

Új képalkotó technikák a bőrgyógyászatban és azok klinikai alkalmazása

Novel imaging techniques and their clinical applications in the field of dermatology

KISS NORBERT DR^{1,2}, ANKER PÁLMA¹, BÁNVÖLGYI ANDRÁS DR¹,
LŐRINCZ KENDE DR¹, FÉSŰS LUCA DR^{1,2}, BOZSÁNYI SZABOLCS^{1,2},
SZIPÓCS RÓBERT DR^{2,3}, MEDVE CZ MÁRTA DR¹, WIKONKÁL NORBERT DR¹
Simmelweis Egyetem, Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika, Budapest¹,
Magyar Tudományos Akadémia Wigner Fizikai Kutatóközpont Szilárdtest-fizikai és Optikai
Intézet, Budapest²,
R&D Ultrafast Lasers Kft., Budapest³

ÖSSZEFOGLALÁS

Az elmúlt évtizedekben az orvosi képalkotás fejlődése jelentős előrelépéseket hozott a bőrgyógyászatban. Bár jelenleg a hisztopatológiai vizsgálat az „arany standard” diagnosztikus módszer, a már-már szövettani felbontást lehetővé tévő *in vivo*, *non-invazív* képalkotási módszerek számos bőrgyógyászati kórkép vizsgálatára hatékonyan alkalmazhatók. A szerzők összefoglalják a bőrgyógyászat területén már széleskörűen alkalmazott, valamint az ígéretes, de egyelőre kísérleti stádiumban lévő bőrgyógyászati képalkotó módszereket. Az egyes modalitások elméleti hátterének ismertetése mellett részletezésre kerülnek a különböző technikák klinikai alkalmazásának lehetőségei.

Kulcsszavak:

**bőrgyógyászati képalkotás –
optikai koherencia tomográfia
– reflektancia konfokális mikroszkópia –
nemlineáris mikroszkópia**

SUMMARY

The development of novel medical imaging tools has resulted in significant progression in the field of dermatology. However, histopathological evaluation still remains the gold standard diagnostic method. Novel, *in vivo non-invasive* imaging modalities can provide near histological resolution and can be applied in the assessment of various dermatological diseases. In this paper, the authors review the clinically applied imaging techniques among the newest experimental devices. After the description of the basic principles and imaging properties of these techniques, the authors also discuss their clinical applications.

Key words:

**dermatological imaging –
optical coherence tomography
– reflectance confocal microscopy –
non-linear microscopy**

A bőrgyógyászati *in vivo* képalkotás többszázéves múltra tekint vissza és a technikai fejlesztéseknek köszönhetően eszköztára folyamatosan bővül. Johan Christophorus Colhaus elsőként kísérte meg a bőrfelszín mikroszkópos vizsgálatát 1663-ban, míg a széles körben használt dermatoszkópia csak közel háromszáz évvel később jelent meg. Manapság a bőrgyógyászati diagnosztika lehetőségei túllépi a hagyományos *ex vivo* hisztopatológiai vizsgálatokat (1). A legpontosabb diagnózist továbbra is a különböző elváltozások szövettani vizsgálata

szolgáltatja, azonban az új képalkotó módszerekkel valós időben, mintavétel és szövettani feldolgozás nélkül vizsgálhatók. Továbbá, míg bőrbioopszia során kiterjedt tünetek esetén csupán egy lézió vizsgálata történhet, addig a különböző képalkotó módszerek nagyobb bőrterület vagy több testrégió képleteinek áttekintését tehetik lehetővé (2). A jövőben a szakmai kihívást jelentő esetek diagnózisa az új képalkotó módszerek elterjedésével egyszerűbbé válhat, és egyes esetekben kiváltható lehet a bőrbioopszia elvégzése.

Levelező szerző: Wikonkál Norbert dr.

e-mail: wikonkal.norbert@med.semmelweis-univ.hu

Dermatoszkópia

A dermatoszkóp az 1950-es évektől terjedt el szélesebb körben, Leon Goldman, amerikai bőrgyógyásznak köszönhetően, aki pigmentált bőrelváltozások vizsgálatára sikerrel alkalmazta. Az utóbbi 70 évben a dermatoszkóp a bőrgyógyász „fonendoszkópjává” nőtte ki magát (3). A dermatoszkóp egy epilumineszcens kézi mikroszkóp, mely általában tízszeres nagyítást ad. Segítségével láthatóvá válnak a szabad szemmel nem észlelhető epidermalis és dermalis struktúrák, ezzel további morfológiai információt szolgáltat (1. táblázat) (4). A dermatoszkóp az utóbbi időben nélkülözhetetlenné vált a melanoma és a nem-melanoma bőrtumorok (non-melanoma skin-cancer, NMSC) diagnózisában, követésében és a lokális recidíva értékelésében. A dermatoszkópia dermatoonkológiai alkalmazása mellett általános bőrgyógyászati kórképek diagnózisát is segíti, használható a haj, a periungualis régió kapillárisai és a körömlemez elváltozásainak vizsgálatára (3). A klasszikus, nem-polarizált fényvel működő dermatoszkópok (non polarized dermoscope, NPD) esetén a készülék direkt kontaktusba kerül a bőrrel immerziós médium alkalmazása mellett, hogy csökkentsük a stratum corneumról visszaverődő fény mennyiségét, ezzel „átlássunk” ezen a rétegen. 2001 óta érhető el polarizált fényvel működő dermatoszkópok (polarized dermoscope, PD), melyek esetén nincs szükség immerziós közegre. PD használható kontakt és nem-kontakt módon is (5, 6). Bár a két módszer so-

rán látható képek hasonlóak, mégis előfordulnak különbségek. NPD-val egyes felületes struktúrák jobban vizsgálhatók, mint a pseudoszarucysták seborrheas keratosis esetén. PD segítségével pedig a dermis mélyebb struktúrái vizualizálhatók jobban, például a pigmenthálók és -rögök, illetve a vascularis struktúrák. Azonban a regressziós jelenségek, mint a „peppering” PD-val vizsgálva kevésbé prominensek (7). Egyes szerzők szerint érdemes a NPD és PD technikával is megvizsgálni az elváltozásokat, amelyekre a korszerű, kombinált dermatoszkópok lehetőséget is adnak (8). A videodermatoszkópia elterjedésével az egyes léziók időbeli összehasonlítása, követése is lehetséges, továbbá nagyobb mértékű nagyítás érhető el, így további morfológiai jellemzők válnak láthatóvá, amely növelheti a diagnosztikus pontosságot (9). A digitális képalkotás fejlődése lehetővé tette, hogy egyes rendszerek akár 400x-os nagyításra is képesek, azonban ennek klinikai haszna még nem tisztázott (10). A videodermatoszkópia nagy előnye, hogy lehetővé teszi vizsgálat közben a felismerendő struktúrák bemutatását, így egyszerűsíti a módszer oktatását. Továbbá, a nagyobb nagyításnak köszönhetően a kevésbé gyakorlott vizsgálók könnyebben felismernek egyes képleteket, ezzel is segítve a dermatoszkópia elsajátítását (11). A videodermatoszkópiával kapott jó minőségű digitális kép lehetőséget ad a telemedicina fejlődésére a bőrgyógyászat szakterületén belül is, mely során a készült felvételeket egy dermatoszkópiában jártas szakértő értékeli. A teledermatológia potenciálisan segítheti az alap-

	A kontraszt forrása	A jel keletkezésének módja	Penetrációs mélység	Lateralis felbontás	Axialis felbontás	Eredmény	Longitudinális követés
Hisztológia	Exogén festékek alkalmazása	VIS (fény-mikroszkópia)	Subcutis (ált. 5 mm)	0,1-4 µm	kb. 5 µm	késleltetett	nem lehetséges
Dermatoszkópia	Stratum corneum átvilágítása	Polarizált/nem polarizált fény (VIS)	Dermis	változó	változó	valós időben	lehetséges (videodermatoszkópia)
HFUS	Akusztikus impedancia	ultrahang (ált. 20 MHz)	Subcutis (6-7 mm)	200 µm	80 µm	valós időben	lehetséges
OCT	Fényreflexió, fényszórás és interferencia	IR és NIR lézer (800-1300 nm)	Dermis (1-2 mm)	0,5-10 µm	1-10 (ált. 7,5) µm	valós időben	lehetséges
RCM	Törésmutató	NIR lézer (830 nm)	Dermis felső része (0,25-0,3 mm)	0,5-1 µm	2-5 µm	valós időben	lehetséges
TPF	Két fotonnal gerjeszthető kromofórok	NIR lézer (700-1300 nm)	Dermis (0,5 mm)	0,5 µm	1,5 µm	valós időben	lehetséges
SHG	Nem centroszimmetrikus molekulák	IR lézer	Dermis (1 mm)	0,4-1 µm	2 µm	valós időben	lehetséges

1. táblázat

A bőr vizsgálatára alkalmazható fontosabb képalkotó modalitások jellemzői (rövidítések: VIS: visible spectrum, látható fény; IR: infrared spectrum, infravörös tartomány; NIR: near infrared spectrum, közel-infravörös tartomány,

HFUS: high frequency ultrasound, magas frekvenciájú ultrahang; OCT: optical coherence tomography, optikai koherencia tomográfia; RCM: reflectance confocal microscopy, reflektancia konfokális mikroszkópia; TPF: two-photon absorption fluorescence, kétfoton abszorpciós fluoreszcencia; SHG: second harmonic generation, másodharmonikus keltés (16, 29, 33, 38)

ellátást, amennyiben nincs elérhető szakorvos, továbbá javíthatja a prevenciót és a betegek utánkövetését, különösen bőrdaganatok és egyes foglalkozási bőrbetegségek esetén (12, 13). A gyakran időigényes személyes vizsgálatokat és konzultációkat, a jövőben részint kiválthatják a telemedicina adta lehetőségek, ezzel csökkentve a vizsgálatok idejét, s javítva a betegek együttműködését. Az okostelefonok és teledermatológiai applikációk elterjedésével a beteg saját kezdeményezésére is elérhetővé válhat teledermatológiai konzultáció. Ezt azonban a rendelkezésre álló adatok alapján a személyes konzultációk diagnosztikus pontossága jelenleg még jelentősen felülmúlja. Azonban, a mesterséges intelligenciát használó applikációk fejlődésével ez a jövőben változhat (14). Összességében elmondható, hogy a dermatoszkópia egy költséghatékony, non-invazív diagnosztikai módszer, amellyel bőrdaganatok esetén egyértelműen növelhető a diagnosztikus pontosság. A dermatoszkóp különösen fontos eszköz a korai melanomák felismerésében. A dermatoszkópia segítségével csökkenthető a feleslegesen elvégzett biopsziák száma benignus elváltozások esetén. Nemcsak a kórisme felállítására, hanem pl. basalioma (bazálsejtes carcinoma, BCC) esetén az altípus azonosítására, laphámcarcinoma (laphámrák, SCC) esetén a jól, illetve kevésbé differenciált tumorok elkülönítésére is alkalmazható (8). Hátránya, hogy a dermatoszkópos vizsgálat során észlelhető jellegzetességek, gyakran nem specifikusak, így eltérő eredetű elváltozások is mutathatnak hasonló képet, így a diagnosztikus pontosság nagyban függ a vizsgáló jártasságától. Emellett a dermatoszkópia nem alkalmas a tumorok mélységbeli kiterjedésének meghatározására, amely melanoma esetén a legfontosabb prognosztikus faktor és elengedhetetlen a terápiás terv kialakításához (15).

Magas frekvenciájú ultrahang

Az ultrahang az orvoslás egyes területein széles körben elterjedt, biztonságos és költséghatékony képalkotó módszer. Bár bőrgyógyászati indikációban még leginkább csak centrumokban érhető el, várható a szélesebb körben történő elterjedése is. UH vizsgálat során elektromos feszültség hatására a vizsgálófejen lévő piezoelektromos kristályok hanghullámokat keltenek, amelyek a különböző akusztikus impedanciájú szövetek határán visszaverődnek. A visszaverődött hanghullámokat ugyanaz a vizsgálófej detektálja és elektromos jellé alakítja. Az elektromos jelből a számítógépes szoftver képet generál, amelyet általában B-módban, szürkeárnyalatos kétdimenziós metszeti kép formájában jelenítünk meg. UH esetén az alkalmazott frekvencia nagysága fordítottan arányos a penetrációs mélységgel és egyenesen arányos a felbontással. A bőrgyógyászatban a magas frekvenciájú UH (high frequency ultrasound, HFUS) terjedt el, amely 15-20 MHz frekvenciájú UH alkalmazását jelenti. A leggyakrabban alkalmazott 20 MHz körüli frekvencia penetrációs mélysége 6-7 mm, felbontása 50-200 μm , mellyel a bőr rétegei jól elkülöníthetők (16). A HFUS képeken a bőr keresztmetszeti képét kapjuk, az epidermisz echodús vonalként, a dermisz echodús sávként jelenik meg, a subcután zsírszövet

pedig echoszegény sáv, melyet hosszanti echodús fibrózus szeptumok tagolnak (17). Az alkalmazott fix frekvenciájú UH-hoz képest több információhoz juthatunk flexibilis frekvenciájú UH használatával, mely során a mélyebb rétegek vizsgálata mellett részletgazdagon megjeleníthetők az epidermisz elváltozásai, ezt Doppler-vizsgálattal kiegészítve, további információhoz juthatunk a vizsgált régió véráramlásáról is (18). A bőrbetegségek egy része (scleroderma, egyes tumorok) megváltoztatja a bőr mechanikai tulajdonságait, amelyet UH elasztográfiával vizsgálhatunk. Ekkor UH-gal a bőrt normál állapotában, illetve enyhe nyomás alatt vizsgáljuk, a két UH-os képet egy szoftver veti össze, amely összeállítja a színekódolt elasztogramot (19). HFUS-gal meghatározható a bőr vastagsága, tumorok kiterjedése, továbbá alkalmas terápia követésére és a terápiás hatékonyság megítélésére is. HFUS segítséget nyújt a diagnózis felállításában, illetve pontosításában az esetek több, mint 80%-ban (20). A HFUS különösen hatékonyan bizonyult BCC esetén az invázió kizárására, a mélységi terjedés mértékének meghatározására, illetve a manapság előtérbe kerülő konzervatív terápiák esetén alkalmas a kezelés követésére (21). Újabb irodalmi adatok alapján a HFUS nagyban segítheti a hidradenitis suppurativa (HS) pontos stádiumbeosztását is. Míg klinikai vizsgálat során a HS léziók kiterjedését gyakran alulbecsülik, a HFUS objektív információt ad a folyamat kiterjedésére, sőt bizonyos szubklinikus elváltozások is észlelhetők, amelyek fizikális vizsgálat során rejtve maradhatnak. Egyes adatok szerint a HS súlyosságának és kiterjedésének klinikai meghatározása esetén a HFUS-al kapott plusz információk az esetek 84%-ban módosították a terápiás tervet (22). A HFUS hátránya, hogy a módszer klinikai haszna nagyban függ a vizsgáló jártasságától. Továbbá, számos elváltozás UH-os képen hasonló kontraszttal jelenik meg, például az echoszegény BCC mintegy beleolvad a szintén echoszegény szubkután zsírszövetbe, ezért ehhez hasonló esetekben a tumorhatárok nem határozhatók meg biztonsággal. A korlátozott felbontóképesség miatt önállóan diagnosztikára kevésbé, inkább a más, nagyobb felbontóképességű módszerekkel együtt alkalmazható (20).

Optikai koherencia tomográfia

Az optikai koherencia tomográfia (optical coherence tomography, OCT) segítségével először 1991-ben sikerült leképezni a retina rétegeit, azóta a szemészetben alapvizsgálatnak számít a retina és a cornea vizsgálatára. A technikai finomításoknak köszönhetően megjelent a medicina más területein is és a 90-es évek végén alkalmazni kezdték a bőrgyógyászatban is (23). Az OCT működésének alapja az alacsony koherencia interferometria. A vizsgálandó elváltozást infravörös (infrared, IR) vagy közel-infravörös (near-infrared, NIR) sugárzással megvilágítva a szövetekről visszaverődő sugárzás interferál egy referencia sugárral, az így keletkező interferenciamenta alapján a mélységi profil meghatározható. Ezzel az adott képlet mikrométeres felbontású szürkeárnyalatos keresztmetszeti képét kapjuk (24). Az OCT az UH képalkotás optikai analógiájának tekinthető, azon-

ban itt a szövetek optikai reflektivitása képezi a képképzés alapját, nem pedig az akusztikus impedancia különbség. Az OCT alkalmas a melanoma és NMSC diagnózisára és a tumorhatárok meghatározására, továbbá gyulladásos bőrbetegségek aktivitásának követésére és a fény okozta öregedés vizsgálatára. Hátránya, hogy csak kb. 1,5 mm mélységben képes leképezni a bőr rétegeit, továbbá a celluláris struktúráról nem nyerhető információ (20). Továbbá, a képek minősége nagyban függ a vizsgáló tapasztalatától. Egy 2018-as tanulmány szerint pörkösödő, ill. hámló folyamatok esetén csak alacsony képi minőség érhető el. Azonban, még közepes képi minőség esetén is nagyobb volt a módszer diagnosztikus pontossága, mint a szabad szemmel történő vizsgálatnak és dermatoszkópiának. Ugyanezen tanulmányban az OCT a BCC-k szubtipusának meghatározásában közel 70%-ban volt eredményes. Megemlítenéd, hogy ebben a tanulmányban klinikailag nem egyértelmű léziókat vizsgáltak, így a gyakorlatban ennél pontosabbnak ígérkezik a módszer (25). Az OCT 1997-es bőrgyógyászati alkalmazása óta sikertörténetnek számít a képképzők között. A módszerrel a szöveti struktúra jól megjeleníthető bármely kontrasztanyag vagy előkészület alkalmazása és ionizáló sugárzás nélkül. Az OCT mára biztos helyet kapott a klinikum egyes területein, mindemellett sorra jelennek meg a módszer technikai fejlesztései. A dinamikus OCT (D-OCT) a bőr rétegeinek leképezésén túl lehetővé tette az erek 3D leképezését, ezzel segítheti a gyulladásos bőrbetegségek, kötőszöveti betegségek, érmalformációk és daganatok felismerését, továbbá a módszerrel vizsgálhatóak az égési sérülések és a sebgyógyulás (26). A magas felbontású OCT (high definition OCT, HD-OCT) felbontóképessége 3 μm , amellyel celluláris struktúrák is vizsgálhatók. A HD-OCT penetrációs mélysége azonban elmarad az OCT-tól, maximum mindössze 570 μm (27). A polarizáció-szenzitív OCT (PS-OCT) alapja, hogy egyes anyagok képesek a fény polarizációs állapotának megváltoztatására, ez további kvantitatív információt szolgáltat a vizsgált mintáról (28). A bőr polarizációs tulajdonsága nagyrészt a szöveti kollagéntartalom függvénye, így a PS-OCT alkalmas lehet a fibrosissal járó betegségek vizsgálatára (29).

Reflektancia konfokális mikroszkópia

A reflektancia konfokális mikroszkópia (RCM) alapjait 1995-ben fektették le és azóta az OCT-hoz hasonlóan viszonylag szélesebb körben elterjedt a bőrgyógyászati gyakorlatban (29). Az RCM potenciális klinikai jelentőségét és jövőbeli elterjedését jelzi, hogy a módszerrel bőrgyógyászati szakmai konferenciákon már gyakorlati képzés keretei közt találkozhatunk. 2018-ban került először megrendezésre az első önálló konferencia és tanfolyam, melynek célja a módszer bemutatása és az alapismeretek elsajátítása elsősorban bőrgyógyászok és bőrpatólogusok számára. A különböző konfokális mikroszkópok felépítése hasonló, tartalmaznak egy fényforrást, kondenzort, kollimátort, immerziós objektív lencsét és detektort. Az immerziós objektív refrakciós indexe (1,33) közel megegyezik az epidermis refrakciós indexével (1,34). A képképzés során az objektívet tartalma-

zó vizsgálófejet megfelelő immerziós médium alkalmazásával a bőrhöz kell érinteni. Az objektív merőleges mozgása lehetővé teszi a bőr különböző síkokban történő vizsgálatát. A vizsgálat során a minta egy kis háromdimenziós részletét világítják meg NIR tartományba eső (830 nm), alacsony teljesítményű (1-5mW) lézerrel (30). A fókuszált majd rekollimált gerjesztő lézerfény egy pontba fókuszálását kis átmérőjű blende biztosítja. A fókuszált, térszűrt, rekollimált lézernyaláb foltmérete közel akkora, mint a gerjesztő fény hullámhossza. Ezt a fajta fókuszálást a kollimátor és a kondenzor lencserendszer teszi lehetővé (31). A tárgypontból visszaszóródó fény egy megfelelően elhelyezett szűk résen, a túlyukon keresztül éri el a nagy érzékenyséű detektort. A túlyuk kizárja a külső forrásból érkező szórt fényt, így csak a tárgypontból érkező fókuszált fény vetül a detektorra. A képképzés kontrasztját az egyes struktúrák eltérő törésmutatói adják, a legfontosabb endogén kontrasztanyag a melanin, hemoglobin és az egyéb sejtorganellumok (32). Az RCM-val készült kép sok kis pixel összeillesztésével készül, azáltal, hogy a gerjesztő lézer a meghatározott területet pontrólpontra végigpásztázza. A számítógépes szoftver a pixelek összeillesztésével 2-5 μm vastagságú, szürkeárnyalatos, horizontális (*en face*) metszetet készít, tehát az OCT-val és a klaszikus hisztológiával ellentétben a metszési sík ez esetben a bőrrel párhuzamos (30). A technikával kis méretű, 0,5x0,5 mm^2 nagyságú látóterek vehetők fel, a látótér bővítése érdekében ezen képek mozaikként összeilleszthetők, így akár 8x8 mm^2 nagyságú bőrterület is áttekinthető (33). A pásztázást különböző síkokban is elvégezhetjük, ezt nevezzük „optikai szeletelésnek”, így horizontális metszetekhez juthatunk (32). A módszerrel 250-300 μm mélységig leképezhető az epidermis, papilláris dermis és a retikuláris dermis felső része. RCM vizsgálattal 1 μm laterális és 3 μm axiális felbontás érhető el, ezzel megközelíti egy korszerű fénymikroszkóp 0,2-0,3 μm -es feloldóképességét (30). Tekintettel, hogy a különböző gyulladásos bőrbetegségek főleg az epidermiszt és a dermisz felületet érintik, RCM-val a hagyományos szövettanhoz hasonló felbontással vizsgálhatók. A RCM leginkább a dermatoonkológia területén használatos non-invazív vizsgálati eszköz. A konzervatív és topikális terápiák előtérbe kerülése megkívánja, hogy a diagnózisra és a kezelés követésére alkalmazott módszerek is nem-invazívak legyenek (32). Bár RCM-val azonosíthatók az SCC-t jellemző morfológiai eltérések, a módszer nem teszi lehetővé a dermoepidermális junkció pontos leképezését, ezért az invazív és az *in situ* SCC elkülönítése nehézségekbe ütközik. A melanoma diagnózisánál és stádiumbeosztásánál is limitáló tényezőként szerepel az RCM korlátozott penetrációs képessége. RCM-val az intraepidermális folyamatok jól megítélhetők, azonban a dermális struktúrákról nem ad információt. Melanoma esetén további nehézséget okoz a gyulladásos sejtek és kollagének jelenléte a dermisben, amelyek optikai tulajdonságaik miatt rontják a melanocyták vizualizációját (32). A BCC-kra számos karakterisztikus morfológiai elváltozást írtak le RCM-val. Egy korai, 2004-es tanulmányban *Nori és mtsai.* 5 kritérium prediktív értékeit vizsgálták. Legalább 2 jellemző eltérés jelenléte 100%-os szenzitivitással azonosította a BCC-ket, több kritérium fennál-

lása esetén a specificitás növekedett. A kutatócsoport 4 kritérium teljesülése esetén kapta a leginkább optimális szenzitivitás és specificitás értékeket (82,9% és 95,7%) (34). A RCM dermatoonkológiában betöltött szerepét a penetrációs képesség limitálja, azonban még így is értékes módszer egyéb vizsgálatok kiegészítésére. A RCM eredménye a klinikai képpel és dermatoszkópos lelettel együtt értékelve megbízható módszer, önállóan alkalmazva azonban nő a téves diagnózisok száma. Hátránya, hogy még a korszerű kézi RCM készülékekkel is igen időigényes a vizsgálat, így a rutin diagnosztika helyett egyes szerzők inkább csak kérdéses diagnózis esetén ajánlják. Emellett a készült képek kiértékelése jártasságot igényel, a aminek elsajátítása minimum 4-6 hónapot igényel, mely több ezer lézió értékelését foglalja magában (35). Bár az RCM készülékek a dermatoszkópokhoz képest igen költségesek, a diagnosztikus pontosság növelése, így a felesleges biopsziák csökkentése hosszú távon megtérülhet. 2017 január 1-től az Amerikai Egyesült Államokban az RCM a Centers for Medicare and Medicaid Services (CMS) által finanszírozott vizsgálat, tehát bőrgyógyászok kiszámlázhatják a vizsgálat költségét a biztosítótársaságok felé. Az elszámoláshoz több mozaikkép felvétele és kiértékelése szükséges különböző mélységi síkokban (33).

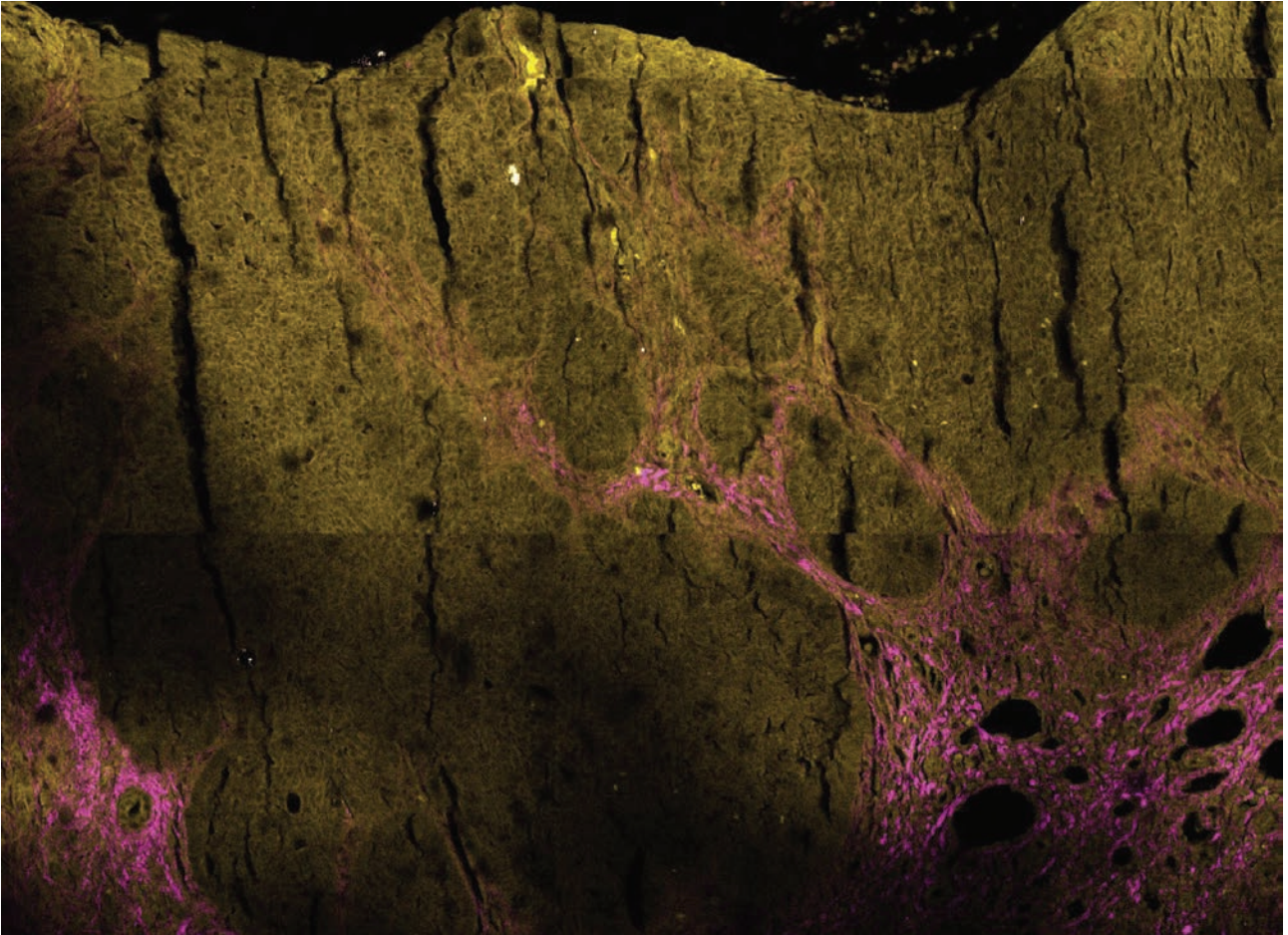
Nemlineáris optikai mikroszkópia

A nemlineáris optika (nonlinear optics, NLO) a fény viselkedését nem lineáris közegben írja le, ahol a polarizáció nem lineáris összefüggést mutat a fény elektromos mezejével. A lineáris optikai technikák egy foton és az anyag kölcsönhatásán keresztül adják a képalkotás kontrasztját. NLO mikroszkópia esetén a képalkotás magasabb rendű fény-anyag kölcsönhatásokon alapul (36). NLO jelenségek a hagyományos mikroszkópok esetén alkalmazott fényintenzitásoknál elenyészően kicsi valószínűséggel fordulnak elő. Nagy fényintenzitások mellett azonban előfordulásuk gyakoribb, így előállításukhoz ultrarövid impulzusüzemű lézerekre van szükség, hogy a gerjesztő fény térben és időben nagymértékben koncentrálva legyen. A NLO módszerek kevésbé érzékenyek a felbontást csökkentő szórt fényre, így kiválóan alkalmasak a szövetek nagy felbontású leképezésére. Az alkalmazott NIR lézerekkel elhanyagolható fototoxicitás mellett az egyfotonos módszerekhez képest nagyobb penetrációs képesség érhető el (37, 38). A NLO mikroszkópia modalitásai közül a bőr *in vivo* vizsgálatára alkalmas a kétfoton abszorpciós fluoreszcencia (two-photon absorption fluorescence, TPF) és a másodharmonikus keltés (second harmonic generation, SHG), melyek már kereskedelmi forgalomban is elérhetőek. *Ex vivo* vizsgálatok folynak a harmadharmonikus keltés (third harmonic generation, THG), a koherens anti-Stokes Raman szórás (Coherent anti-Stokes Raman scattering, CARS) és a stimulált Raman szórás (stimulated Raman scattering, SRS) klinikai alkalmazását illetően (37). TPF esetén két szimultán (0,5 fs időtartamon belül) érkező foton gerjeszt egy molekulát, mely egy, a gerjesztő fotonoknál nagyobb energiájú fotonot emittál. Az előállításához alkalmazott im-

pulzusüzemű módusszinkronizált lézerek egy 0,1 femtoliter térfogatú fókuszpontban hozzák létre a kétfotonos gerjesztéshez szükséges energiasűrűséget egy rövid impulzus idejére. Az impulzusok között nincs energialeadás, így ezen ultrarövid impulzusüzemű lézerek esetén az átlagos energialeadás nagyon alacsony szintű. A minta fókuszponton kívül eső részei nem gerjesztődnek, így minimalizálható a lézer sejtkárosító hatása. A módszer előnye, hogy bár a gerjesztés NIR tartományban történik, az emittált nagyobb energiájú foton az elektromágneses spektrum látható tartományába esik (36). A fontosabb két fotonnal gerjeszthető intracelluláris kromofórok a bőrben a nikotinamid adenin dinukleotid (NADH), a flavin adenin dinukleotid (FAD) és az elasztin (39). A TPF-hoz hasonlóan két foton anyaggal való kölcsönhatásakor jön létre SHG, azonban ez esetben a molekula nem abszorbeálja a két foton. SHG esetén a két szimultán érkező foton egy nem-centroszimmetrikus molekulával kölcsönhatásba lépve szóródik, az így keletkező foton pedig pontosan a két foton energiájának kétszerese lesz. Így SHG esetén a fotonok anyaggal való kölcsönhatása során nem lép fel energavesztés. A bőrben intenzív SHG jelet ad nem-centroszimmetrikus tripla-hélix szerkezetének köszönhetően a kollagén, így az SHG módszer alkalmas bőrtumorok és a bőr fény okozta öregedésének vizsgálatára (39). Ezek az NLO módszerek alkalmasak a bőr *in vivo* 3D képalkotására, akár együtt alkalmazva is, multimodális képalkotást megvalósítva. A TPF elsősorban a celluláris struktúrák és az elasztin, az SHG pedig a kollagénrostok eltéréseiről ad információt, így a két módszer együttes alkalmazásával leképezhető az epidermisz és dermisz egyaránt (1. ábra). NLO mikroszkópiával vizsgálhatók bőrdaganatok, egyes genetikai betegségek, a metabolikus szindróma okozta bőrelváltozások és a bőroregedés (40). Kutatócsoportunk kísérletei során BCC és kontroll bőrmintákban vizsgálta különböző kvantitatív analízis módszerekkel a kollagénrostok tulajdonságait BCC detektálása érdekében (1). CARS technika alkalmazásával speciális képalkotási beállítások mellett a hagyományos hematoxin-eozin festett szövettani metszetekhez hasonló képalkotás is megvalósítható (41). A kapott képek értékelése így nem igényel külön jártasságot, így a szövettani feldolgozás egy további *in vivo* alternatíváját jelentheti ez a technika a jövőben. A különböző képfeldolgozási algoritmusok nagy segítséget nyújthatnak a NLO mikroszkópia során készült képek értékelésére, objektív diagnosztikai kritériumrendszerek kidolgozására és a sebészi szélek meghatározására. A NLO különböző ritka bőrbetegségek vizsgálatára is alkalmazható, ezek közül munkacsoportunk vizsgálta elsőként az Ehlers-Danlos szindróma karakterisztikus bőrelváltozásait NLO módszerekkel (38). A nemlineáris mikroszkópia fent nem részletezett módszerei a BVSZ 91. évfolyam 1. számában kerültek bemutatásra.

RGB autofluoreszcencia

Klinikánkon kísérleti körülmények között elérhető egy új, non-invazív módszer, az RGB autofluoreszcencia (RGB-AF). Az RGB (Red, Green, Blue) egy olyan additív színmodellt



1. ábra

Noduláris típusú basalioma kétfoton abszorpciós fluoreszcencia (two-photon absorption fluorescence, TPF, sárga színnel) és a másodharmonikus keltés (second harmonic generation, SHG, magenta színnel) képe.

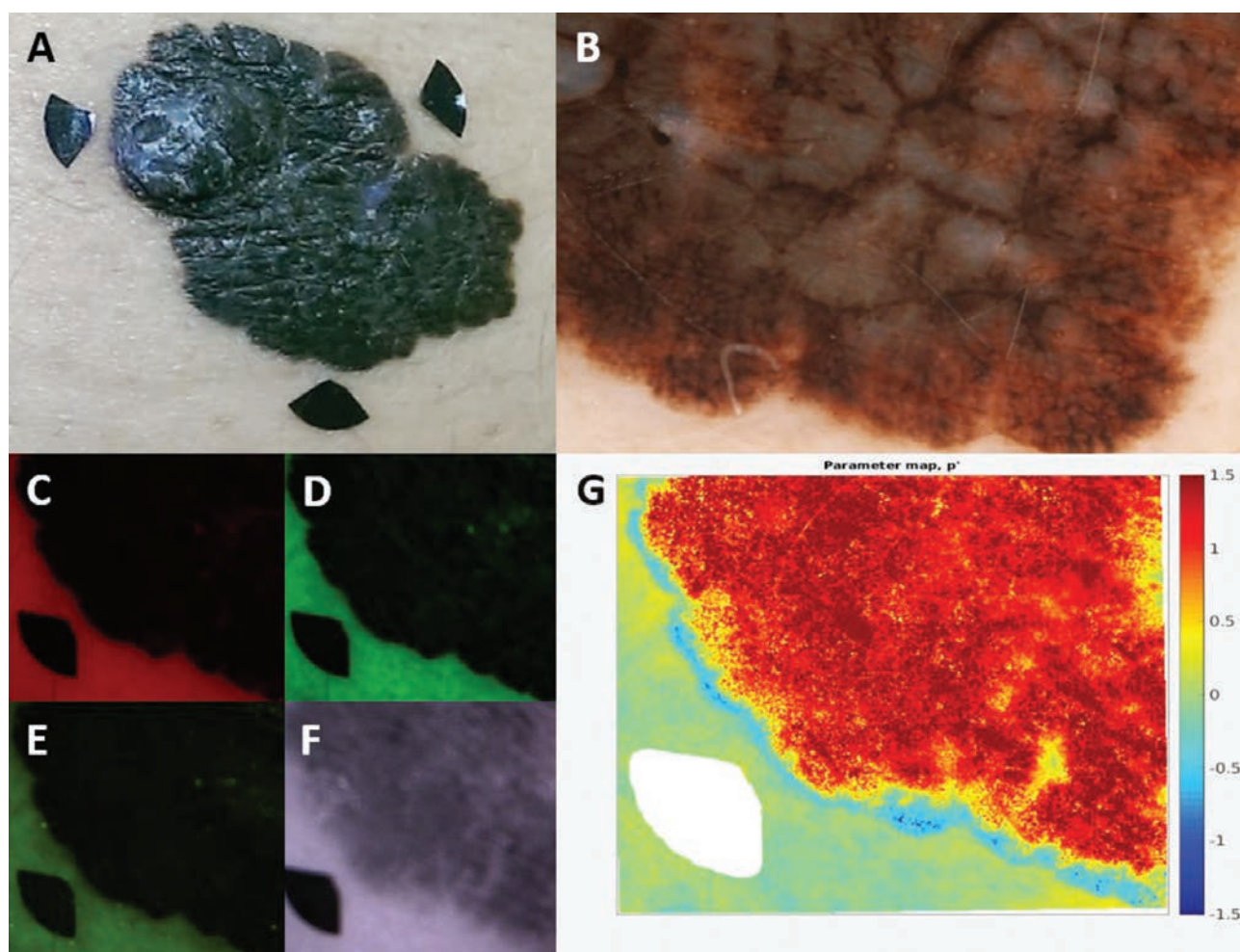
A TPF csatornán a tumorsejtfészkek által adott jel észlelhető, melyek szélein a tumorsejtek jellegzetes paliszád elrendeződése is jól megfigyelhető. Az SHG csatornán a sejtfészkeket körülvevő tumor stroma kollagén rost kötegei adnak jelet

jelent, amely a vörös, zöld és kék színek keverékével hozza létre az összetett színeket, ezen alapul a különböző monitorok képalkotása is. Az AF arra utal, hogy az alkalmazott szűk spektrumú megvilágítással a bőr endogén kromofórai (köztük a hemoglobin, a keratin és a melanin) gerjesztődnek és alacsonyabb energiájú foton kibocsátásával kerülnek alap energiaszintre, tehát fluoreszkálnak. A bőr AF-ja esetén elsősorban az ún. photobleaching effektust vizsgáljuk. Ez a kromofór fotokémiai változásainak következménye, mely során a molekula folyamatos megvilágítás alatt elveszti fluoreszcens tulajdonságait. Folyamatos gerjesztés mellett a bőr kromofórainak AF intenzitása az első 15-20 másodpercben gyorsan, majd lassabb ütemben csökken. A különböző betegségek és az egészséges bőr AF intenzitás csökkenése (fakulás) karakterisztikus, függ a megvilágító fény hullámhosszától, melanin jelenlététől, vérellátástól és a lokalizációtól. Az AF 405 nm hullámhosszú LED fényvel történő gerjesztéssel vizsgálható, emellett 526 nm, 663 nm, és 964 nm hullámhosszú LED megvilágítást is alkalmazunk. A különböző csatornákkal kapott képet olyan algoritmussal fuzionáljuk, mely segítségével az endogén kromofórok arányai, el-

oszlása kimutatható (42). Az RGB-AF a kezdeti eredmények alapján igen magas szenzitivitással és specificitással különböztette el a melanomákat egyéb bőrelváltozásoktól, például BCC-től, seborrheás keratosisztól, melanocytar naevusoktól és hemangiomáktól (43). A malignus elváltozások esetén megváltozott endogén kromofór összetétel és ezzel megváltozott fakulási kinetika lehetőséget adhat továbbá BCC diagnózisára, a tumorszélek meghatározására illetve a kezelés követésére, azonban ez további vizsgálatokat igényel (42). Bár az RGB-AF képalkotás szöveti felbontása nem olyan részletes, mint a korábban bemutatott OCT vagy RCM, azonban melanomák szűrésére ígéretes módszernek tűnik, további lehetséges alkalmazási területeit jelenleg is vizsgáljuk klinikánkon (2., 3. ábra).

Terahertzes képalkotás

A terahertzes (THz) sugárzás az elektromágneses spektrum infravörös és mikrohullámú sugárzása közé eső tartománya. A fotonok alacsony energiája a THz sugárzás nem



$$p' = \lg \left(\frac{I(526) \times I_{bőr}(663) \times I_{bőr}(964)}{I_{bőr}(526) \times I(663) \times I(964)} \right)$$

2. ábra

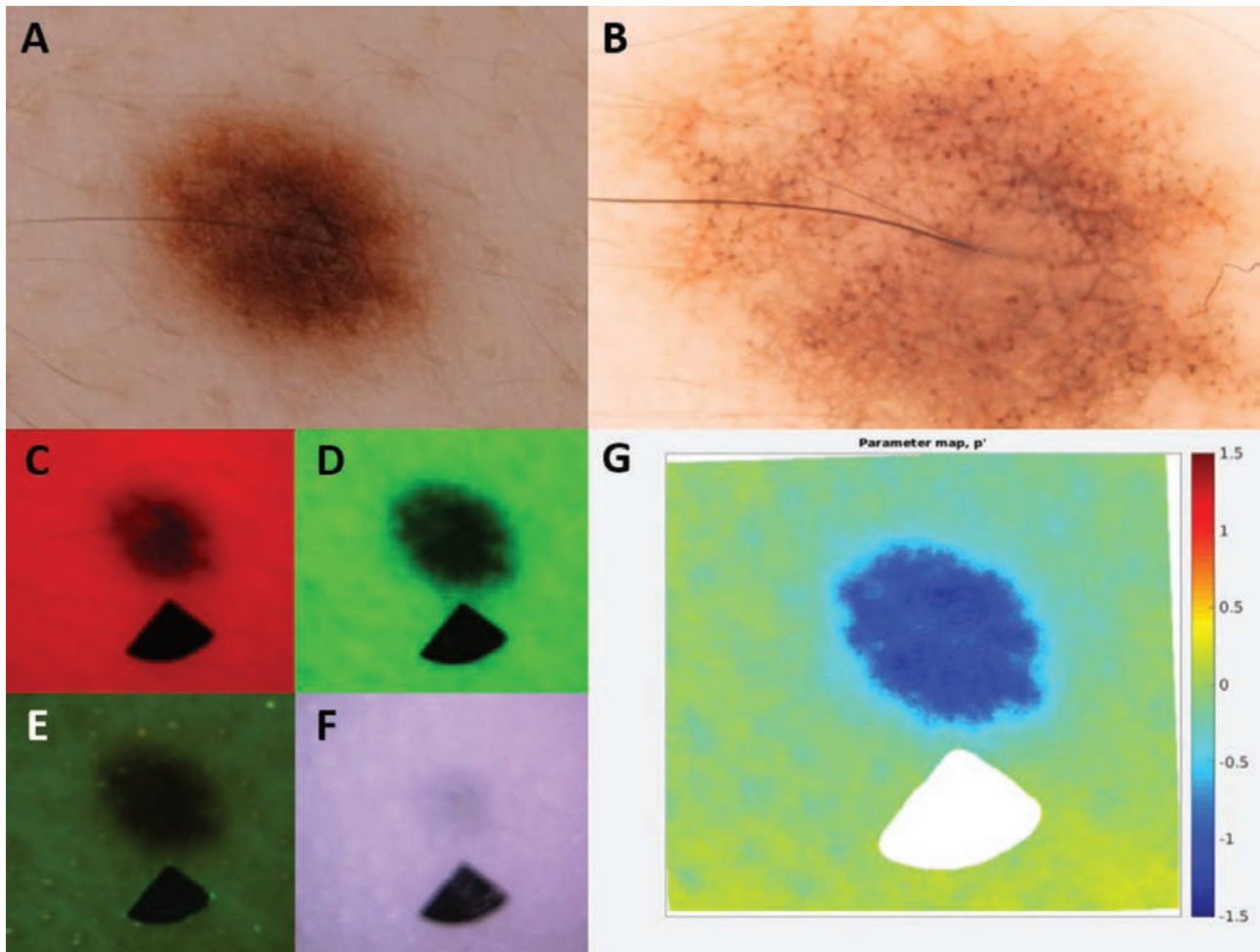
Melanoma malignum RGB autofluoreszcencia (RGB-AF) vizsgálata. A: klinikai fénykép, a lézióra irányuló fekete nyílak a képkalkotást segítik. B: dermatoszkópos kép C-F: RGB-AF vizsgálat során az egyes csatornák képei C: 663 nm; D: 526 nm; E: 405 nm F: 964 nm; G: A 526 nm, 663 nm és 946 nm-en kapott képekből a lent megadott képlettel megkapható az ún. „p’ map”. $I(526)$, $I(663)$ és $I(964)$ az egyes hullámhosszaknál kapott képet jelenti, $I_{bőr}(526)$, $I_{bőr}(663)$ és $I_{bőr}(964)$ a lézió környéki egészséges bőr képe a különböző megvilágításoknál (43)

jár szöveti károsodással. A THz sugárzás előállítására számos módszer létezik, előállítható folyamatos lézersugárral is, azonban előnyösebbek a 100 fs-nél rövidebb időtartamú lézerimpulzusokkal működő rendszerek (44). A THz-es sugárzás lehetőséget kínál a teljes bőrfelület non-invazív 3D képkalkotására, azonban a szövetek víztartalma miatt penetrálóképessége maximálisan 0,3mm (45). Az egészséges bőr és BCC THz-es képkalkotással vizsgálva jelentős különbségeket mutat, például a bőr szabályos rétegződésének zavarát, melynek köszönhetően a módszer a későbbiekben alkalmas lehet a bőrtumorok felismerésére. A THz-es sugárzás vízben nagy mértékben elnyelődik, így igen érzékeny módszer a szövetek víztartalmának változására. Így a THz potenciálisan alkalmas lehet égési sérülések mélységének meghatározására (46). Tekintettel, hogy a tumorok véráramlása gyakran fokozott, ez endogén kontrasztként szolgálhat THz-es képkalkotás során nemcsak bőrtumorok, de em-

lőrák, méhnyakrák és vastagbélrák esetén is. A THz *in vivo* vizsgálatára csak az elmúlt években került sor és a módszer lehetséges alkalmazása a medicinaiban még csak körvonalozódik. A THz-es képkalkotást számos más területen évek óta sikerrel alkalmazzák, így robbanóanyagok, illetve egyéb kémiai- vagy biológiai anyagok azonosítására (44).

Fotoakusztikus képkalkotás

A fotoakusztikus képkalkotás alkalmas endogén (hemoglobin, melanin, lipidek) és exogén kromofórok (nanopartikulumok, festékek) vizsgálatára. A módszer lényege, hogy lézerimpulzusokkal világítjuk meg a vizsgálandó anyagot, amely a fényt elnyeli, hővé alakítja, következményként az anyag tágul. A termoelasztikus tágulás az anyag felszínén nyomáshullámokat kelt, amely UH transzdúcserrel detektálható.



3. ábra

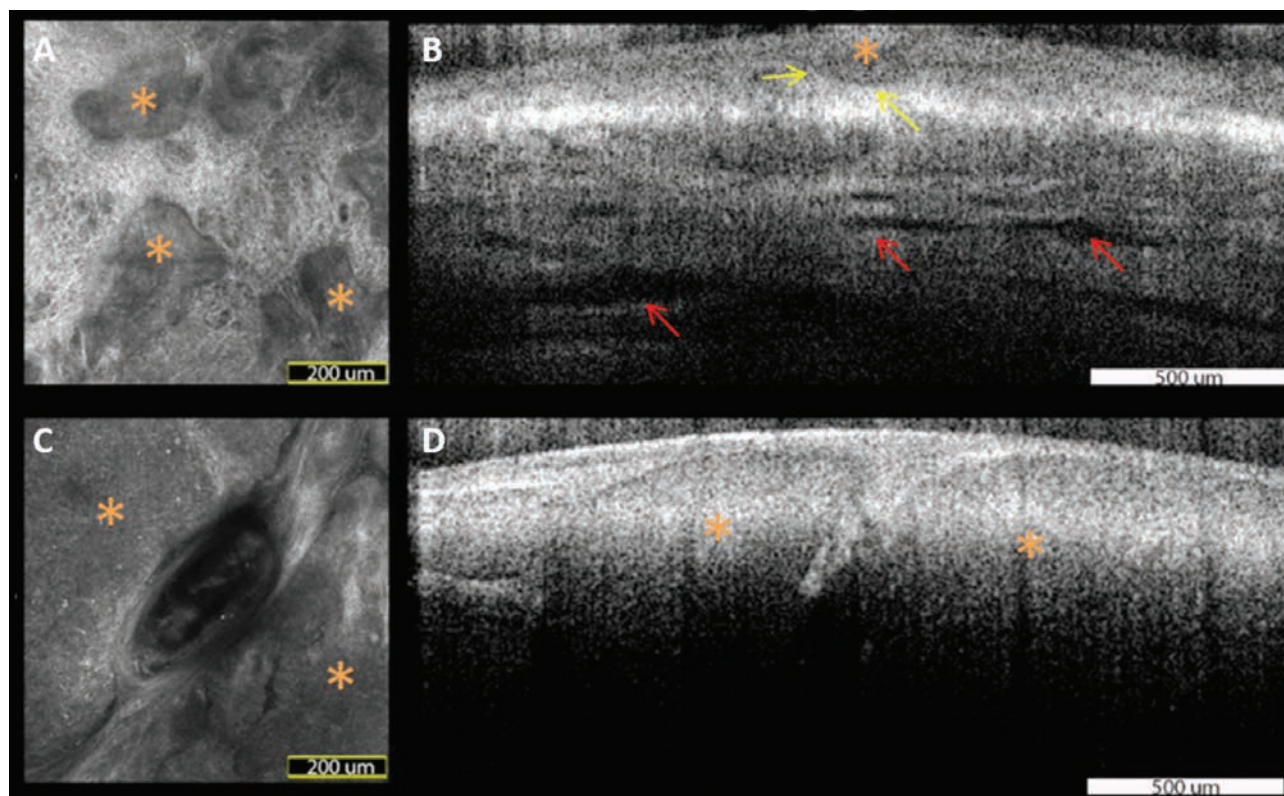
Nevus pigmentosus RGB autofluoreszcencia (RGB-AF) vizsgálata. A: klinikai fénykép B: dermatoszkópos kép C-F: RGB-AF vizsgálat során az egyes csatornák képei; C: 663 nm; D: 526 nm; E: 405 nm F: 964 nm; G: p' map, mely az 1. ábrán látható képlettel kapható meg (43)

A keletkező UH a vizsgált anyag fényabszorpciós profiljától függ (16). A fotoakusztikus képalkotás lehetővé teszi a bőr endogén kromofórijainak 3D leképezését, amely a pigmentációról és vascularisációról ad információt. A technika jelenleg a klinikumban nem érhető el, azonban a bőrtumorok határainak meghatározásában ígéretesnek látszik (47). A módszer penetrációs képessége 1 cm, hátránya, hogy felbontása alacsony, az UH-hoz hasonló. Azonban, az UH-hoz képest további funkcionális információt szolgáltat, és a két módszer kombinálható (20).

Összefoglalás

A különböző képalkotó technikák fejlődése új lehetőségeket nyitott meg a bőrgyógyászat területén. A bőr könnyű hozzáférhetősége miatt a modern képalkotó eszközökkel nagy részletességgel vizsgálható. A szabad szemmel történő vizsgálattal ellentétben objektív lehetőséget nyújtanak az egyes léziók diagnózisára, követésére, illetve továbbítására más szakember felé. A különböző számítógépes szoftverek és a gépi tanulás fejlődésével már a képalkotás folyamán meg-

kezdődhet a kórisme felállítása egyes objektív paraméterek alapján. A mesterséges intelligencia bevonása a diagnosztikus folyamatokba jelentősen növelheti a diagnózisok pontosságát (16). A bőrtumorok határai gyakran nem ismerhetők fel egyértelműen, így növekszik az igény olyan *in vivo* technikákra, mellyel a tumorhatárok műtét előtt biztonságosan leképezhetők. Továbbá, a lokális terápia terjedésének köszönhetően szükség van olyan képalkotó módszerekre, amelyekkel a kezelés non-invazív módon követhető, így a biopszia és sebészi excízió elkerülésével kedvezőbb kozmetikai eredményhez juthatunk. Egyes technikák, például az OCT és az RCM olyan pontos leképezést tesznek lehetővé, hogy egyes szerzők *in vivo*, non-invazív „optikai biopsziaként” tekintenek ezen módszerekre (24, 48). A részletezett technikák a hisztológiával ellentétben nem igényelnek komoly előkészületeket, a képalkotás jelölés nélkül is informatív. Azonban, számos módszer klinikai haszna még nem egyértelmű, különösen, hogy ezen készülékek gyakran igen költségesek, az üzemeltetéshez és a képek értékeléséhez a személyzet továbbképzése szükséges. Továbbá, a fent részletezett ígéretes képalkotó módszereknek is megvannak a korlátai. A hiányosságok kiküszöbölése a multimodális képalkotás



4. ábra

Basalioma (basal cell carcinoma, BCC) jellemzői reflektancia konfokális mikroszkópia (reflectance confocal microscopy, RCM) és optikai koherencia tomográfia (optical coherence tomography, OCT) képeken.

- A: Horizontális síkban készült RCM kép a dermoepidermális junctionról, ahol tumorsejt fészkek láthatóak (narancssárga csillag) B: OCT-val készült keresztmetszeti kép. Az epidermisben tumoros, hyporeflektív sejtfészek, mely inváziót mutat (sárga nyilak), a dermisben kitágult erekkel (piros nyilak). C: RCM kép. Egy szőrtüszőt tumorsejtfészkek határolnak (narancssárga csillag). D: Nodularis BCC két nagy sejtfészke a dermisben (narancssárga csillag) (Sahu és mtsai. 2018 (50))

kötés elterjedésével lesz lehetséges, mely során egy készülékben több, egymást kiegészítő technikát alkalmaznak. Égési sérülések súlyosságának vizsgálatára már 2013-ban sikerrel alkalmaztak olyan prototípust, amely egyesíti a PS-OCT és RCM technikákat. PS-OCT-val vizsgálhatók a mélyebb égési sérülések és meghatározható a dermisz károsodása a kollagéndestrukciónak mértékéből. Ezt kiegészítve a RCM mikrométeres pontossággal tette lehetővé az epidermisz integritásának és a felületes véráramlásnak a vizsgálatát (49). Emellett kézi RCM-OCT készüléket igen magas szenzitivitással alkalmaztak BCC-k felismerésére, azonban klinikai alkalmazásához még további vizsgálatok szükségesek (4. ábra) (50). Ezen kombinált módszerek és a korábban részletezett nemlineáris multimodális képalkotás, bár nagyon ígéretesek, jelenleg még kísérleti stádiumban vannak. További klinikai és egyes esetekben biztonságtechnikai vizsgálatok, illetve további technikai fejlesztések szükségesek, hogy a klinikumban sikerrel alkalmazhassuk őket. Bár a szövettani vizsgálat egyes esetekben megkerülhetetlen, az új képalkotó módszerek a jövőben hatékonyan kiegészíthetik diagnosztikus eszköztárunkat, hasonlóan a dermatoszkópiához, amely közel 70 éves alkalmazása alatt a bőrgyógyászat nélkülözhetetlen kellékévé vált.

IRODALOM

1. Kiss N., Haluszka D., Lorincz K. és mtsai.: Quantitative Analysis on Ex Vivo Nonlinear Microscopy Images of Basal Cell Carcinoma Samples in Comparison to Healthy Skin. *Pathol. Oncol. Res.* (2018).
2. Edlich R. F., Becker D. G., Long W. B. és mtsai.: Excisional biopsy of skin tumors. *J. Long. Term Eff. Med. Implants.* (2004) 14(3), 201-214.
3. Zalaudek I., Lallas A., Moscarella E. és mtsai.: The dermatologist's stethoscope-traditional and new applications of dermoscopy. *Dermatol Pract Concept.* (2013) 3, 67-71.
4. Katz B., Rabinovitz H. S.: Introduction to dermoscopy. *Dermatol. Clin.* (2001) 19, 221-258.
5. Lee J. B., Hirokawa D.: Dermatoscopy: Facts and controversies. *Clin. Dermatol.* (2010) 28, 303-310.
6. Lake A., Jones B.: Dermatoscopy: to cross-polarize, or not to cross-polarize, that is the question. *J. Vis. Commun. Med.* (2015) 38, 36-50.
7. Benvenuto-Andrade C., Dusza S. W., Agero A. L. C. és mtsai.: Differences between polarized light dermoscopy and immersion contact dermoscopy for the evaluation of skin lesions. *Arch. Dermatol.* (2007) 143, 329-338.
8. Weber P., Tschandl P., Sinz C. és mtsai.: Dermatoscopy of Neoplastic Skin Lesions: Recent Advances, Updates, and Revisions. *Curr. Treat. Options Oncol.* (2018) 19, 56.
9. Lacarrubba F., Verzi A. E., Micali G.: Newly described features resulting from high-magnification dermoscopy of tinea capitis. *JAMA Dermatol.* (2015) 151, 308-310.

10. *Dusi D., Rossi R., Simonacci M. és mtsai.*: 2018. Image Gallery: the new age of dermoscopy: optical super-high magnification. In *The British journal of dermatology*, p. e330
11. *Sheu S. L., Cho H. G., Nord K. M.*: Videodermoscopy as a novel tool for dermatologic education. *Cutis*. (2017) *100*, E25-E27.
12. *Chuchu N., Dinnes J., Takwoingi Y. és mtsai.*: Teledermatology for diagnosing skin cancer in adults. *Cochrane Database Syst. Rev.* (2018) *12*, CD013193.
13. *Elsner P., Bauer A., Diepgen T. L. és mtsai.*: Position paper: Telemedicine in occupational dermatology - current status and perspectives. *J Dtsch Dermatol Ges.* (2018) *16*, 969-974.
14. *Clark A. K., Bosanac S., Ho B. és mtsai.*: Systematic review of mobile phone-based teledermatology. *Arch. Dermatol. Res.* (2018) *310*, 675-689.
15. *Wolner Z. J., Yelamos O., Liopyris K. és mtsai.*: Enhancing Skin Cancer Diagnosis with Dermoscopy. *Dermatol. Clin.* (2017) *35*, 417-437.
16. *Schneider S. L., Kohli I., Hamzavi I. H. és mtsai.*: Emerging imaging technologies in dermatology: Part I: Basic principles. *J. Am. Acad. Dermatol.* (2019) *80(4)*, 1114-1120.
17. *Barcaui E. d. O., Carvalho A. C. P., Lopes F. P. P. L. és mtsai.*: High frequency ultrasound with color Doppler in dermatology. *An. Bras. Dermatol.* (2016) *91*, 262-273.
18. *Wortzman X., Wortzman J.*: Clinical usefulness of variable-frequency ultrasound in localized lesions of the skin. *J. Am. Acad. Dermatol.* (2010) *62*, 247-256.
19. *DeJong H. M., Abbott S., Zelesco M. és mtsai.*: The validity and reliability of using ultrasound elastography to measure cutaneous stiffness, a systematic review. *Int J Burns Trauma.* (2017) *7*, 124-141.
20. *Schneider S. L., Kohli I., Hamzavi I. H. és mtsai.*: Emerging imaging technologies in dermatology: Part II: Applications and limitations. *J. Am. Acad. Dermatol.* (2018).
21. *Hernandez-Ibanez C., Blazquez-Sanchez N., Aguilar-Bernier M. és mtsai.*: Usefulness of High-Frequency Ultrasound in the Classification of Histologic Subtypes of Primary Basal Cell Carcinoma. *Actas Dermosifiliogr.* (2017) *108*, 42-51.
22. *Martorell A., Wortzman X., Alfageme F. és mtsai.*: Ultrasound Evaluation as a Complementary Test in Hidradenitis Suppurativa: Proposal of a Standardized Report. *Dermatol Surg.* (2017) *43*, 1065-1073.
23. *Zysk A. M., Nguyen F. T., Oldenburg A. L. és mtsai.*: Optical coherence tomography: a review of clinical development from bench to bedside. *J. Biomed. Opt.* (2007) *12*, 1-21.
24. *Adhi M., Duker J. S.*: Optical coherence tomography—current and future applications. *Curr. Opin. Ophthalmol.* (2013) *24*, 213-221.
25. *Holmes J., von Braunmuhl T., Berking C. és mtsai.*: Optical coherence tomography of basal cell carcinoma: influence of location, subtype, observer variability and image quality on diagnostic performance. *Br. J. Dermatol.* (2018) *178(5)*, 1102-1110.
26. *Schuh S., Holmes J., Ulrich M. és mtsai.*: Imaging Blood Vessel Morphology in Skin: Dynamic Optical Coherence Tomography as a Novel Potential Diagnostic Tool in Dermatology. *Dermatol Ther (Heidelb)*. (2017) *7*, 187-202.
27. *Boone M. A. L. M., Suppa M., Dhaenens F. és mtsai.*: In vivo assessment of optical properties of melanocytic skin lesions and differentiation of melanoma from non-malignant lesions by high-definition optical coherence tomography. *Arch. Dermatol. Res.* (2016) *308*, 7-20.
28. *de Boer J. F., Hitzenberger C. K., Yasuno Y.*: Polarization sensitive optical coherence tomography - a review. *Biomed Opt Express.* (2017) *8*, 1838-1873.
29. *Babalola O., Mamalis A., Lev-Tov H. és mtsai.*: Optical coherence tomography (OCT) of collagen in normal skin and skin fibrosis. *Arch. Dermatol. Res.* (2014) *306*, 1-9.
30. *Nehal K. S., Gareau D., Rajadhyaksha M.*: Skin imaging with reflectance confocal microscopy. *Semin. Cutan. Med. Surg.* (2008) *27(1)*, 37-43.
31. *Nwaneshiudu A., Kuschal C., Sakamoto F. H. és mtsai.*: Introduction to confocal microscopy. *J Invest Dermatol.* (2012) *132(12)*, e3.
32. *Gonzalez S., Gilaberte-Calzada Y.*: In vivo reflectance-mode confocal microscopy in clinical dermatology and cosmetology. *Int. J. Cosmet. Sci.* (2008) *30*, 1-17.
33. *Rajadhyaksha M., Marghoob A., Rossi A. és mtsai.*: Reflectance confocal microscopy of skin in vivo: From bench to bedside. *Lasers Surg. Med.* (2017) *49(1)*, 7-19.
34. *Nori S., Rius-Diaz F., Cuevas J. és mtsai.*: Sensitivity and specificity of reflectance-mode confocal microscopy for in vivo diagnosis of basal cell carcinoma: a multicenter study. *J. Am. Acad. Dermatol.* (2004) *51*, 923-930.
35. *Levine A., Markowitz O.*: Introduction to reflectance confocal microscopy and its use in clinical practice. *JAAD Case Rep.* (2018) *4*, 1014-1023.
36. *Helmchen F., Denk W.*: 2005. Deep tissue two-photon microscopy. In *Nat. Methods*
37. *Cicchi R., Kapsokalyvas D., Pavone F. S.*: Clinical nonlinear laser imaging of human skin: a review. *Biomed Res Int.* (2014) *2014*, 903589.
38. *Kiss N., Haluszka D., Lorincz K. és mtsai.*: Ex vivo nonlinear microscopy imaging of Ehlers-Danlos syndrome-affected skin. *Arch. Dermatol. Res.* (2018) *310*, 463-473.
39. *Perry S. W., Burke R. M., Brown E. B.*: Two-photon and second harmonic microscopy in clinical and translational cancer research. *Ann. Biomed. Eng.* (2012) *40(2)*, 277-291.
40. *Haluszka D., Lorincz K., Kiss N. és mtsai.*: Diet-induced obesity skin changes monitored by in vivo SHG and ex vivo CARS microscopy. *Biomedical Optics Express.* (2016) *7(11)*, 4480-4489.
41. *Kiss N., Krolopp A., Lorincz K. és mtsai.*: Stain-free Histopathology of Basal Cell Carcinoma by Dual Vibration Resonance Frequency CARS Microscopy. *Pathology oncology research : POR.* (2018) *24(4)*, 927-930.
42. *Lihachev A., Derjabo A., Ferulova I. és mtsai.*: Autofluorescence imaging of basal cell carcinoma by smartphone RGB camera. *J. Biomed. Opt.* (2015) *20*, 120502.
43. *Lihacova I., Boločko K., Plorina E. és mtsai.*: A method for skin malformation classification by combining multispectral and skin autofluorescence imaging. (2018).
44. *Yu C., Fan S., Sun Y. és mtsai.*: The potential of terahertz imaging for cancer diagnosis: A review of investigations to date. *Quant Imaging Med Surg.* (2012) *2*, 33-45.
45. *You B., Chen C.-Y., Yu C.-P. és mtsai.*: Frequency-dependent skin penetration depth of terahertz radiation determined by water sorption-desorption. *Opt. Express.* (2018) *26*, 22709-22721.
46. *Rahman A., Rahman A. K., Rao B.*: Early detection of skin cancer via terahertz spectral profiling and 3D imaging. *Biosens. Bioelectron.* (2016) *82*, 64-70.
47. *Chuah S. Y., Attia A. B. E., Long V. és mtsai.*: Structural and functional 3D mapping of skin tumours with non-invasive multispectral optoacoustic tomography. *Skin Res. Technol.* (2017) *23*, 221-226.
48. *Waddell A., Star P., Guitera P.*: Advances in the use of reflectance confocal microscopy in melanoma. *Melanoma Manag.* (2018) *5*, MMT04-MMT04.
49. *Iftimia N., Ferguson D., Mujat M. és mtsai.*: Combined reflectance confocal microscopy/optical coherence tomography imaging for skin burn assessment. *Opt. Express.* (2013) *4*, 680-695.
50. *Sahu A., Yelamos O., Iftimia N. és mtsai.*: Evaluation of a Combined Reflectance Confocal Microscopy-Optical Coherence Tomography Device for Detection and Depth Assessment of Basal Cell Carcinoma. *JAMA Dermatol.* (2018) *154*, 1175-1183.

Érkezett: 2019. 05. 09.

Közlésre elfogadva: 2019. 05. 19.