

**REHABILITATION BIOTECHNICAL SYSTEM WITH ELECTROMYOGRAPHIC CONTROL CIRCUIT**

Trifonov A.A., Kuzmin A.A., Myasnyankin M.B., Filist S.A.

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «South-West State University», Kursk, SFilist@gmail.com

**Keywords:** electromyography, circuit, signal

**Annotation.** The aim of the study is to develop a biotechnical system of the rehabilitation type, designed to restore the motor activity of the patient's muscles through biotechnical and biological feedback. The obtained classification models of surface signals of electromyograms can be used to create intelligent rehabilitation systems for patients with neurological diseases and will allow the development of diagnostic test stimulation programs that can be used to create artificial biological feedback. This will provide new predictors of the risk of socially significant diseases.

**ОПТИЧЕСКИЕ ФАНТОМЫ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРСПЕКТРАЛЬНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ СОДЕРЖАНИЯ ФАД В КОЖЕ ЧЕЛОВЕКА**<sup>1</sup>Шуплецов В.В., <sup>1,2</sup>Жеребцов Е.А., <sup>1,3</sup>Дрёмин В.В., <sup>4</sup>Попов А.П., <sup>2</sup>Быков А.В., <sup>1</sup>Потапова Е.В.,  
<sup>1</sup>Дунаев А.В., <sup>2,3</sup>Меглинский И.В.<sup>1</sup>Научно-технологический центр биомедицинской фотоники, ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», Орёл, Россия, \* valery.shupletsov@bmccenter.ru,<sup>2</sup>Optoelectronics and Measurement Techniques Unit, University of Oulu, Oulu, Finland,<sup>3</sup>School of Engineering and Applied Science, Aston University, Birmingham, UK,<sup>4</sup>VTT Technical Research Centre of Finland, Oulu, Finland

**Ключевые слова:** Оптический фантом, содержание ФАД, гиперспектральная флуоресцентная визуализация

**Аннотация.** В статье описаны процесс изготовления и результаты экспериментальных исследований твердого оптического фантома, имитирующего флуоресценцию ФАД в различных концентрациях. Использовали метод гиперспектральной флуоресцентной визуализации. Полученные результаты демонстрируют чувствительность разработанного флуоресцентного фантома к изменениям концентрации флавина. Полученные данные будут использованы для коррекции флуоресцентных изображений патологических биологических тканей.

Для решения проблем медицинской диагностики в режиме реального времени возможно использование методов флуоресцентной спектроскопии (ФС) и флуоресцентной визуализации (ФВ), которые демонстрируют значительную чувствительность к наличию патологических изменений в тканях, в частности злокачественных [1]. Так, флуоресцентный анализ позволяет изучить изменения в спектрах эндогенной флуоресценции, вызванные наличием метаболических сдвигов в биологических тканях. Известно, что скорость метаболизма влияет на содержание ряда флуорофоров, в том числе на флавинадениндинуклеотид (ФАД). Этот кофермент содержится в цитозоле и митохондриях и участвует в ряде метаболических реакций, выступая в роли донора и акцептора электронов. Окисленная форма ФАД демонстрирует существенный вклад в суммарную флуоресценцию ткани. Клинические исследования показали, что изменения флуоресценции ФАД коррелируют с онкологическими процессами [2-4].

В то время как методы ФС и ФВ могут быть успешно использованы для контрастирования флуоресценции экзогенных флуорофоров на выбранной длине волны излучения, измерения эндогенной флуоресценции в живых тканях могут быть сложными из-за перекрытия спектров излучения естественных флуорофоров. Биологические ткани представляют собой гетерогенные сложные структуры, содержащие собственные флуорофоры в различных концентрациях и на разных глубинах [5]. Поэтому, чтобы правильно интерпретировать экспериментальные данные, полученные методами флуоресцентной диагностики, необходимо определить вклад каждого компонента в общий сигнал. Для этого исследователи обычно проводят тестовые измерения с использованием нормальных и патологически измененных клеточных культур или тканей лабораторных животных, а также специально разработанных тест-объектов, которые в англоязычной литературе принято называть оптическими фантомами (optical phantoms). Такие тест-объекты позволяют имитировать типичное взаимодействие оптического излучения с биологической тканью с определенными параметрами поглощения, рассеяния, флуоресценции и т. д., и могут быть использованы на стадии испытаний разработки устройств оптической диагностики или при их калибровке. Изображения оптических фантомов также могут быть использованы для улучшения разрешения и количественного определения нескорректированных изображений с использованием, например, метода обратной развертки [6]. Большое количество фантомных спектроскопических исследований, описанных в литературе, основаны на разработке жидких фантомов, которые используются для моделирования бесконечных или полубесконечных однослойных сред с эффектами поглощения, рассеяния и флуоресценции [7-9]. Также для имитации флуоресценции мягких

тканей предложено использование гель-воскового фантома на основе минерально-масляного материала [10]. Однако для создания оптических фантомов с требуемой геометрической формой, толщиной и неоднородностью, подобной многослойным тканям, актуальной является концепция тонкой твердой формы. При разработке таких фантомов используются различные материалы с полимерной основой, такие как эпоксидная, полиэфирная смола или полиуретановый материал, которые обеспечивают твердость и фотостабильность при долгосрочной визуализации [11]. Такие фантомы позволяют имитировать флуоресценцию многослойных структур ткани, учитывая специфику каждого конкретного слоя [12]. Твердые структуры позволяют создавать формы с полыми областями, например, для имитации насыщения крови кислородом во встроенных сосудах [13]. Также использование полимерных структур с силиконовой основой при смешивании с глицерином позволяет создавать оптические фантомы, обладающие собственным рассеянием, что позволяет избежать осаждения и неоднородного распределения рассеивающих структур [14]. В работе [15] предложены твердые желатиновые фантомы для имитации нормальных и дисплазийных состояний ткани при диагностике флуоресцентными методами. При этом желатин используется для моделирования флуоресцентных свойств коллагена, так как этот белок является основным структурным компонентом соединительной ткани.

Целью данной работы была разработка твердого оптического фантома, имитирующего флуоресценцию ФАД в коже человека для калибровки технологии гиперспектральной ФВ.

Идея оптического фантома, предложенного в данной работе, заключалась в том, чтобы создать твердую матричную основу для моделирования фоновой флуоресценции коллагена кожи и флуоресценции ФАД в различных концентрациях. Для получения оптических тест-объектов, имитирующих флуоресценцию коллагена, можно использовать желатин, который является его гидролизованной формой. Подготовка матричной основы фантома производилась гомогенизацией акриламида (6 г) и желатина (0,2 г) с добавлением бисакриламида (0,16 г) в качестве сшивающего агента для полимеризации структуры. Полиакриламид представляет собой оптически прозрачный, твердый эластичный материал, обладающий достаточной фотостабильностью и активно применяемый при изготовлении фантомов в медицине [16]. Для симуляции процесса рассеяния в коже в изготовленную полимерную структуру был добавлен оксид цинка (0,03 г), обладающий активно выраженными рассеивающими свойствами [17, 18]. Известно, что в норме в организме человека концентрация ФАД варьируется в пределах нескольких мкМ [19]. Были изготовлены пять вариантов оптических фантомов с различной концентрацией ФАД: без добавления флуорофора, с 5, 15, 20 и 25 мкМ соответственно.

Оптические характеристики изготовленного фантома были зарегистрированы с помощью собранной экспериментальной установки для гиперспектральной ФВ (рис. 1).

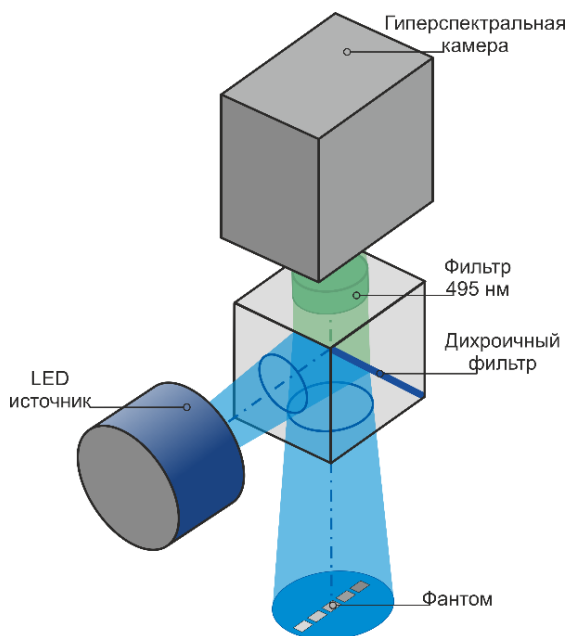
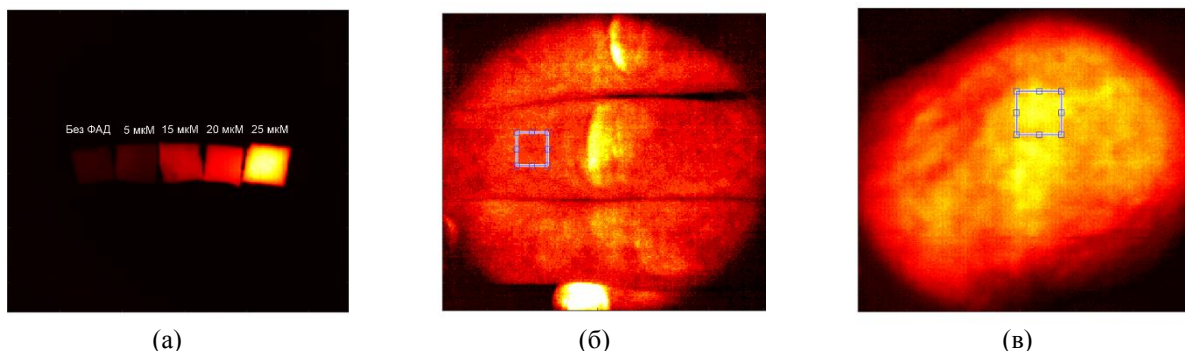


Рисунок 1 – Установка для гиперспектральной флуоресцентной визуализации

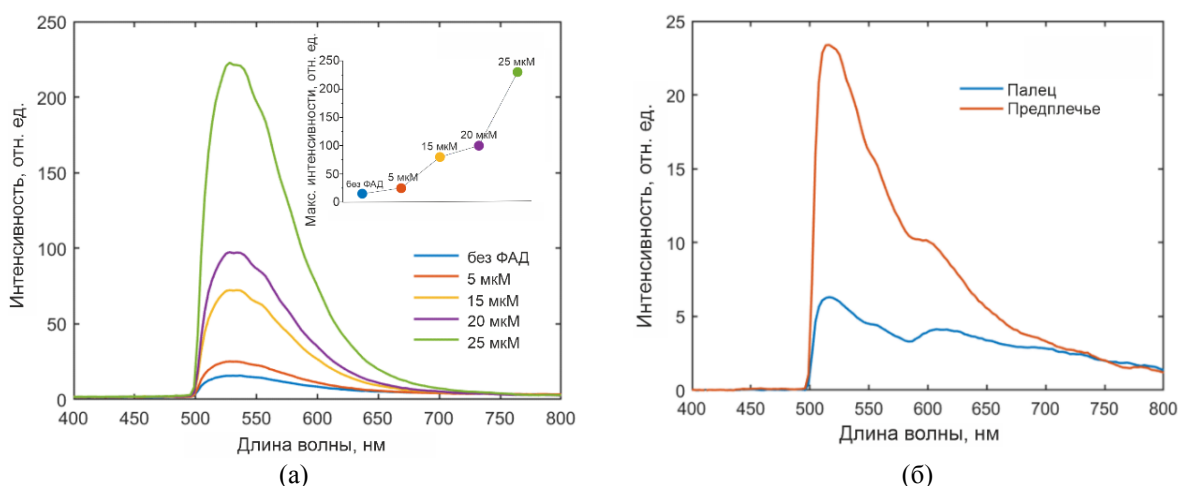
В данной установке излучение светодиодного источника с длиной волны 450 нм M450LP1 (Thorlabs, США) проходит через дихроичный фильтр MD416 (Thorlabs, США) и направляется на оптический фантом, возбуждая флуоресценцию ФАД. Обратное отражённое излучение источника ослабляется светофильтром 495 нм FGL495 (Thorlabs, США) и флуоресцентный сигнал регистрируется гиперспектральной CMOS камерой Specim (Spectral Imaging Ltd, Финляндия) со спектральным диапазоном 400-1000 нм. При исследовании фантома использовалась выдержка камеры 0,5 с.

Было получено флуоресцентное изображение пяти вариантов оптического фантома с различной концентрацией ФАД, контрастированное в псевдоцвете (рис. 2, а) со шкалой интенсивности от 0 до 250 отн.ед. Значения интенсивности флуоресценции были усреднены в аналогичных областях для каждой из пяти частей. Также были зарегистрированы флуоресцентные изображения кожи пальца руки (рис. 2, б) и области предплечья (рис. 2, в) условно здорового испытуемого для сравнения получаемых результатов с разработанным оптическим тест-объектом.



**Рисунок 2** – Гиперспектральные флуоресцентные изображения: оптического фантома (а), пальцев руки (б) и предплечья (в)

На рисунке 2 (б), (в) выделены ROI области, соответствующие пространственному усреднению для получения спектров интенсивности флуоресценции. На рисунке 3 представлены спектры флуоресценции и кривая зависимости максимума интенсивности флуоресценции оптического фантома от различной концентрации ФАД (рис 3, а), а также спектры флуоресценции пальца и предплечья руки (рис 3, б).



**Рисунок 3** – Спектры флуоресценции оптического фантома (а) и кожи (б)

Результат анализа спектров флуоресценции оптических фантомов с различной концентрацией ФАД (рис 3, а) и кожи (рис 3, б) показывает, что все спектры имели пики флуоресценции, соответствующие пику флуоресценции ФАД (около 530 нм) при возбуждении синим светом (450 нм). Изменение интенсивности сигнала соответствовало изменению концентрации ФАД в изготовленном фантоме. При этом уровень флуоресценции ФАД в концентрации 5 мкМ наиболее соответствует уровню интенсивности флуоресценции с кожи руки условно здорового человека, зарегистрированному при тех же параметрах системы (уровень интенсивности флуоресценции около 25 отн. ед.). Такое значение концентрации наиболее близко к реальным концентрациям ФАД в коже человека в нормальном состоянии при отсутствии патологий.

Применение разработанного оптического фантома позволит тестировать и калибровать системы ФВ и повысить общее качество реализации данной технологии. Дальнейшие исследования будут направлены на проведение качественных и воспроизводимых экспериментальных измерений параметров нормальной и опухолевой ткани для разработки новых диагностических критериев и более широкого внедрения технологии ФВ в клиническую практику, например, в миниинвазивную хирургию.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта №18-02-00669.

#### Библиографический список

1. Borisova E. et al. Multispectral autofluorescence detection of skin neoplasia using steady-state techniques //20th International Conference and School on Quantum Electronics: Laser Physics and Applications. – International Society for Optics and Photonics, 2019. – Vol. 11047. – P. 1104704.
2. Wu Y. et al. Depth-resolved fluorescence spectroscopy of normal and dysplastic cervical tissue //Optics express. – 2005. – Vol. 13. – №. 2. – P. 382-388.
3. Lukina M. M. et al. Metabolic imaging in the study of oncological processes (review). // *Sovremennye tehnologii v medicine*. – 2016. – Vol. 8. – №. 4 (eng).
4. Pavlova I. et al. Microanatomical and Biochemical Origins of Normal and Precancerous Cervical Autofluorescence Using Laser-scanning Fluorescence Confocal Microscopy //Photochemistry and photobiology. – 2003. – Vol. 77. – №. 5. – P. 550-555.
5. Thueller P. et al. In vivo endoscopic tissue diagnostics based on spectroscopic absorption, scattering, and phase function properties //Journal of biomedical optics. – 2003. – Vol. 8. – №. 3. – P. 495-504.
6. Anastasopoulou M. et al. Fluorescence imaging reversion using spatially variant deconvolution //Scientific Reports. – 2019. – Vol. 9. – №. 1. – P. 1-11.
7. Потапова Е.В., Дрёмин В.В., Жеребцов Е.А., Подмастерьев К.В., Дунаев А.В. Разработка жидкого оптического фантома для флуоресцентных спектроскопических исследований // *Фундаментальные и прикладные проблемы техники и технологии*, 2018. - № 6 (332). – С. 105-114
8. Lu H. et al. Fluorescence spectroscopy study of protoporphyrin IX in tissue-like phantoms //Optics in Health Care and Biomedical Optics IX. – International Society for Optics and Photonics, 2019. – Vol. 11190. – P. 111901S.
9. Luthjens L. H., Yao T., Warman J. M. A polymer-gel eye-phantom for 3D fluorescent imaging of millimetre radiation beams //Polymers. – 2018. – Vol. 10. – №. 11. – P. 1195.
10. Xie Y. et al. Soft optically tuneable fluorescence phantoms based on gel wax and quantum dots: a tissue surrogate for fluorescence imaging validation //Molecular-Guided Surgery: Molecules, Devices, and Applications V. – International Society for Optics and Photonics, 2019. – Vol. 10862. – P. 108621F.
11. Anastasopoulou M. et al. Multiparameter solid phantom for fluorescence imaging standardization //European Conference on Biomedical Optics. – Optical Society of America, 2017. – P. 104110J.
12. Wróbel M. S. et al. Multi-layered tissue head phantoms for noninvasive optical diagnostics //Journal of Innovative Optical Health Sciences. – 2015. – Vol. 8. – №. 03. – P. 1541005.
13. Zherebtsov E. et al. Hyperspectral imaging of human skin aided by artificial neural networks //Biomedical optics express. – 2019. – Vol. 10. – №. 7. – P. 3545-3559.
14. Wróbel M. S. et al. Nanoparticle-free tissue-mimicking phantoms with intrinsic scattering //Biomedical optics express. – 2016. – Vol. 7. – №. 6. – P. 2088-2094.
15. Shupletsov V. et al. Fluorescence Imaging System for Biological Tissues Diagnosis: Phantom and Animal Studies //Journal of Biomedical Photonics & Engineering. – 2020. – P. 010303.
16. Ahmad M. S. et al. Chemical characteristics, motivation and strategies in choice of materials used as liver phantom: A literature review //Journal of Medical Ultrasound. – 2020. – Vol. 28. – №. 1. – P. 7.
17. Krasnikov I. V., Seteikin A. Y., Popov A. P. Simulation of the effect of photoprotective titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) and zinc oxide (ZnO) nanoparticles on the thermal response and optical characteristics of skin //Optics and Spectroscopy. – 2015. – Vol. 118. – №. 4. – P. 668-673.
18. Wróbel M. S. et al. Measurements of fundamental properties of homogeneous tissue phantoms //Journal of biomedical optics. – 2015. – Vol. 20. – №. 4. – P. 045004.
19. Aliverti A., Curti B., Vanoni M. A. Identifying and quantitating FAD and FMN in simple and in iron-sulfur-containing flavoproteins //Flavoprotein protocols. – Humana Press, 1999. – P. 9-23.

#### OPTICAL PHANTOMS FOR QUANTITATIVE HYPERSPECTRAL FLUORESCENCE VISUALIZATION OF THE FAD CONTENT IN HUMAN SKIN

<sup>1</sup>Shupletsov V.V., <sup>1,2</sup>Zherebtsov E.A., <sup>1,3</sup>Dremin V.V., <sup>4</sup>Popov A.P., <sup>2</sup>Bykov A.V., <sup>1</sup>Potapova E.V.,  
<sup>1</sup>Dunaev A.V., <sup>2,3</sup>Meglinski I.V.

<sup>1</sup>Research and Development Center of Biomedical Photonics,  
Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia, \* valery.shupletsov@bmecenter.ru,

<sup>2</sup>Optoelectronics and Measurement Techniques Unit, University of Oulu, Oulu, Finland,

<sup>3</sup>School of Engineering and Applied Science, Aston University, Birmingham, UK,

<sup>4</sup>VTT Technical Research Centre of Finland, Oulu, Finland

**Keywords:** Optical phantom, the FAD content, hyperspectral fluorescence visualizations

**Annotation.** The article describes the manufacture and results of experimental studies of a solid optical phantom simulating the fluorescence of FAD in various concentrations. Hyperspectral fluorescence imaging was used. The results demonstrate the sensitivity of the developed fluorescent phantom to changes in flavin concentration. The data obtained will be used to correct fluorescence images of pathological biological tissues.