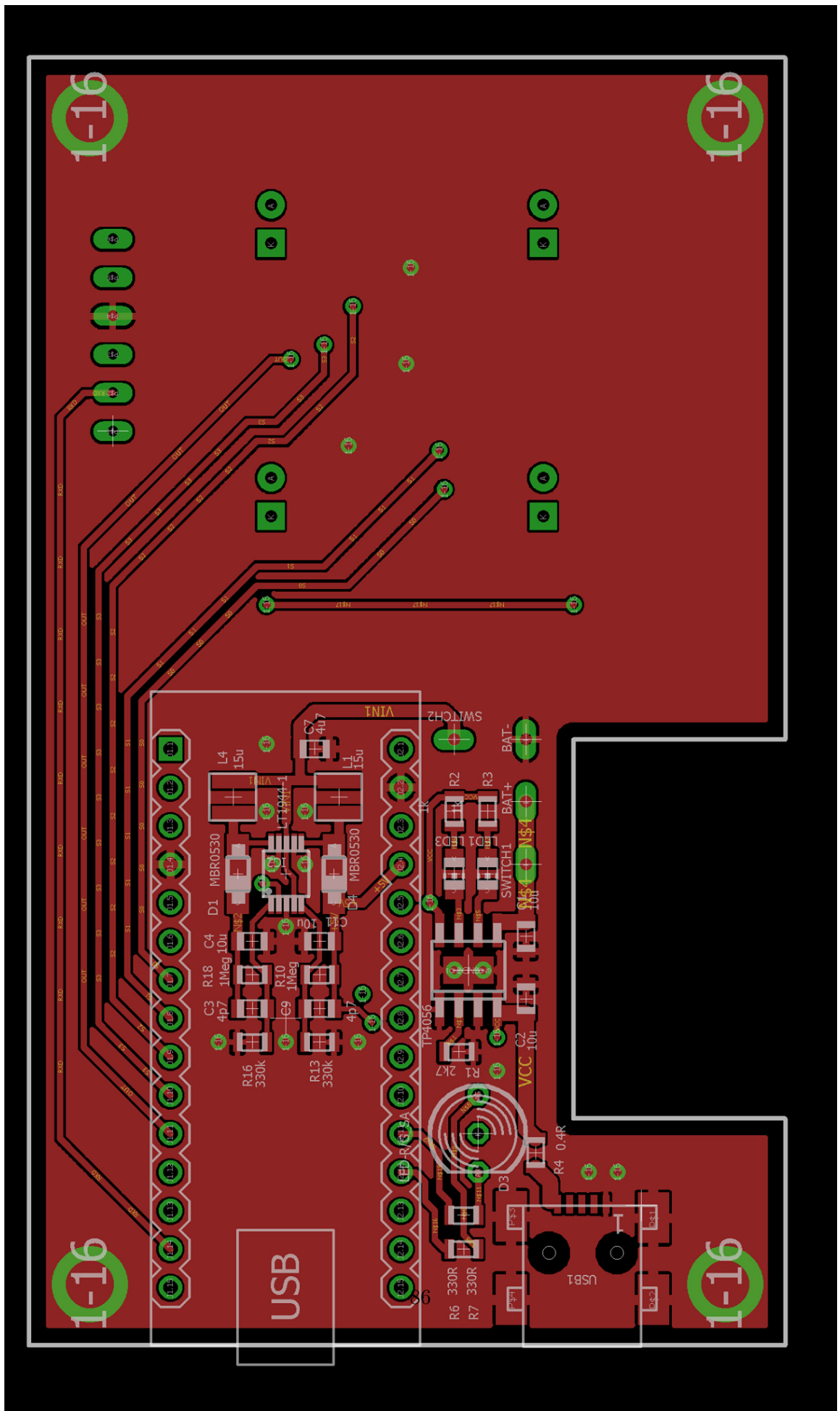


Kamensky
4/1/2019 3:58 PM
Sheet: 1/2

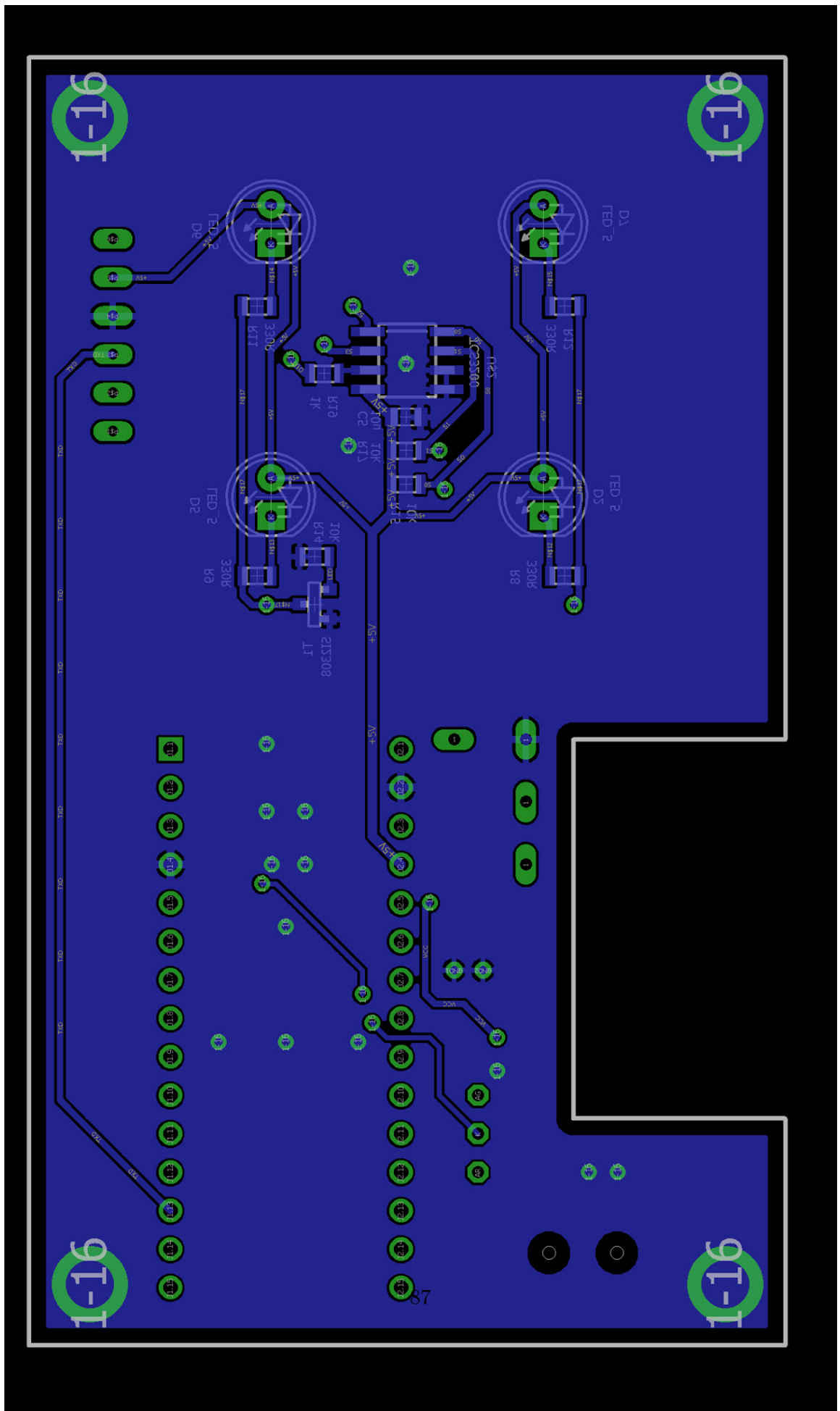
Obrázek 26: Schéma v programu EAGLE, Arduino Nano, napájecí obvody, bluetooth modul.



Obrázek 27: Schéma v programu EAGLE, senzor.



Obrázek 28: Horní strana DPS.



Obrázek 29: Spodní strana DPS.



Obrázek 30: Obsah příloženého CD.