

(19)



(10) **LT 6274 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

- (11) Patento numeris: **6274** (51) Int. Cl. (2016.01): **A61B 5/00**  
**G06T 7/00**  
**G01N 33/00**
- (21) Paraiškos numeris: **2014 100**
- (22) Paraiškos padavimo data: **2014-09-09**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **2016-04-11**
- (45) Patento paskelbimo data: **2016-06-10**
- (62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —
- (85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —
- (30) Prioritetas: —
- (72) Išradėjas:  
**Ingrida VAIŠNORIENĖ, LT**  
**Janina DIDŽIAPETRIENĖ, LT**  
**Ričardas ROTOMSKIS, LT**  
**Narimantas Evaldas SAMALAVIČIUS, LT**
- (73) Patento savininkas:  
**Nacionalinis vėžio institutas, Santariškių g. 1, LT-08406 Vilnius, LT**
- (74) Patentinis patikėtinis/atstovas:  
**Reda ŽABOLIENĖ, Advokatų profesinė bendrija „Žabalienė ir partneriai**  
**METIDA”, Verslo centras VERTAS, Gynėjų g. 16, LT-01109 Vilnius, LT**

- (54) Pavadinimas:  
**Melanocitų vaizdinimas konfokalinio atspindžio mikroskopijos būdu**  
**histologiniuose odos pjūviuose**
- (57) Referatas:

Išradimas susijęs su sistema, skirta odos melanocitų atspindžio odos histologiniuose pjūviuose nustatymui, naudojant konfokalinio atspindžio mikroskopijos būdą, ir jų atspindžio savybių sveikoje žmogaus odoje ir melanocitiniuose odos navikuose, apgamuose ir melanomose, nustatymui bei šios sistemos panaudojimui.

### Technikos sritis

Išradimas susijęs su melanocitų vaizdinimu odos histologiniuose pjūviuose, naudojant konfokalią atspindžio mikroskopiją, ir melanocitų atspindžio savybėmis sveikoje žmogaus odoje ir melanocitiniuose odos navikuose – apgamuose ir melanomose. Šis išradimas taip pat susijęs su tokiu vaizdinimu, kaip neinvaziniu diagnostikos būdu.

### Technikos lygis

Konfokali atspindžio mikroskopija (KAM) yra naujas neinvazinis būdas, skirtas *in vivo* odos tyrimui. Kadangi lazerio spindulys praeina odos ląsteles ir kitas odos struktūras, turinčias skirtingas šviesą laužiančias savybes (atspindžio indeksą), atspindėta šviesa yra sugaunama ir informacija padorojama kompiuterinės įrangos pagalba, gaunant dvimatį vaizdą. Mikroskopas leidžia pateikti gana detalius vaizdus, gautus iš skirtingų odos lygių/gylių, kurie naudojami histologiniuose tyrimuose. Pirmieji tyrimai buvo atliekami, nustatant sveikos odos įvairių ląstelių populiacijas, esančias skirtinguose ląstelių lygiuose.

*In vivo* konfokali atspindžio mikroskopija yra daug žadanti nauja technologija, naudojama odos melanomos neinvazinėje diagnostikoje (1-2). Medicinos praktikoje tyrimas pradėtas naudoti 1995 m., kai *M Rajadhyaksha* su bendraautorais žurnale *Journal of Investigative Dermatology* paskelbė, jog melaninas duoda stiprų kontrastą odoje, tiriant ją *in vivo* konfokaliu atspindžio mikroskopu (3). Tačiau lig šiol nėra tikslių duomenų apie melanocito atspindžio savybes tiriant odą *in vivo* konfokali atspindžio mikroskopijos metodu. Įvairių autorių duomenimis, tiriant šiuo metodu melanocitas gali atrodyti kaip šviesi šakota ląstelė (4). Bendru tyrėjų sutarimu, melanomos diagnozavimas *in vivo* konfokali atspindžio mikroskopijos metodu remiasi melanocitų su kontrastuojančia citoplazma ir hipokontrastiniais branduoliais radimu (5). *Ex vivo* arba histologinių odos pjūvių konfokali atspindžio mikroskopijos metodas kartu su imunohistochemijos metodais galėtų teikti papildomos informacijos apie odos melanocitų atspindėjimą.

Paraiškoje US2012170828 aprašyta konfokali atspindžio mikroskopijos panaudojimas melanomos įvertinimui, naudojant 3D konfokalius vaizdus ir panaudojant tam kompiuterinę įrangą.

Patente US2008319322 aprašytas neinvazinis *in vivo* tyrimas, kuris skirtas nervų ligų, susijusių su diabetu, ŽIV ir kitais susirgimais, įvertinimui arba stebėjimui.

Žinomas būdas, aprašytas WO2013001113, kuriame konfokališkos mikroskopijos pagalba yra gaunami histologiniai X-gal štamo vaizdai, taip pat naudojant fluorescenciją, tokiu būdu gaunant X-gal nuosėdų lokalizacijos ir išplitimo kryptis ląstelių lygyje. Tačiau tiriama visai kitokia medžiaga.

Žinomas US2011206254, kuriame aprašytas odos pigmentacijos tyrimas, naudojant difuzinį atspindžio vaizdą. Šis būdas yra naudojamas hemoglobino ir melanino pasiskirstymo nustatymui, taip pat odos paviršiaus komponentų atspindžio nustatymui. Trūkumas yra tas, kad naudojant šį būdą nėra galimybės nustatyti melanocitų atspindžio savybių.

Žinoma EP2068888 neinvazinė mechanoreceptorių kiekį nustatanti sistema, kurioje naudojamas konfokališkos mikroskopijos būdas, tačiau šis būdas netiria melanocitų atspindžio savybių.

#### Išradimo esmė

Išradimo tikslas – atlikti ir įvertinti odos melanocitų vaizdinimą *ex vivo*, naudojant konfokališkos atspindžio mikroskopijos metodą ir iširti jų atspindį sveikoje žmogaus odoje ir melanocitiniuose odos navikuose – apgamuose ir melanomose.

Konfokali atspindžio mikroskopija yra vienas iš neinvazinių odos tyrimo būdų, padedančių atskirti įvairias mikrostruktūras pagal šviesos atspindžio skirtumus. Medicinoje jis naudojamas žmogaus audinių tyrimams *ex vivo*, t.y. tirti histologinius audinių pjūvius, arba *in vivo*, t.y. tirti audinius ląstelinio lygiu gyvai esamuose laiku išvengiant invazijos į organizmą. *In vivo* konfokališkos mikroskopijos tyrimai šiuo metu atliekami odoje, akyse, vidaus organų (pvz., skrandžio) gleivinėse.

Melanino turinčios ląstelės kontrastuoja tiriant konfokališkos atspindžio mikroskopijos metodu. Melanocitas yra melaniną sintetinanti odos ląstelė. Melanino sintezė vyksta melanosomose šioms pereinant brendimo stadijas nuo I iki IV. Imunohistocheminiai metodai gali būti naudojami siekiant nustatyti skirtingas melanosomų stadijas melanocituose. Melan-A reaguoja su visomis (t.y. I-IV stadijų) melanosomomis, HMB45 specifiskai reaguoja su nebrandžiomis II stadijos

melanosomomis (5). III-IV stadijos melanosomos turi melanino. Pagal melanosomų stadiją imunohistochemiškai vertinamas melanocitų brandumas. Melanomai būdingi atipiniai melanocitai pasižymi sutrikusiu brendimu. Atipinių melanocitų atspindžio savybės yra ypač svarbios diferencinei gerybinių ir piktybinių melanocitinės kilmės odos navikų diagnostikai.

Melanocitų atspindžio nustatymui buvo panaudota neinvazinė odos melanocitų vaizdinimo odoje sistema, apimanti (a) konfokalaus atvaizdo mikroskopą, skirtą gauti pageidaujamos odos srities melanocitų atspindžio duomenis; (b) imunohistocheminį dažymą, siekiant gauti imunohistocheminį vaizdą bei (c) kompiuterį, skirtą odos melanocitų vaizdinimui. Tiriant šia sistema buvo nustatyta, kad melanocitų citoplazma bei branduolio atspindys priklauso nuo imunohistocheminio tyrimo intensyvumo. Melanocitai buvo identifikuoti kompiuteriu pagal juose esančių melanosomų šviesos intensyvumo charakteristikas.

Taip pat buvo nustatyta, kad kompiuteriu pateikiamos melanocitų citoplazmos atspindžio savybės priklauso nuo melanosomų brandumo stadijos. Epidermio sluoksnyje tarp keratinocitų išsidėstę melanocitai dažniau buvo hipokontrastiniai nei ryškiai kontrastuojantys, kontrastuojantis branduolys buvo matomas tiek sveikos odos melanocituose, tiek apgamo nevocituose, o melanosos ląstelės (atipiniai melanocitai) buvo tiek hipo-, tiek izo-, tiek hiperkontrastinės keratinocitų atžvilgiu, daroma išvada, kad melanocito citoplazmos atspindžio savybės skiriasi priklausomai nuo melanosomų brandumo stadijos.

Melanocito citoplazma, turinti nebrandžias I-II stadijos melanosomas, yra pralaidi šviesai, o branduolys – kontrastuojantis, tuo tarpu melanocito citoplazma, turinti brandžias III-IV stadijos melanosomas, kurios pasižymi stipriomis šviesą laužiančiomis savybėmis, yra šviesi, o branduolys – tamsus.

Odos melanocitų vaizdinimo odoje sistema yra skirta melanosomos atspindžio savybėms nustatyti, siekiant gautą informaciją panaudoti paciento būsenos įvertinimui arba stebėjimui, kur panaudojimas apima:

- (a) konfokalaus atvaizdo mikroskopą, skirtą odos melanocitų vaizdinimui;
- (b) imunohistocheminį dažymą, skirtą reakcijos brandumui nustatyti bei
- (c) kompiuterį, skirtą skaitmeninių vaizdų analizei.

Tirti melanocitai bei ląstelių lizdus sudarantys nevocitai identifikuoti kompiuteriu pagal juos sudarančių melanosomų šviesos intensyvumo charakteristikas.

Šis išradimas yra panaudojamas melanocitų atspindžio įvertinimui tiek sveikoje odoje, tiek melanocitiniuose odos navikuose. Šis išradimas gali būti taikomas keratomos, melanomos, apgamo, lentigo tyrimui ir nustatymui.

#### Brėžiniai

Fig. 1. Normalios odos histologinis pjūvis (53 m. pacientas; lokalizacija – vidinis riešo paviršius; odos fototipas I-II):

(A) *ex vivo* konfokalinės atspindžio mikroskopijos metodu padaryta nuotrauka;

(B) HMB45 imunohistocheminio tyrimo rezultatų vaizdas. Rodyklėmis pažymėti bazinio epidermio sluoksnio melanocitai, kurių citoplazma nekontrastuoja (t.y. tamsi), o nežymus kontrastas matomas branduoliuose.

Fig. 2. Spitz nevasas: kliniškai 3 mm diametro amelanotinė papulė su aiškiais kraštais, 56 metų amžiaus pacientei vidiniame riešo paviršiuje; odos fototipas II:

(A) *ex vivo* konfokalinės atspindžio mikroskopijos metodu atlikta nuotrauka;

(B) HMB45 imunohistocheminio tyrimo rezultatų vaizdas.

Fig. 3. Melanoma *in situ* (pigmentinis navikas, 53 metų amžiaus pacientė; šlaunies oda; odos fototipas II):

(A) *ex vivo* konfokalinės atspindžio mikroskopijos metodu atlikta nuotrauka;

(B) Melan-A imunohistocheminio tyrimo rezultatų vaizdas (melanocitai yra Melan-A teigiami, jų citoplazma rudos spalvos). Dauguma melanocitų (melanomos ląstelių) yra hipo- arba izokonstrastinės, palyginti su keratinocitais.

Fig. 4. Kairėje - *in vivo* KAM gautas vaizdas (0.5 x 0.5 mm; gylis - 30 μm žemiau *str. corneum*) paviršiniame epidermio-dermos jungties lygyje; dešinėje – koreliuojantis to paties naviko mikropreparato histologinis vaizdas (HE dažymas, 20x). *In vivo* KAM požymiai: tankių ląstelių klasteriai deformuoja dermos papilas (tamsios žiedinės struktūros). Stebima odos architektūros atipija, kartu su kolageninių skaidulų proliferacija (balkšvos spalvos dermos papilos) bei melanofagais (pavienės šviesą atspindinčios ląstelės matomomis tamsiose dermos papilose) papilinėje dermoje.

Histopatologijos diagnozė: displazinis apgamas su vidutinio laipsnio citologine atipija.

Tinkamiausi įgyvendinimo variantai

### Tyrimo eiga

1. Pacientų atranka (VUOI įtarus apgamų atipiją ar odos melanomą);
2. Odos naviko dermoskopijos ir *in vivo* konfokališios odos mikroskopijos tyrimai (VUOI)
3. Odos naviko ekscizija (VUOI);
4. Odos navikų morfologijos tyrimai, galutinės patologijos diagnozės nustatymas ir histologijos preparatų skenavimas (VPC);
5. *In vivo* odos konfokališios odos mikroskopijos ir histologijos preparatų vaizdų analizė;
6. Sukauptų duomenų analizė statistiniais tyrimo metodais;
8. Eksperimentinis histologinių odos pjūvių konfokališios atspindžio mikroskopijos tyrimas.

Po chirurginio gydymo/ekscizinės biopsijos ir odos naviko histologinio ištyrimo tiriamieji suskirstyti į tris grupes remiantis galutine patologijos diagnoze, nustatyta Valstybiniame patologijos centre (VPC): I grupė – pacientai, kuriems diagnozuoti gerybiniai melanocitinės kilmės odos navikai (melanocitiniai apgamai) neturintys citologinės atipijos požymių (n=25), II grupė – pacientai, kuriems diagnozuoti displaziniai apgamai (n=69) ir III grupė – pacientai, kuriems diagnozuotos odos melanomos (n=44). Remiantis TNM klasifikacija 9 iš 44 odos melanomos buvo 0 stadijos (melanoma *in situ*), 35 – invazinės t.y. I-IV stadijos; vidutinis odos melanomos storis pagal Breslow - 1,35 mm.

Atrinktų atipijos požymių turinčių odos navikų *in vivo* odos konfokališios atspindžio mikroskopijos tyrimas atliktas naudojant VivaScope 1500 aparatą (Lucid, JAV), laikantis gamintojo pateiktų rekomendacijų standartinei tyrimo procedūrai (MAVIG mokymo kursai Vilnius, 2010, 2 priedas). Tyrimo procedūros metu odos tvirtinimui prie *in vivo* konfokališios mikroskopijos aparato naudoti vienkartiniai objektyviniai stikliukai, iš vienos pusės klijuojami audinių klijais prie odos, iš kitos - prie

metalinio žiedo, tvirtinamo magnetais prie konfokališios sistemos (nuotr). Imersijai ant odos paviršiaus lašintas Crodamol aliejus (JAV), tarp objektyvinio stiklelio ir lazerio naudotas ultragarsui skirtas gelis. Tyrimo metu konfokališios atspindžio mikroskopijos vaizdai skenuoti visame, tačiau ne didesniame nei 8 mm naviko plote 30, 60 ir 90  $\mu\text{m}$  nuo odos paviršiaus. Jei navikas buvo didesni nei 8 mm, konfokališios mikroskopijos tyrimas buvo atliekamas daugiausia dermoskopinės atipijos požymių turinčioje naviko vietoje.

Apgamo displazijai būdingi odos struktūros pakitimai matomi tiriant *in vivo* konfokalia odos vaizdinimo sistema analizuoti ir vertinti skaitmeniniuose mozaikiniuose (Vivablock) vaizduose 30, 60 ir 90  $\mu\text{m}$  nuo odos paviršiaus. Normaliam epidermiui būdinga "medaus korio" vaizdą primenanti struktūra vertinta 30  $\mu\text{m}$  nuo odos paviršiaus (1 pav.). Jos nebuvimas, t.y. netvarkingas ląstelių išsidėstymas, kai nelieka aiškių ląstelių ribų buvo vertinamas kaip "būdingos epidermio struktūros praradimas" (2 pav.). Tame pačiame lygyje matomos šviesios atipinės ląstelės, šakotos ar stambios (didesnės nei 20  $\mu\text{m}$ ) vertintos kaip "pedžetoidinė infiltracija" (3 pav.). 60 ir 90  $\mu\text{m}$  nuo odos paviršiaus gylyje vertinti ląstelių lizdai, jų homogeniškumas bei ribos. Neturintys aiškių ribų arba vientisumo ląstelių lizdai vertinti kaip "diskoheziniai" arba atipiniai pavienių ląstelių lizdai (4 pav.). Tuo tarpu, įprasti šviesių monomorfiškų ląstelių lengvai atskiriamas ribas turintys lizdai vadinti "tankių ląstelių lizdais" (5 pav.).

### **Odos navikų morfologijos tyrimai, galutinės patologijos diagnozės nustatymas ir histologijos preparatų skenavimas**

Galutinė patologijos diagnozė ir melanocitų atipijos požymiai nustatyti Valstybiniame patologijos centre gydytojui patologui atlikus morfologijos tyrimų vertinimą. Hematoksilinu ir eozinu dažyti histologijos preparatų vaizdai skenuoti Aperio ScanScope GL objektyvių stiklelių skeneriu (Aperio Technologies, Vista, CA, JAV) 20x padidinimu.

### ***In vivo* odos konfokališios odos mikroskopijos ir histologijos preparatų vaizdų analizė**

Tirtų navikų *in vivo* odos konfokališios mikroskopijos vaizdų ir skenuotų H/E

dažytų tų pačių navikų mikropreparatų vaizdų analizė atlikta gydytojo dermatologo. Analizuoti anksčiau kitų tyrėjų aprašyti melanocitinių odos navikų *in vivo* odos konfokalių atspindžio mikroskopijos diagnostiniai kriterijai/požymiai, skirti citologinei atipijai apibūdinti.

Statistinei analizei naudoti penki *in vivo* konfokalių atspindžio mikroskopijos vaizduose vertinti kriterijai - epidermio struktūra, pedžetoidinė infiltracija, tankių, nehomogeniškų arba diskoheziniai ląstelių lizdai. Jie analizuoti ir lyginti su histologiniuose vaizduose matomais pakitimais skenuotuose hematoksilinu ir eozinu dažytuose navikų mikropreparatuose. *In vivo* konfokalių atspindžio mikroskopijos ir H/E dažytų mikropreparatų vaizdų koreliacija parodyta pav.

Ryškiai melanocitinei atipijai būdingi *in vivo* odos konfokalių atspindžio mikroskopijos citologinės atipijos požymiai vertinti gerybiniuose, displaziniuose ir piktybiniuose melanocitiniuose odos navikuose.

### **Histologinių odos pjūvių paruošimas**

Parafininis formalinu fiksuoto audinio stulpelis pjaustomas 3 µm storio pjūviais mikrotomu. Tada pjūviai panardinami į karšto vandens vonelę, perkeliama ant mikroskopavimo stikliuko ir išdžiovinami karštoje orkaitėje.

### ***Ex vivo* konfokali atspindžio mikroskopija**

*Ex vivo* konfokaliai atspindžio mikroskopijai atlikti naudojami histologiniai odos pjūviai. Šiuo metodu jie tiriami *Nikon "Eclipse TE2000"* mikroskopu, turinčiu *C1si* konfokalią skenavimo sistemą (objektyvas: *x60 Plan Apo VC oil*, 1.4 skaitinė apertūra). Apšvietimui naudojamas 515 nm bangos ilgio argono jonų lazeris, atspindžiui aptikti - standartinis 12 bitų RGB detektorius ir 500-530 nm praeinamumo filtras. Vaizdas apdorojamas programine įranga *Nikon EZ-C1 Bronze version 3.80* ir *ImageJ 1.45*.

Gavus histologinių odos pjūvių konfokalius vaizdus atliekamas šių pjūvių imunohistocheminis tyrimas.



### **Imunohistocheminiai tyrimai**

Imunohistocheminiai tyrimai su monokloniniais pelės antikūnais melanosomai (HMB45) ir Melan-A atliekami naudojant multimerinę technologiją, pagrįstą detekcijos sistema *ultraView Universal DAB* (Ventana, Tucson, AZ). HMB45 (klonas HMB45; DAKO, Glostrup, DK) ir Melan-A antikūnai (klonas A103; DAKO, Glostrup, DK) padengiami naudojant 1:200 tirpalo praskiedimą (ekspozicijos trukmė 32 minutės), po to seka automatinis imunodažymas *Ventana BenchMark Ultra* (Ventana, Tucson, AZ) ir ląstelių kondicionavimas (standartinis kondicionierius CC1) 95 °C 64 minutes.

### ***Ex vivo* odos konfokalių odos mikroskopijos ir histologijos preparatų vaizdų analizė**

Kadangi tiriant odą *in vivo* konfokalių atspindžio mikroskopijos būdu negalima pasakyti, kuri ląstelė yra keratinocitas, o kuri melanocitas, atlikome odos histologinių pjūvių *ex vivo* konfokalių mikroskopijos ir imunohistocheminius tyrimus, kad būtų galima įvertinti melanocitų atspindį.

Atlikta sveikos odos (Fig. 1), Spitz apgamo (Fig. 2) ir odos melanomos (Fig. 3) *ex vivo* konfokalių atspindžio mikroskopija. Gauti vaizdai (Fig. 1-3 A) gretinti su imunohistocheminiais vaizdais (Fig. 1-3 B). Rodyklėmis pažymėti melanocitai. Jų citoplazmos ir branduolio atspindys vertintas lyginant su keratinocitų atspindžiu.

Apgamo ląstelės (nevomelanocitai) turi kontrastuojančius branduolius, o citoplazmos kontrastas tiriant konfokaliu atspindžio mikroskopu yra neryškus, tiesiogiai koreliuoja su stipresne HMB45 reakcija (dešinėje nuotraukoje teigiama nevomelanocitų reakcija nudažo citoplazmą ruda spalva). Rodyklėmis pažymėti melanocitai yra hipokonstrastiniai tiriant konfokaliu atspindžio mikroskopu, palyginti su aplink išsidėsčiusiais keratinocitais.

*Ex vivo* konfokalių atspindžio mikroskopijos metodais vaizdinami tiek odos keratinocitai, tiek ir melanocitai, o kartu su imunohistocheminiais metodais įvertinamas odos melanocitų atspindys ir sveikoje odoje, ir melanocitiniuose odos navikuose.

Remiantis atlikto tyrimo rezultatais, kad epidermio sluoksnyje tarp keratinocitų išsidėstę melanocitai dažniau buvo hipokonstrastiniai nei ryškiai kontrastuojantys, kontrastuojantis branduolys buvo matomas tiek sveikos odos melanocituose, tiek

apgamo nevocituose, o melanomos ląstelės (atipiniai melanocitai) buvo tiek hipo-, tiek izo-, tiek hiperkontrastinės keratinocitų atžvilgiu, daroma išvada, kad melanocito citoplazmos atspindžio savybės skiriasi priklausomai nuo melanosomų brandumo stadijos. Nebrandžias (I-II stadijos) melanosomas turintys melanocitai gali turėti tiek hipokonstrastinę, tiek šviesai pralaidžią citoplazmą bei kontrastuojantį branduolį.

## LITERATŪRA

1. Busam KJ, Charles C, Lohmann CM, Marghoob A, Goldgeier M, Halpern AC. Detection of intraepidermal malignant melanoma in vivo by confocal scanning laser microscopy. *Melanoma Res.* 2002 Aug;12(4):349-55.
2. Gerger A, Wiltgen M, Langsenlehner U, Richtig E, Horn M, Weger W, et al. Diagnostic image analysis of malignant melanoma in in vivo confocal laser-scanning microscopy: A preliminary study. *Skin Res Technol.* 2008 Aug;14(3):359-63.
3. Rajadhyaksha M, Grossman M, Esterowitz D, Webb RH, Anderson RR. In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: Melanin provides strong contrast. *J Invest Dermatol.* 1995 Jun;104(6):946-52.
4. Busam KJ, Charles C, Lee G, Halpern AC. Morphologic features of melanocytes, pigmented keratinocytes, and melanophages by in vivo confocal scanning laser microscopy. *Mod Pathol* 2001;14(9):862-8.
5. Scope A, Benvenuto-Andrade C, Agero AL, Malvey J, Puig S, Rajadhyaksha M, et al. In vivo reflectance confocal microscopy imaging of melanocytic skin lesions: Consensus terminology glossary and illustrative images. *J Am Acad Dermatol.* 2007 Oct;57(4):644-58.
6. Naoki Oiso and Akira Kawada (2011). *The Stage of Melanogenesis in Amelanotic Melanoma, Melanoma in the Clinic - Diagnosis, Management and Complications of Malignancy*, Prof. Mandi Murph (Ed.), ISBN: 978-953-307-571-6, InTech, DOI: 10.5772/18628.

## IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Odos melanocitų vaizdinimo odoje sistema, apimanti:

- (a) konfokalaus atvaizdo mikroskopą, skirtą odos melanocitų vaizdinimui;
- (b) imunohistochemines reakcijas, skirtas melanocitų brandumui nustatyti;
- (c) kompiuterį, skirtą skaitmeninei vaizdų analizei,

besiskirianti tuo, kad melanocitai, kaip įvairaus brandumo ląstelės, yra identifikuojamos skaitmeniniuose vaizduose pagal melanosomų šviesos intensyvumo charakteristikas.

2. Sistema pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad kompiuterio skaitmeniniais vaizdais pateikiamos melanocitų citoplazmos atspindžio savybės priklauso nuo melanosomų brandumo stadijos.

3. Sistema pagal 1 arba 2 punktą, besiskirianti tuo, kad sistema yra pritaikyta diferencijuoti melanosomas pagal melanocito citoplazmą, turinčią nebrandžias I-II stadijos melanosomas, kuri yra pralaidi šviesai, o branduolys – kontrastuojantis.

4. Sistema pagal bet kurį iš 1 - 3 punktų, besiskirianti tuo, kad sistema yra pritaikyta diferencijuoti melanosomas pagal melanocito citoplazmą, turinčią brandžias III-IV stadijos melanosomas, kurios pasižymi stipriomis šviesą laužiančiomis savybėmis, kuri yra šviesi, o branduolys – tamsus.

5. Odos melanocitų vaizdinimo odoje sistemos pagal 1 punktą panaudojimas melanocitų atspindžio savybėms nustatyti, siekiant gautą informaciją panaudoti paciento būsenos įvertinimui arba stebėjimui *in vivo* KAM, kur panaudojimas apima:

- (a) konfokalaus atvaizdo mikroskopo, skirto odos melanocitų vaizdinimui, panaudojimą;

(b) imunohistocheminių reakcijų, skirtų melanocitų brandumui nustatyti, panaudojimą;

(c) kompiuterio, skirto skaitmeninei vaizdų analizei, panaudojimą;

besiskiriantis tuo, kad melanocitai, kaip įvairaus brandumo ląstelės, yra identifikuotos skaitmeniniuose vaizduose pagal melanosomų šviesos intensyvumo charakteristikas.

6. Panaudojimas pagal 5 punktą, besiskiriantis tuo, kad kompiuterio skaitmeniniais vaizdais pateikiamos melanocitų citoplazmos atspindžio savybės priklauso nuo melanosomų brandumo stadijos.

7. Panaudojimas pagal 5 punktą, besiskiriantis tuo, kad sistema yra pritaikyta diferencijuoti melanosomas pagal melanocito citoplazmą, turinčią nebrandžias I-II stadijos melanosomas, kuri yra pralaidi šviesai, o branduolys – kontrastuojantis.

8. Panaudojimas pagal 5 punktą, besiskiriantis tuo, kad sistema yra pritaikyta diferencijuoti melanosomas pagal melanocito citoplazmą, turinčią brandžias III-IV stadijos melanosomas, kurios pasižymi stipriomis šviesą laužiančiomis savybėmis, kuri yra šviesi, o branduolys – tamsus.

9. Panaudojimas pagal 5 punktą, besiskiriantis tuo, kad būseną yra sveika oda.

10. Panaudojimas pagal 5 punktą, besiskiriantis tuo, kad būseną yra melanocitinis odos navikas.

11. Panaudojimas pagal 10 punktą, besiskiriantis tuo, kad melanocitinis odos navikas yra keratoma, melanoma, apgamas, lentigo.

12. Panaudojimas pagal 11 punktą, besiskiriantis tuo, kad melanocitinis odos navikas yra apgamas.

13. Panaudojimas pagal 11 punktą, besiskiriantis tuo, kad melanocitinis odos navikas yra melanoma.

LT 6274 B

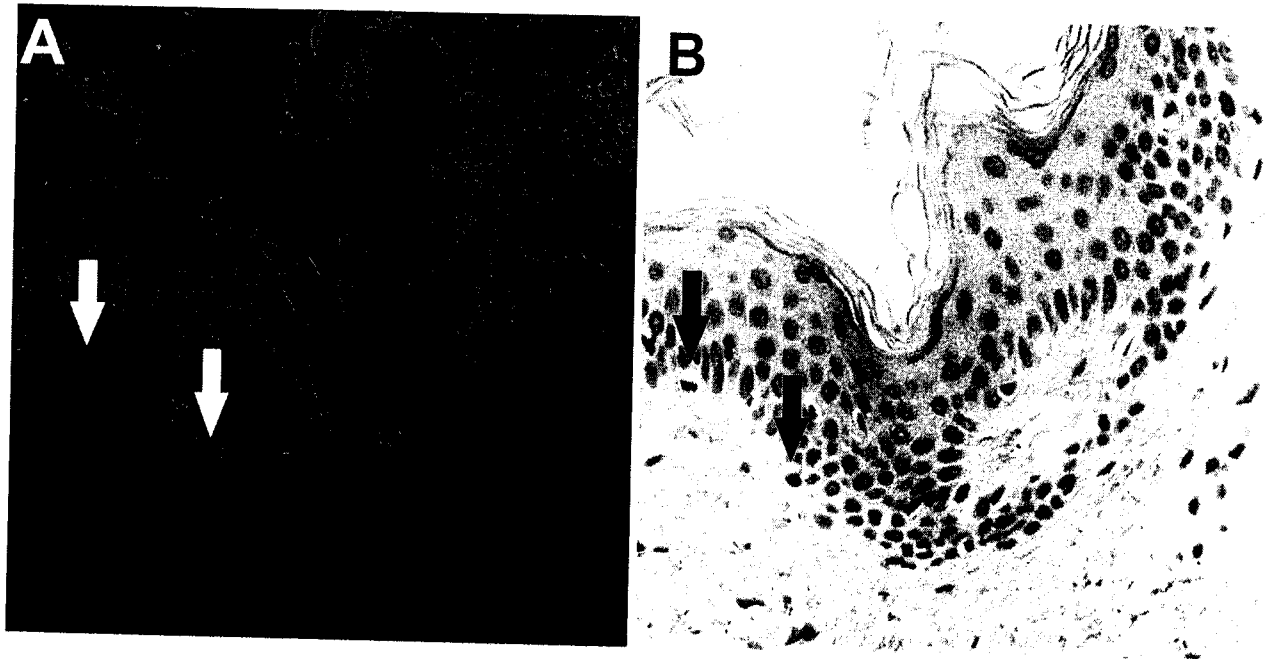


Fig. 1

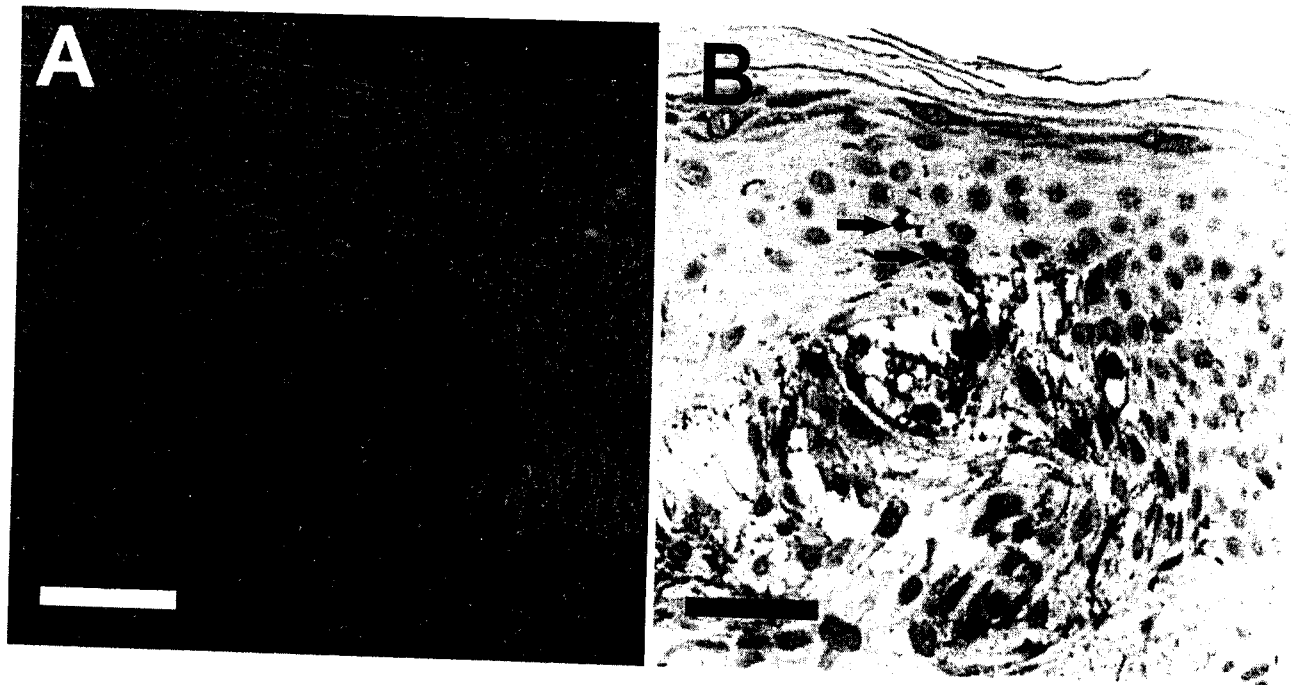


Fig. 2

LT 6274 B

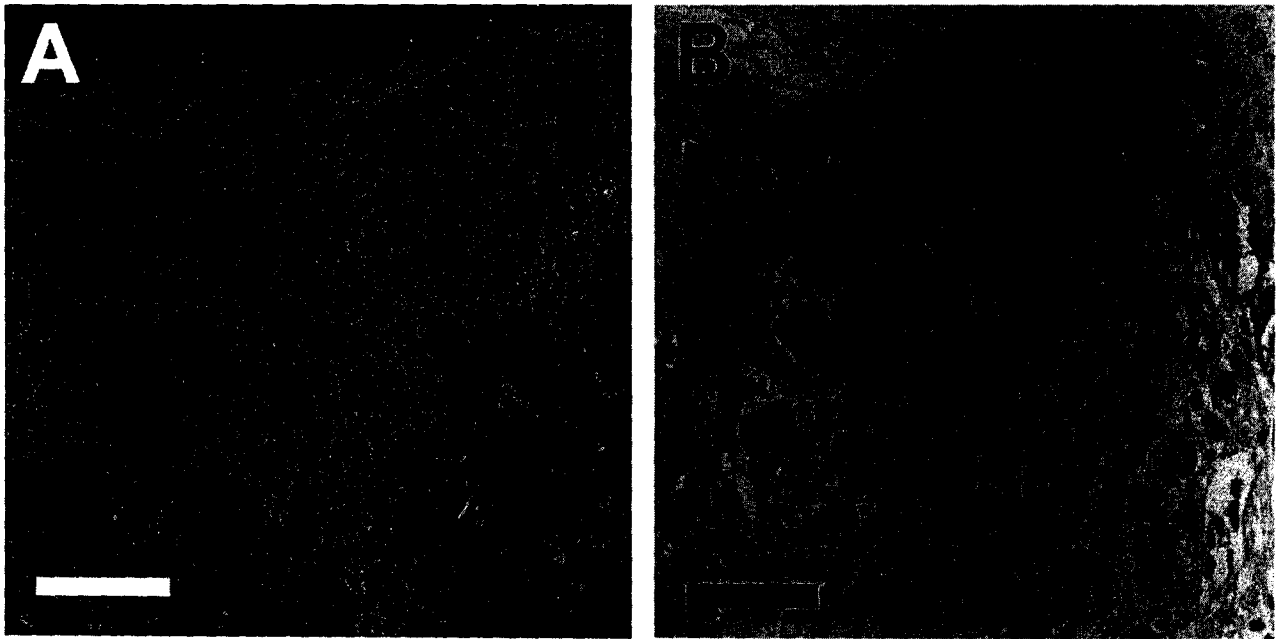


Fig. 3

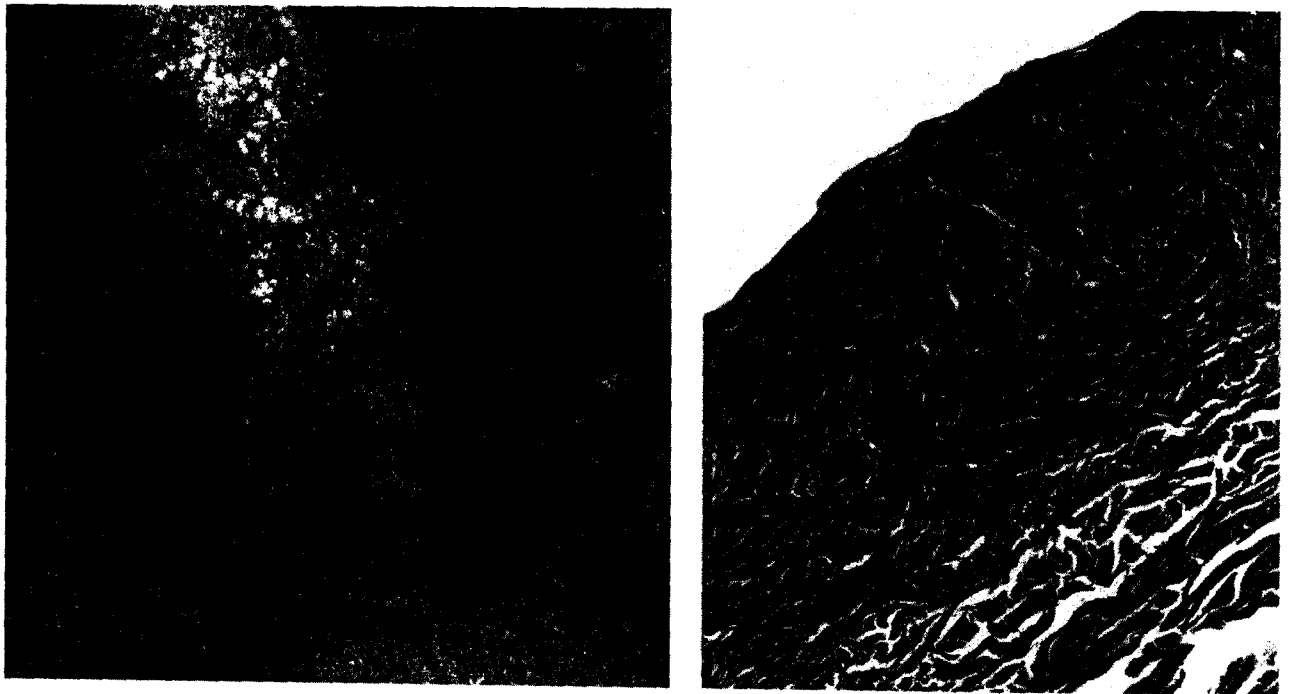


Fig. 4