

**Всероссийский конкурс исследовательских и проектных работ
школьников «Высший пилотаж»**

**Измерение концентрации меланина по оптическому отражению
кожи для обнаружения гиперкальциемии биомедицинской
татуировкой.**

Номинация : Научно- техническое творчество

Секция: Цифровая медицина

Авторы:

Костюченко Даниил, учащийся 10 класса Черноголовской СОШ;

Терновая Анастасия, учащаяся 9 класса Черноголовской СОШ

Содержание	
Аннотация	3
Актуальность задачи	4
Цели и задачи проекта	4
Анализ существующих решений	5
Разработка методики анализа по данным диффузного отражения	8
Спектры отражения меланина. Обзор экспериментальных данных и модель для расчета.	8
Измерение коэффициента отражения при линейчатом спектре источника света	10
Схемотехника прибора	11
Алгоритм работы прибора на светодиодах.	16
Алгоритм работы прибора на датчике AS7341	17
Конструирование прибора по измерению отражения кожи	18
Получение данных о содержании меланина по экспериментально полученным точкам.	20
Результаты и выводы	26
Планы развития проекта.	27
Использованная литература	28
Приложения.	31

Аннотация

Нами был разработан прибор для определения содержания меламина в коже для применения в методике диагностики и анализа онкологических заболеваний по методу биоинженерной татуировки, когда при превышении содержания ионов кальция в крови повышается содержание меламина в области татуировки (имплантированных биоинженерных капсул). Также прибор может быть использован при изучении фотолюминесценции тканей *in Vivo* для диагностики и раннего обнаружения некоторых (в том числе онкологических) заболеваний. Прибор сделан на основе микроконтроллерной платы Arduino Nano и интегрального датчика AS7341. Содержание меламина определяется по 8 значениям коэффициента диффузного отражения в видимой области спектра. Прибор реализован в виде макета, программа обработки данных написана. Прибор испытан и показал стабильность в определении коэффициентов диффузного отражения и, таким образом, содержания меламина.

Актуальность задачи

В настоящее время более 15% смертей обусловлено онкологическими заболеваниями (1), так что обнаружение заболевания на возможно ранней стадии чрезвычайно важно. Для обнаружения гиперкальциемии, являющейся последствием (и, таким образом, маркером) ряда онкологических заболеваний (рак груди, рак толстого кишечника, рак простаты и др. (2)) авторы (3) предложили биомедицинскую татуировку с клетками, которые производят и накапливают меланин при превышении содержания кальция в крови. Таким образом, ряд онкологических заболеваний можно обнаружить на стадии, когда других симптомов нет, и авторы проверили свою разработку на мышах *in vivo*. Но для анализа авторы (3) следили за насыщенностью цвета татуировки «на глаз» или с помощью анализа микрофотографий, что уменьшает чувствительность и оперативность метода. Другие проведенные на мышах опыты показывают, что по спектру люминесценции кожи можно отличать здоровых особей от пораженных злокачественными опухолями (4). Также представляет интерес изучение спектра фотолюминесценции слизистой щеки как диагностика ряда заболеваний, в том числе онкологических и сердечно – сосудистых (4). Мы предложили, сконструировали и сделали оптоэлектронный прибор для анализа концентрации меланина по диффузному отражению света в 8 полосах спектра. Прибор может быть задействован и для решения более широкого круга задач диагностики, описываемой как «оптическая биопсия».

Цели и задачи проекта

1. Провести изучение имеющихся технических средств неинвазивного определения меланина, особенно *in vivo*, изучить оптические свойства меланина
2. Проанализировать способы регистрации спектра диффузного

отражения, которые пригодны для измерения спектра (в том числе в некотором числе точек) отражения кожи человека

3. Проанализировать модели спектров отражения кожи человека, обусловленные меланином
4. Сконструировать прибор для регистрации спектров отражения кожи человека в 8 точках спектра
5. Построить математическую модель для расчета значения коэффициентов отражения в конечном числе точек
6. Разработать программу для вычисления насыщенности кожи меланином
7. Сделать пуско-наладку и собрать прибор в виде, готовом для опытного применения, например в виде наклеиваемой на кожу коробочки меньше коробка спичек, соединенной кабелем с основным блоком

Анализ существующих решений

В оригинальной работе (3), где была предложена методика диагностики по тату из биоинженерных капсул (схема работы биокапсулы проиллюстрирована на Рис. 1 в приложении), наблюдение *in vivo* производят на глаз, а наблюдения *in vitro* – анализируя вручную фотографии, полученные с помощью микроскопа, Рис.1, места сравнения указаны стрелками на фото. Но этого недостаточно в случае, например, анализа действия лекарств, когда степень действия лекарства нужно узнать с как можно большей оперативностью. В научной литературе (4) приводят результаты, полученные с помощью фотоакустической, магнито-резонансной спектроскопии и даже позитронно – эмиссионная спектроскопии. Это надежные, количественные – но очень дорогие и малодоступные методики.

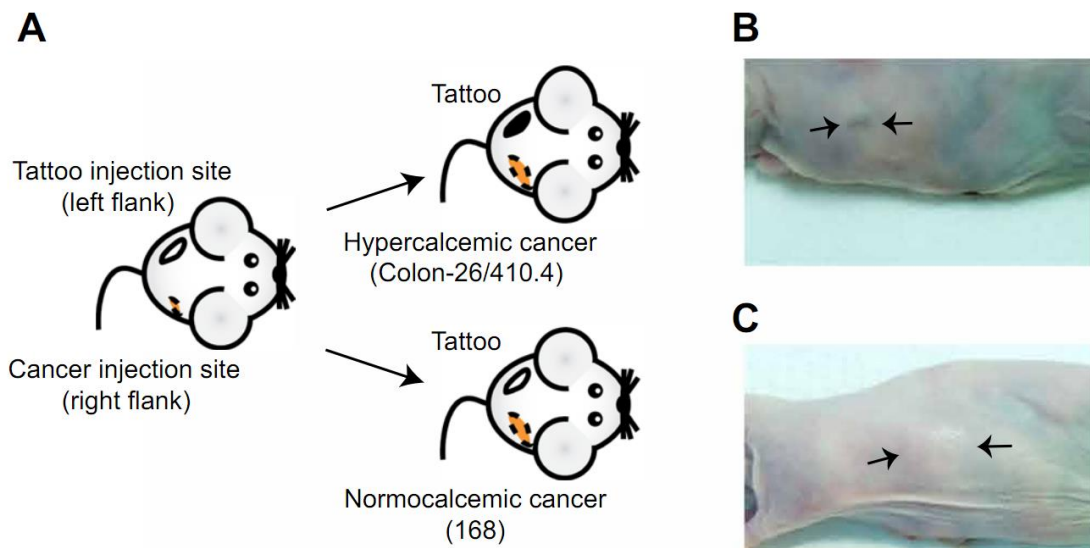


Рис. 1. Нанесение биомедицинской татуировки и видимость на коже подопытных мышей (3).

Существует также целое направление анализа и диагностики, называемое «оптическая биопсия» - это когда вместо изъятия образца ткани производится исследование его оптических свойств – спектров отражения, поглощения, комбинационного рассеяния, люминесценции. Интересные результаты (4) есть как для мышей – по фотолюминесценции кофермента NAD(P)H диагностируются опухолевые и доопухолевые состояния и коллагена диагностируются опухолевые и доопухолевые состояния, и для людей – по спектрам люминесценции слизистой щеки (излучение коллагена на 386 нм и имеющегося витамина В6 на 406 нм) in Vivo определяется курили ли человек и есть ли у него некоторые онкологические заболевания, рис. 2 и 3, возбуждение лазером с длиной волны 325 нм. Работа опубликована в журнале из второго квартиля Scopus, так что ее стоит проверить.

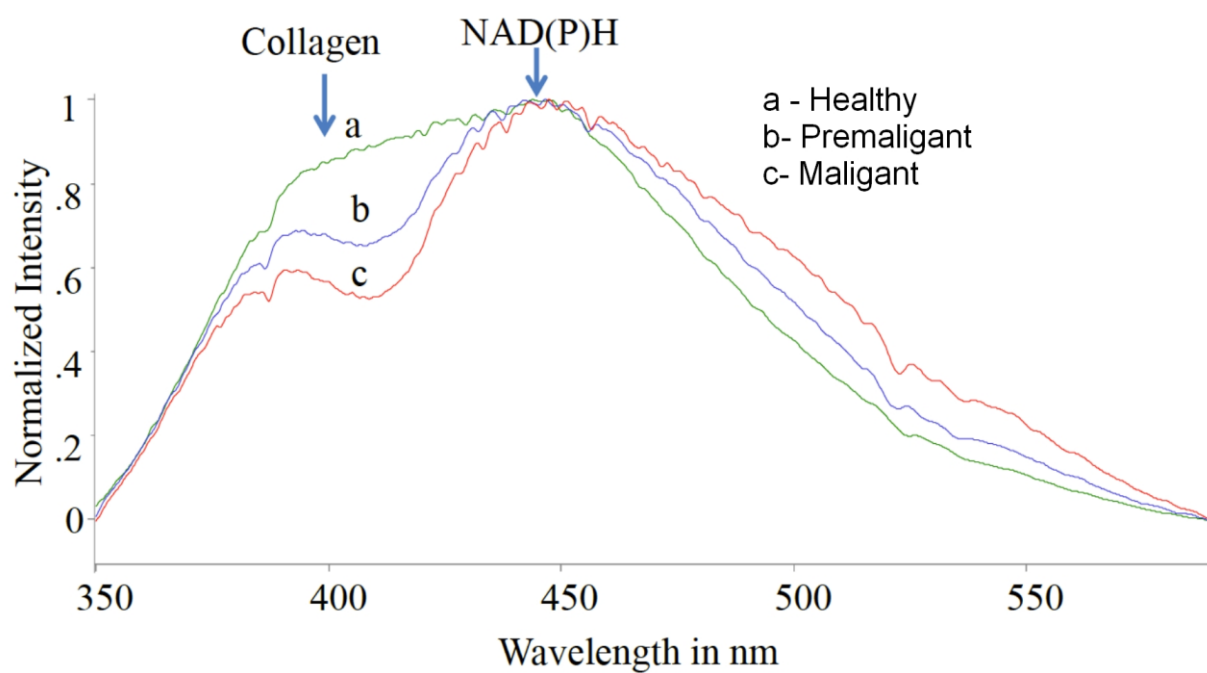


Рис. 2. Спектры люминесценции кожи мышей – здоровых, в предопухолевом состоянии и со злокачественными опухолями.

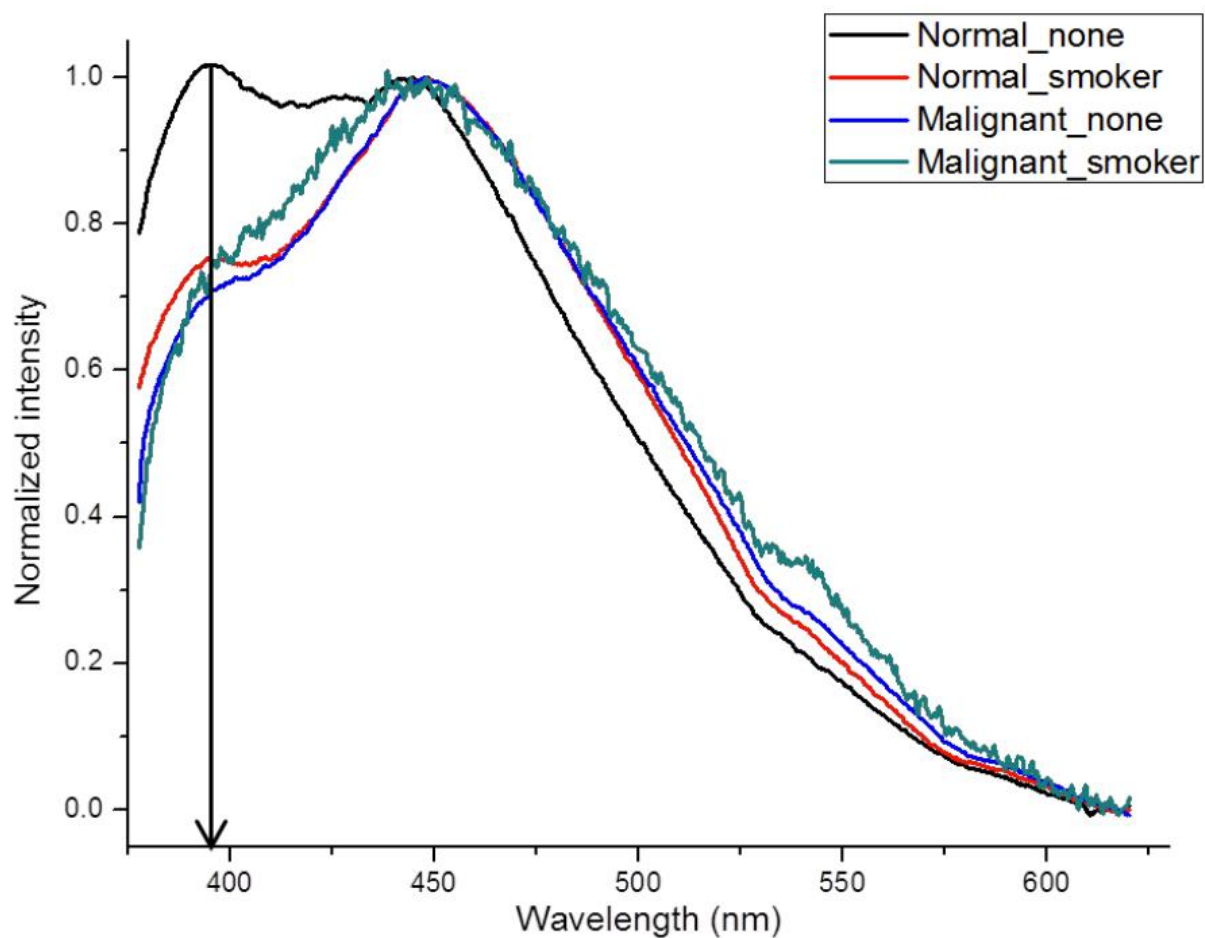


Рис. 3. Спектры люминесценции слизистой щеки у курящих и некурящих

пациентов с онкологическими заболеваниями и без.

Разработка методики анализа по данным диффузного отражения

Спектры отражения меланина. Обзор экспериментальных данных и модель для расчета.

Моделирование спектра расчета кожи с учетом влаги, насыщенного и ненасыщенного кислородом гемоглобина был сделан в (5), зависимость только от концентрации меланина, при условиях что остальные параметры неизменны и пренебрегая зависимостью от влажности и насыщенности, приводится к виду

$$R(\lambda) = \frac{1}{k_1 + k_2 c_{mel} \exp[-k_m \frac{\lambda - \lambda_0}{\lambda_0}]} \quad (1)$$

Где k_1 и k_2 – коэффициенты, зависящие от геометрии, влажности кожи и концентрации и насыщенности кислородом гемоглобина, c_{mel} – концентрация меланина, k_m – константа экспоненциального поглощения меланина (так в оригинале), $\lambda_0 = 400$ нм.

Экспериментальные данные из работы (6) приведены на Рис. 4, вместе с расчетом по модели (5).

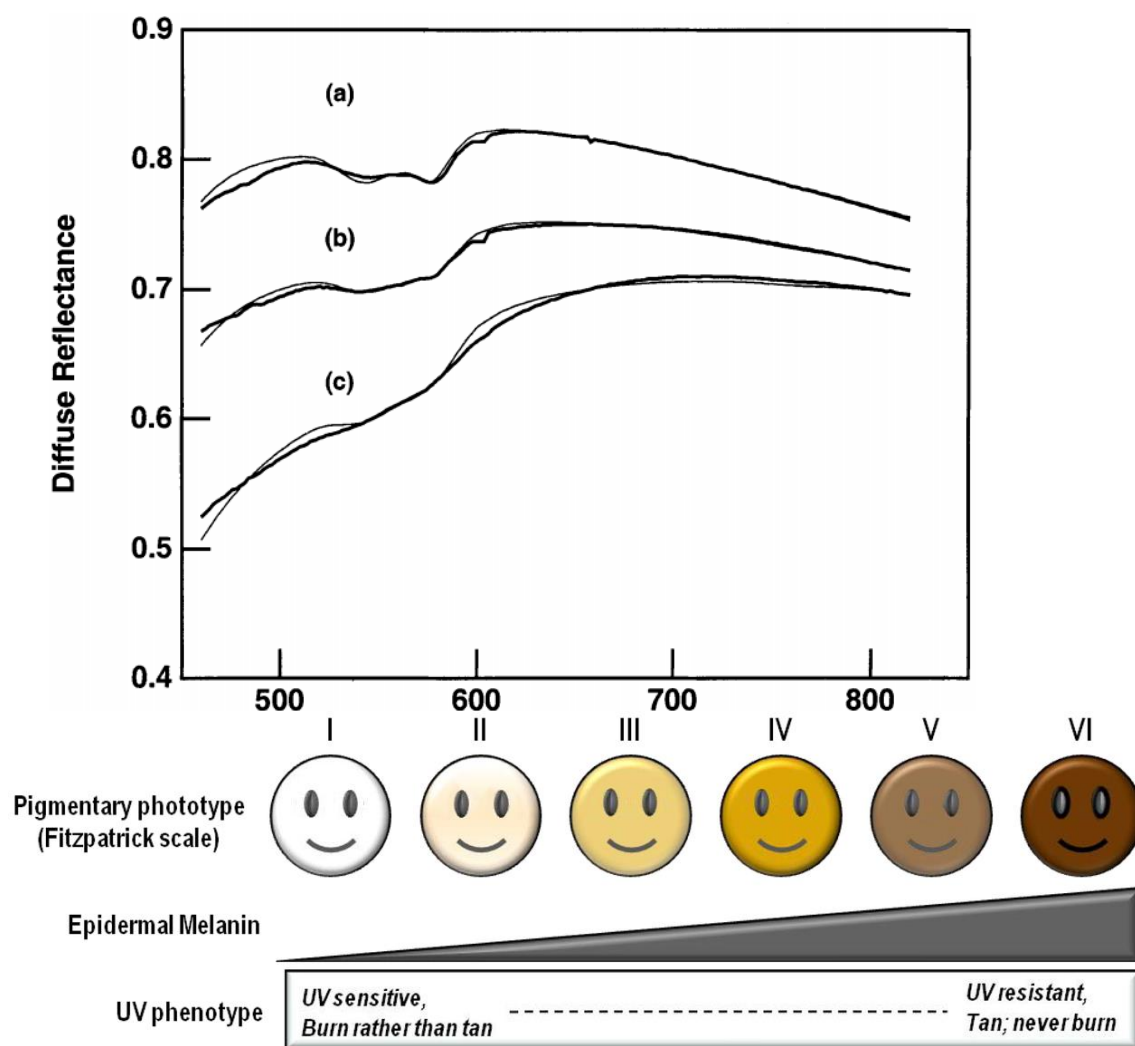


Рис. 4. Спектр отражения кожи – расчет (тонкая кривая) и эксперимент (жирная кривая) по (5) и (6), для кожи типа II, III и V по Fitzpatrick (7) (нижняя врезка).

Table I. Model parameters

Volunteer number (skin type)	Melanin content c_{mel} ($\times 10^{-7}$ mmol per dl)
1 (type V)	118
2 (type IV)	67
3 (type IV)	47
4 (type IV)	35
5 (type III)	24
6 (type III)	17
7 (type III)	15
8 (type III)	14
9 (type II)	4.5
10 (type II)	2.7

Таблица 1. Корреляция типа кожи по Фитцпатрику и содержания меланина в коже (8).

Измерение коэффициента отражения при линейчатом спектре источника света

При измерении спектра отражения как правило используют источник либо непрерывного (лампы накаливания) либо почти непрерывного, как в специальных газоразрядных лампах, спектра. Но у нас не стоит задача измерить точно спектр, наша задача – определить относительную концентрацию меланина. В простейшем случае нам достаточно будет двух источников света- инфракрасного светодиода для референсного значения (при $\lambda > 800$ нм) и для значения в области сильной зависимости от концентрации (ниже 600 нм по длине волны). Мы пробовали сделать прибор на 4 светодиодах – красный для получения референсного значения, желтый, зеленый, синий. Спектры излучения светодиодов представлен на рис. 5 наряду со спектрами отражения кожи с разным содержанием меланина. Так что мы реализуем методику определения по 4 точкам- референсной в красной (или ИК) и три точки данных для обработки. Поскольку спектры светодиодов

практически не пересекаются, мы можем считать что полученные значения соответствуют значениям на длинах волн светодиодов. Мы реализуем еще один метод – используем интегральный датчик с условно белым источником (светодиод с люминофором) с фотоприёмником в виде матрицы фотодиодов с интерференционными фильтрами на разные частоты (вертикальные линии, рис. 5) (8).

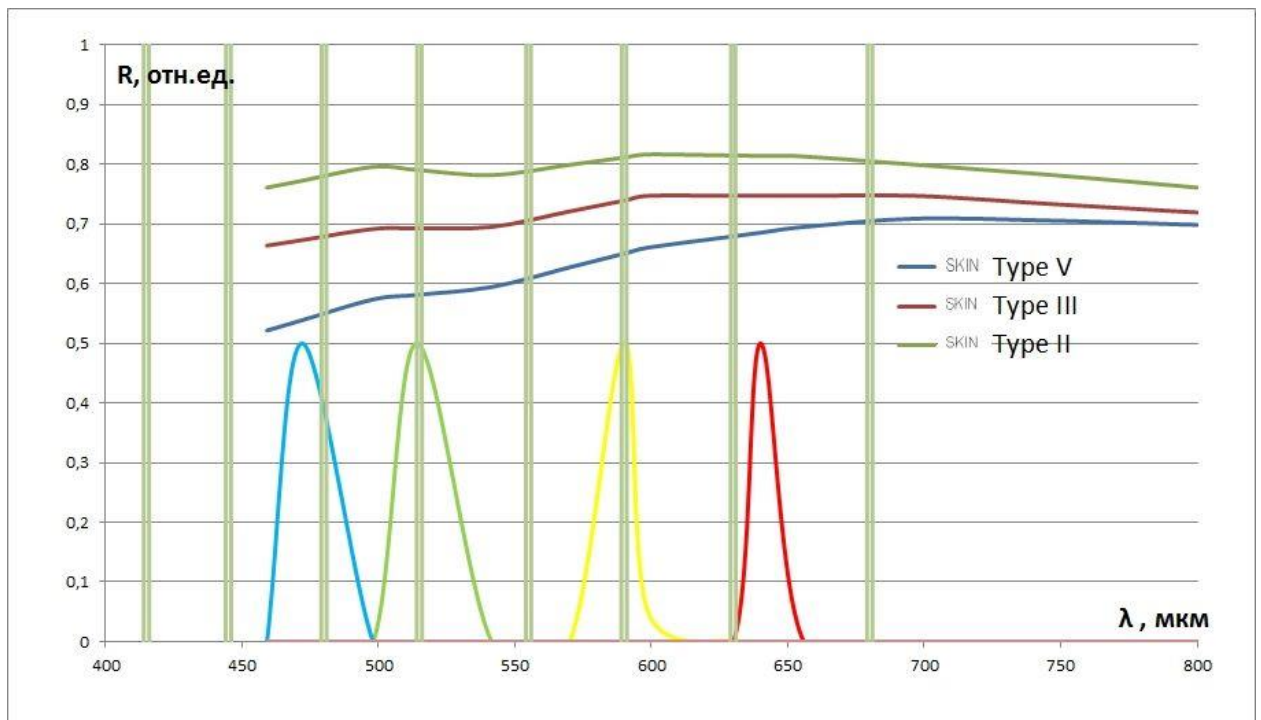


Рис. 5. Спектры отражения кожи, обусловленные разным содержанием меланина (5), и спектры красного, желтого, зеленого и синего светодиодов (нормированы по максимуму в условных единицах), а также частоты интерференционных фильтров интегрального датчика AS7341 (8).

Схемотехника прибора

Для обработки данных нам достаточно процессора Atmega328-16PU, который находится в составе недорогой платы Arduino Nano (7). Мы сделали две разработки в тестовом макетном варианте – со светодиодами определённого цвета и интегральным датчиком освещенности, и с матрицей

фотоприемников с интерференционными фильтрами. По результатам испытаний мы сделали выбор.

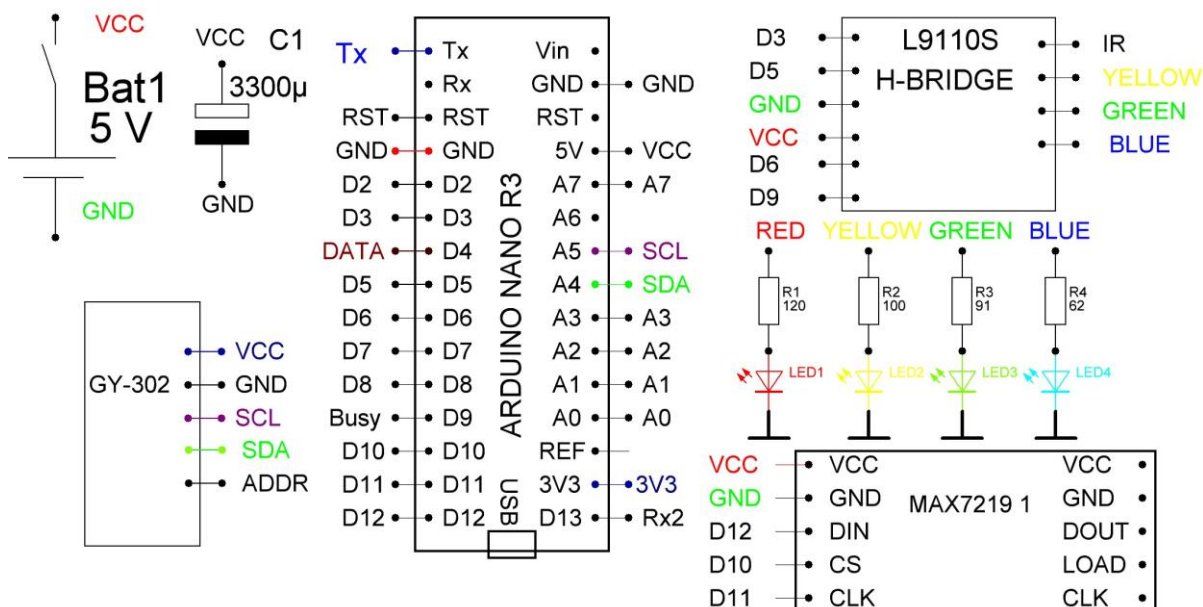


Рис. 6. Принципиальная схема прибора со светодиодами и интегральным датчиком - фотоприемником.

Поскольку источник питания диодов- генератор напряжения на двойном Н-мосте, для ограничения тока мы использовали резисторы таких номиналов, чтобы ток через все резисторы был равен 30 мА, кроме ИК светодиода – он очень эффективный, и если мы применяем его то и мы ограничили ток примерно 15 мА. Но пока для референсного значения мы используем красный светодиод, поскольку спектр чувствительности интегрального фотодатчика, который мы применяем, ограничен 750 нм (8).

По нашей схеме мы регистрируем коэффициент отражения в трех точках (ширина спектра светодиодов существенно меньше ширины полос спектра отражения), плюс реперная точка для ИК светодиода, и мы можем регистрировать изменение коэффициента отражения. В почти аналогичных приборах пульсоксиметрах (версии на отражение) точность достигает нескольких процентов, так что мы можем ожидать аналогичную точность.

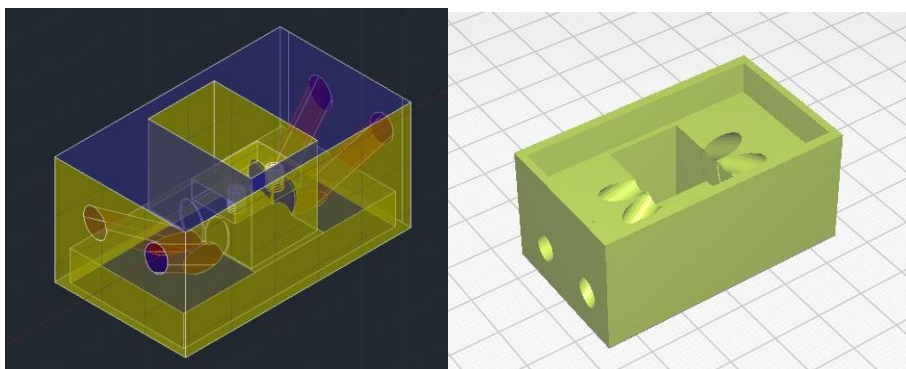


Рис. 7. Держатель светодиодов и интегрального датчика – разработка в 3D- программе и слайсинг для 3Д- принтера.

Для отладки программы мы собрали схему рис. 8 на макете (Рис. 7). Светодиодную матрицу индикаторов мы подключили для удобства тестирования.

Мы рассмотрели еще один вариант – датчик с матрицей фотодиодов с интерференционными фильтрами и (почти) белым облучением (8). Схема этой версии представлена на рис. 8. Интегральный датчик принимает и посылает данные по шине I2C в микроконтроллер. В зависимости от задачи микроконтроллер выводит данные на дисплей или передает далее на компьютер или в сеть через USB или BT интерфейс. Для того чтобы геометрия измерения была постоянна мы сделали на 3д-принтере держатели платы, рис. 8. Фото макета приведено на рис. 9.

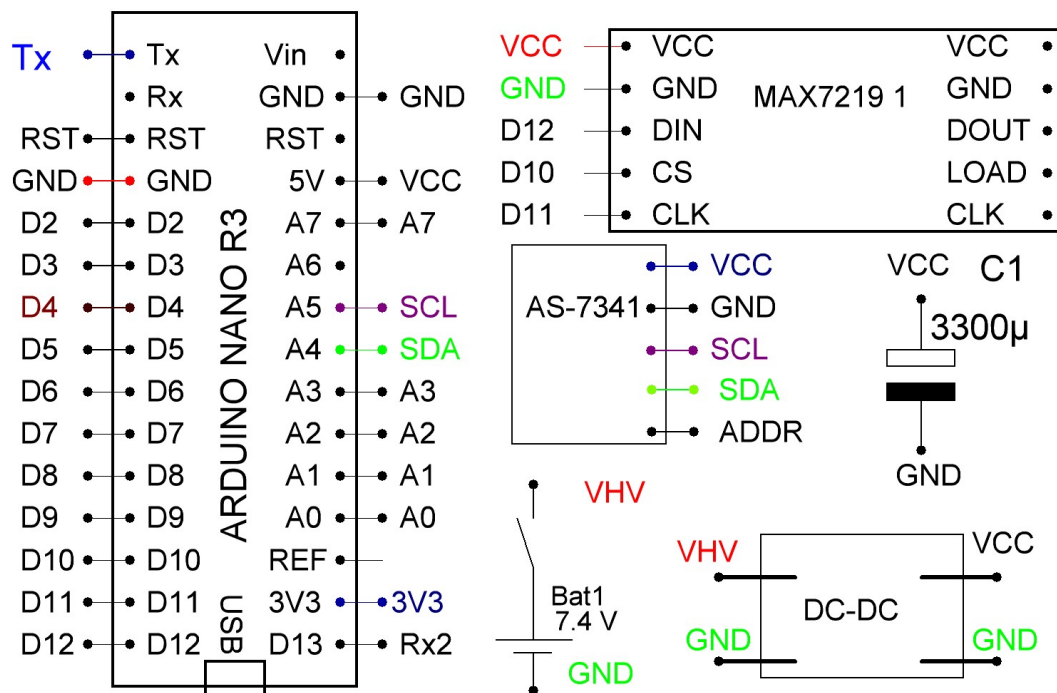


Рис. 10. Принципиальная схема измерителя отражения кожи на интегральном датчике AS7341.

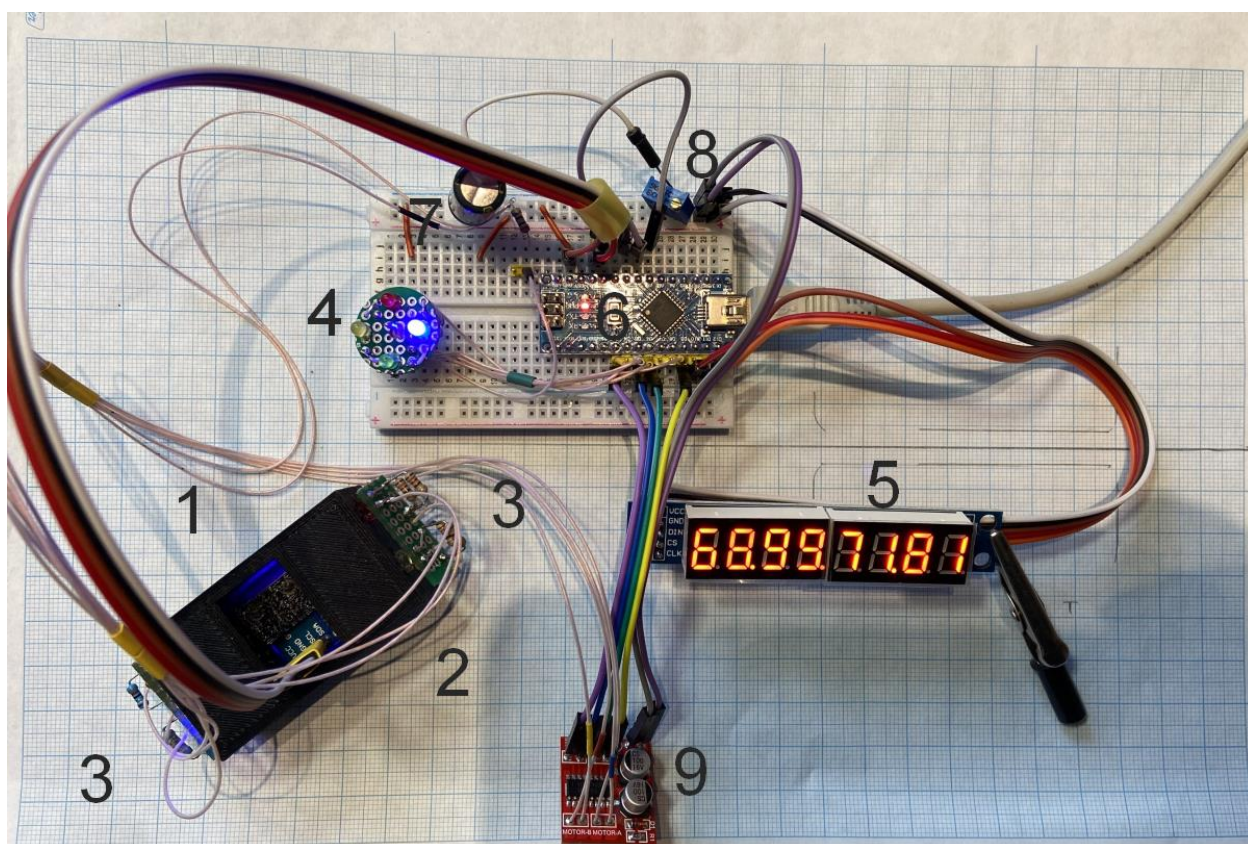


Рис. 11. Макет прибора, собранный для отладки. 1 – интегральный фотодатчик GY-301 на чипе BH1750 , 2 – держатель фотодатчика и

светодиодов, 3 – 4 светодиода с резисторами для ограничения тока, 4 – индикатор работы светодиодов, 5 – светодиодный индикатор, показывающий коэффициенты отражения в 4 полосах спектра, 6 – микроконтроллер Atmega328PU в составе платы Arduino Nano, 7 – конденсатор LSR 6800 uF, 8 – потенциометр для регулировки режима работы, 9 – Н- мост (цифровой усилитель) для питания светодиодов.

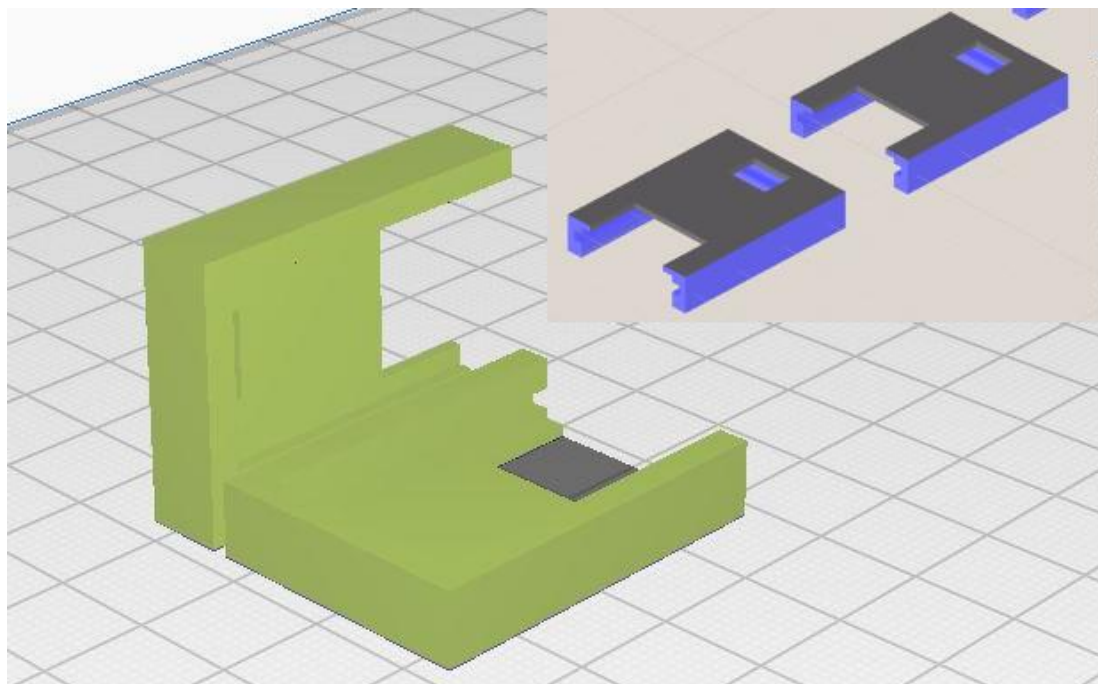


Рис. 12. Держатели платы с различной высотой, программа Cura (11).

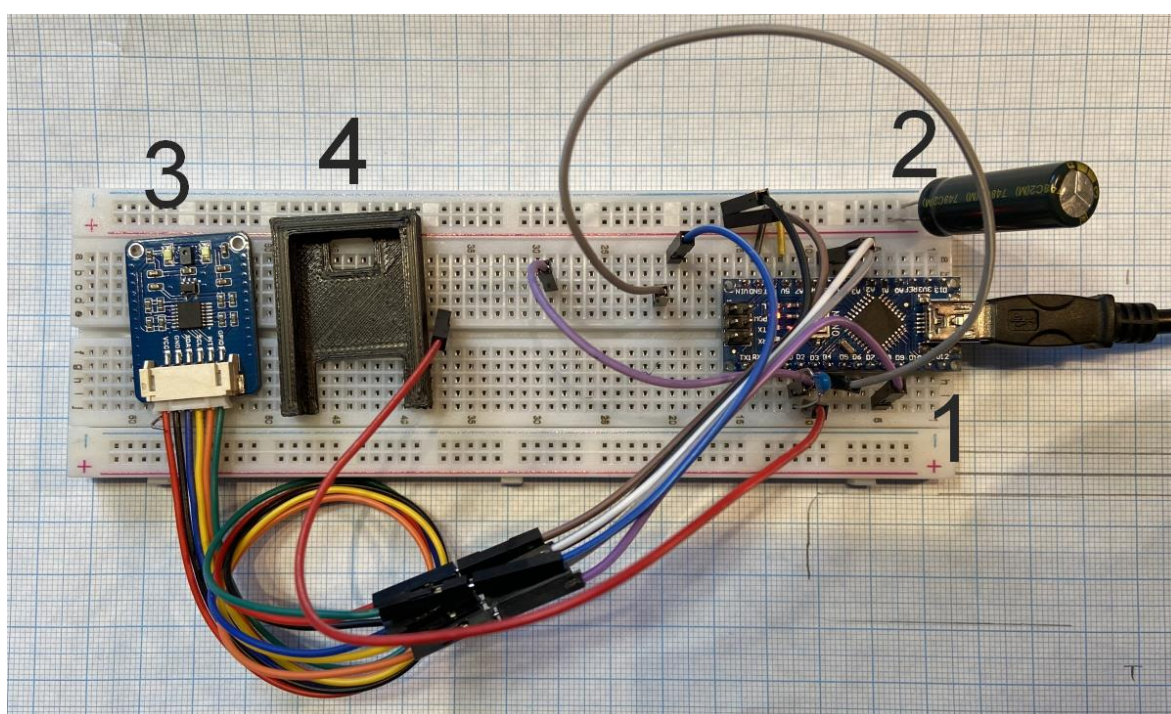


Рис. 13. Макет прибора измерения отражения кожи на чипе AS7341. 1- плата микроконтроллера Arduino Nano v3, 2- LowESR конденсатор, 3- плата датчика, 4- держатель (фиксатор на коже) платы.

Алгоритм работы прибора на светодиодах.

Прибор со светодиодами освещает исследуемый участок последовательно красным, желтым, зеленым и синим светодиодами, интегральный фотодатчик GY-302 на основе чипа BH1750 (8) измеряет значение освещенности и передает по шине I2C в микроконтроллер, и затем один такт считывается фоновый сигнал. Временная диаграмма показана на рис. 7. Затем происходит анализ – по отношению 3 показателей (Y,G,B) к показателю отражения красного (R) цвета определяется относительная концентрация меланина, в условных единицах. Вычисляется также среднеквадратичное отклонение по трем величинам. Все это выводится на экран и на монитор (ПК) по USB. Таким образом, можно отслеживать динамику, наблюдая (как в постановке задачи) изменение интенсивности биомедицинской татуировки не только на глаз, но и объективно.

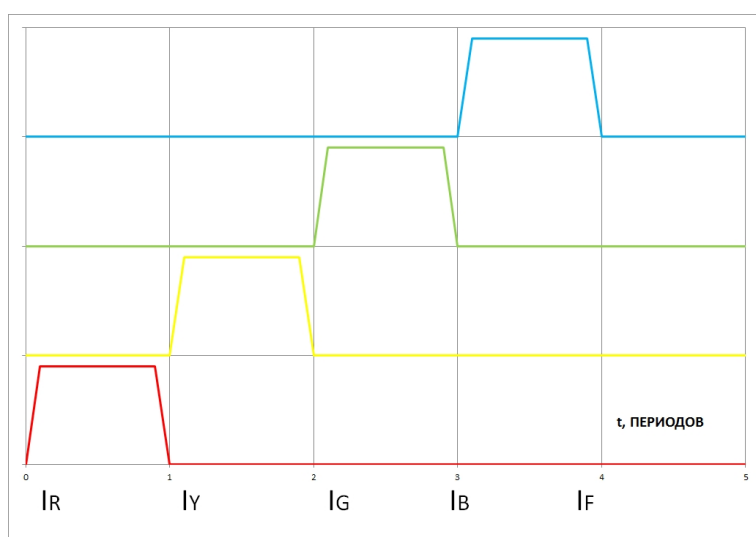


Рис.10. Временная диаграмма работы измерителя со светодиодами.

Алгоритм работы прибора на датчике AS7341

По данным (6) мы составили обратную зависимость – условная доля меланина (приняв ее в коже типа 2 за 0.0, в коже типа V за 1.0) на длинах волн наших светодиодов, нормализовав на полосе 680 нм. К сожалению, у нас нет данных на длине волны 910-930 нм, на которой можно было бы нормализовать с большей точностью. В идеале мы должны нормализовать на длине волны, на которой коэффициенты поглощения и отражения мало зависят от насыщенности крови кислородом – это область 800 – 930 нм. Однако авторы (6) провели исследование и показали, что уже через 5 минут после интенсивных занятий спортом (что влияет на насыщенность крови гемоглобином) показания коэффициента отражения в области 400 – 680 нм стабилизируются.

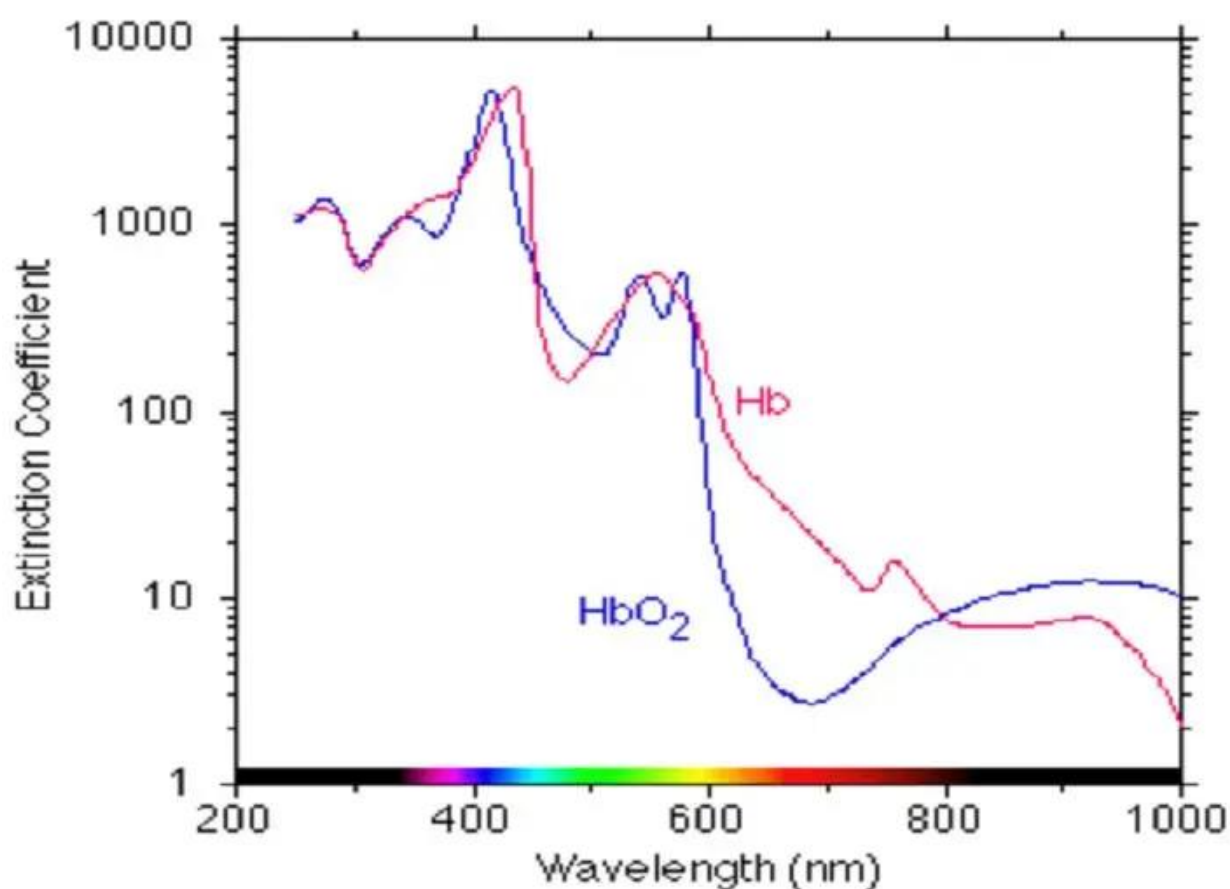


Рис. 11. Зависимость коэффициента экстинкции насыщенного и ненасыщенного кислородом гемоглобина (12).

Мы сделали держатель платы чипа AS7341 так чтобы внешний свет не попадал на фотоматрицу. Мы записали спектр отражения белого матового листа и использовали эти данные для нормировки чипа по длинам волн. Для получения данных по спектру (в 9 точках) отражения мы нормировали данные на значение в точке 680 нм. Из двух методов мы выбрали измерение с помощью чипа AS7341 по следующим причинам:

1. В AS7341 есть автоматическое устранение мерцания 50-60 Гц
2. Построение данных по 9 точкам надежнее чем построение по 4 точкам
3. Небольшой размер позволяет сделать удобное крепление датчика к телу человека (хотя бы на время измерения, но можно и крепить на длительное время, как пульсоксиметры)
4. Светодиоды и интегральная матрица фотодиодов на одной плате более жестко и стабильнее с точки зрения геометрической оптики.

Конструирование прибора по измерению отражения кожи

Для получения данных (а мы собираемся определять тип кожи у посетителей солярия и фитнеса) мы собрали прибор в корпусе, напечатанном на 3Д принтере. В настоящее время прибор позволяет измерить отражение (в относительных единицах) по 9 длинам волн в видимом и ИК диапазоне, вычисляет условный тип кожи (обобщенный тип по Фитцпатрику), запоминает данные в памяти с указанием номера ячейки памяти, выдает через USB в компьютер данные как в реальном времени, так и записанные ранее. Питание – от двух аккумуляторов LiIon18650, есть индикатор на 8 знаков. Органы управления- включение, запись, считывание.

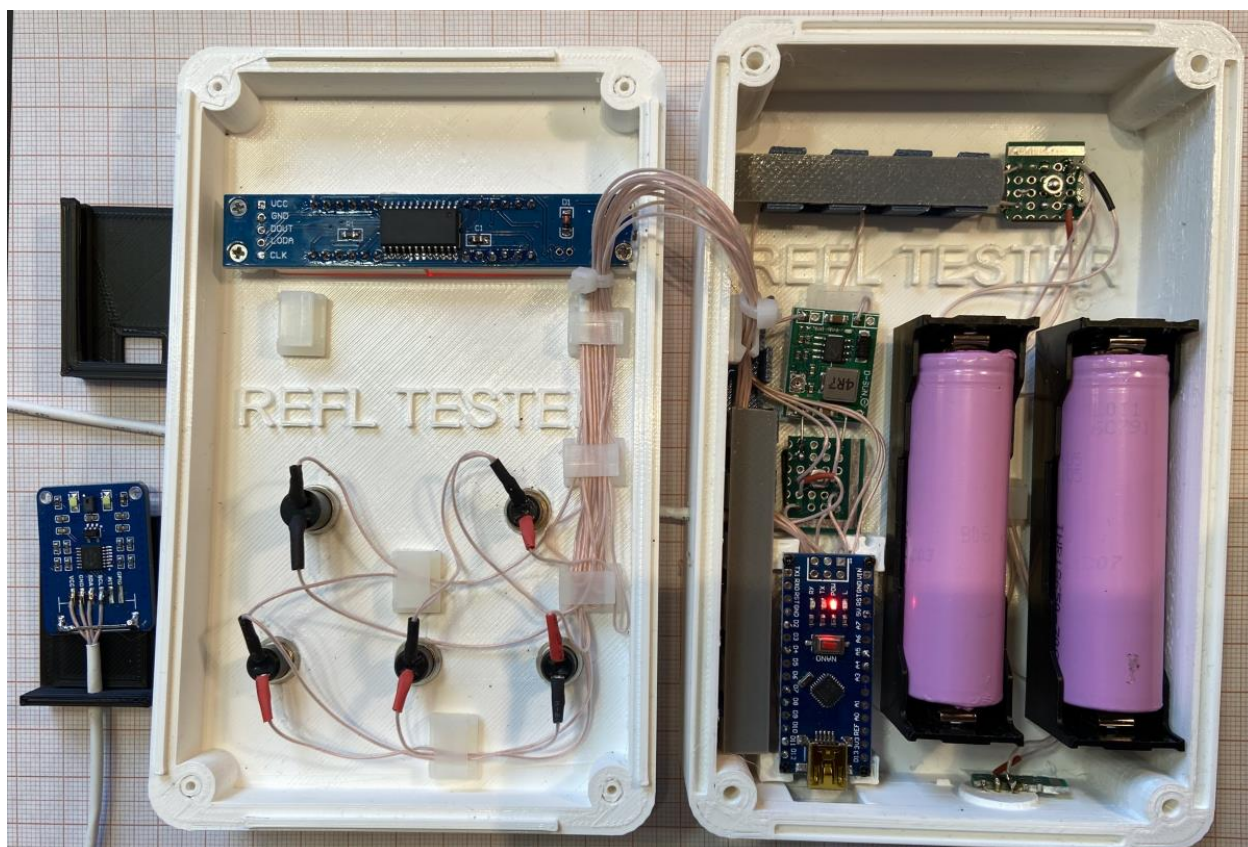


Рис. 12. Прибор собран в корпусе.



Рис. 13 Прибор в корпусе.

Получение данных о содержании меланина по экспериментально полученным точкам.

Получение и отображение данных

Мы провели измерение спектра отражения с помощью чипа AS7341 на нескольких людях. К сожалению у нас были только люди с кожей типа II по Фитцпатрику, так что большого разброса данных мы не получили. Однако для всех наших измерений характерно то, что отражение (в условных единицах, мы не измеряли абсолютной величины) с частей тела, подверженных загару (тыльная сторона ладони) меньше, чем отражение от внутренней стороны запястья.

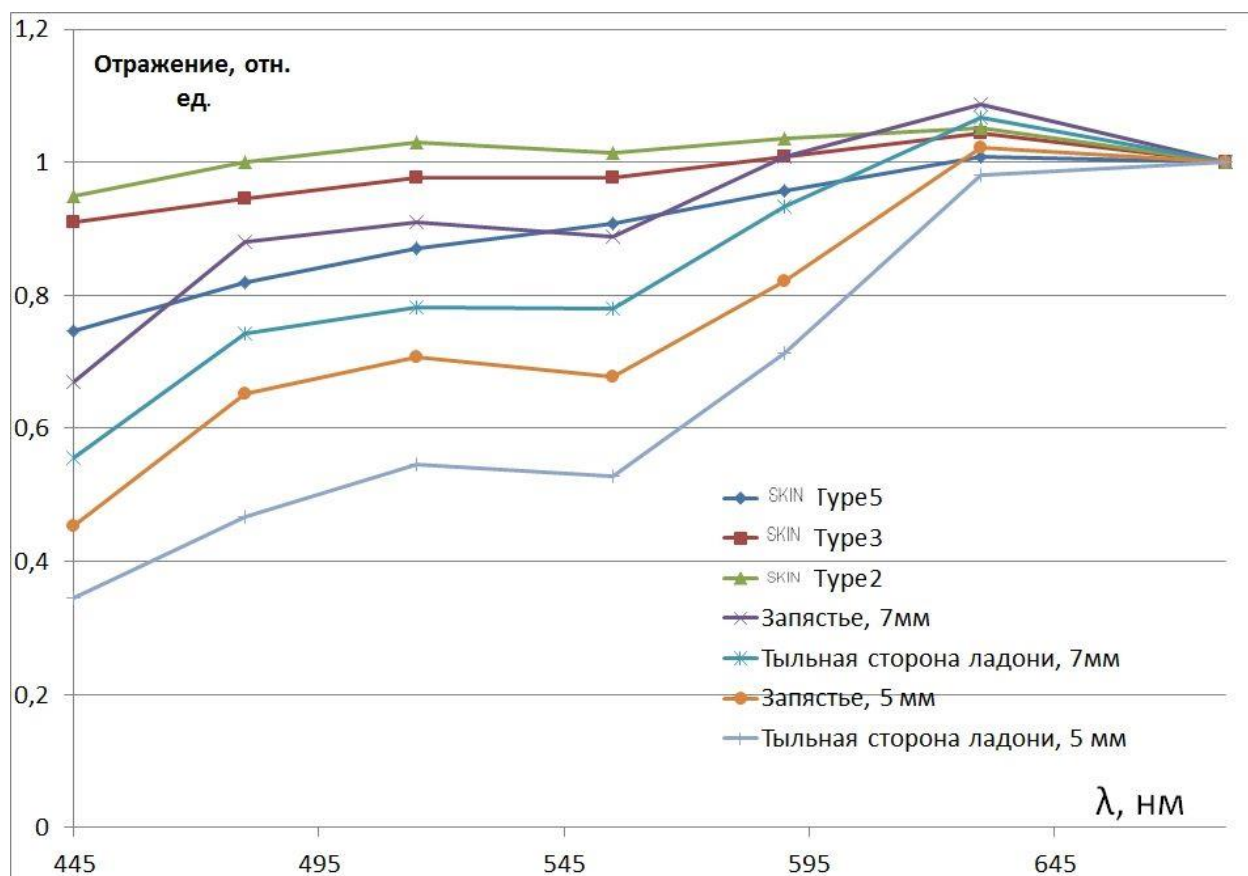


Рис. 14. Нормированный на сигнал красного сенсора значения отражения (отн. ед.) для двух значений расстояния от поверхности до сенсора.

Серьезный вопрос- не влияет ли на спектры отражения насыщенность гемоглобина крови кислородом (рис. 11). Мы провели измерения в течении продолжительного (более 3 минут) времени и не увидели характерных для изменения насыщенности изменений коэффициента отражения, в нашем случае если бы они были бы- мы бы увидели их в виде цифровых артефактов или биений. Заметим, что измерение насыщенности крови кислородом проводят на тех участках тела, где кровеносные сосуды максимально близко подходят к поверхности кожи, и даже в таких местах измерение- очень тонкая процедура, с вычитанием основной линии, обесшумливания, выделения частот, так что то что мы не увидели биений из-за пульса – нормально, так что и влияние периодического изменения насыщенности крови кислородом на наши данные нет.

Мы также сравнили данные, полученные непосредственно с датчика (с учетом нормировки по листу белой бумаги), а также нормированные по сигналам на 910 и 680 нм. Все данные показывают, что отражение внешних, подвергаемых солнечному облучению частей кожи – наружная сторона ладони ниже, чем отражение в области обычно закрытой части кожи – на запястье, под манжетами верхней одежды – рис. 15.

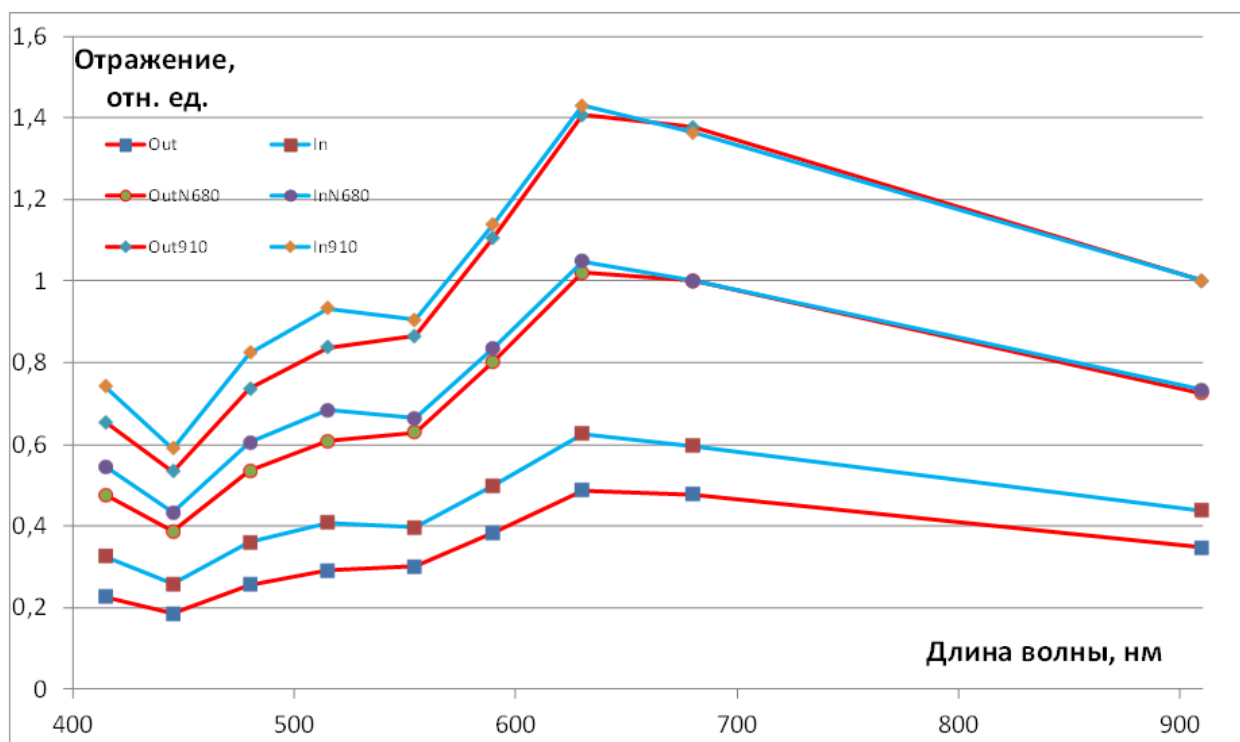


Рис. 15. Нормированные данные по отражению кожи- нормированные по отражению белой бумагой, нормированные по отражению на 910 нм и нормированные по отражению на 680 нм.

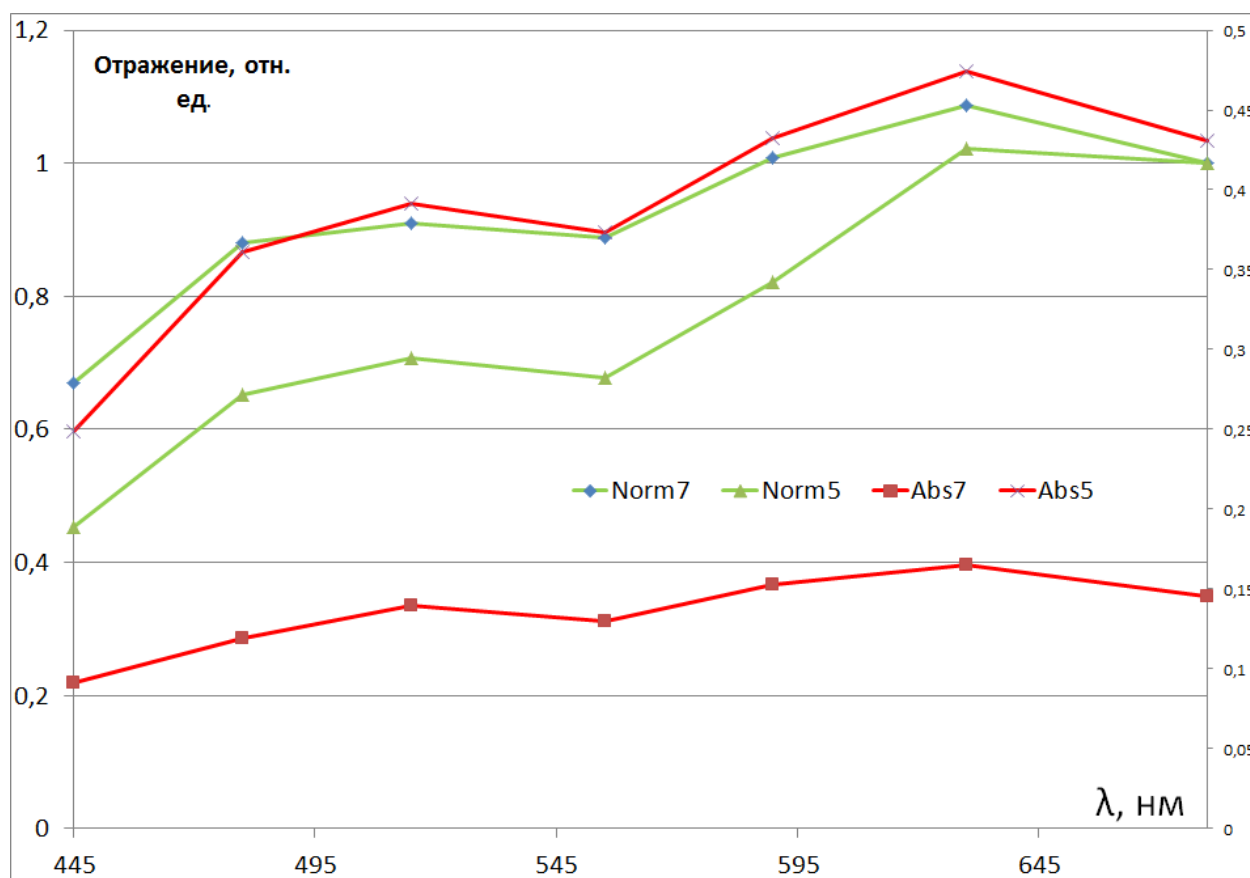


Рис. 16. Почему мы делаем нормировку- для того чтобы уменьшить геометрический фактор.

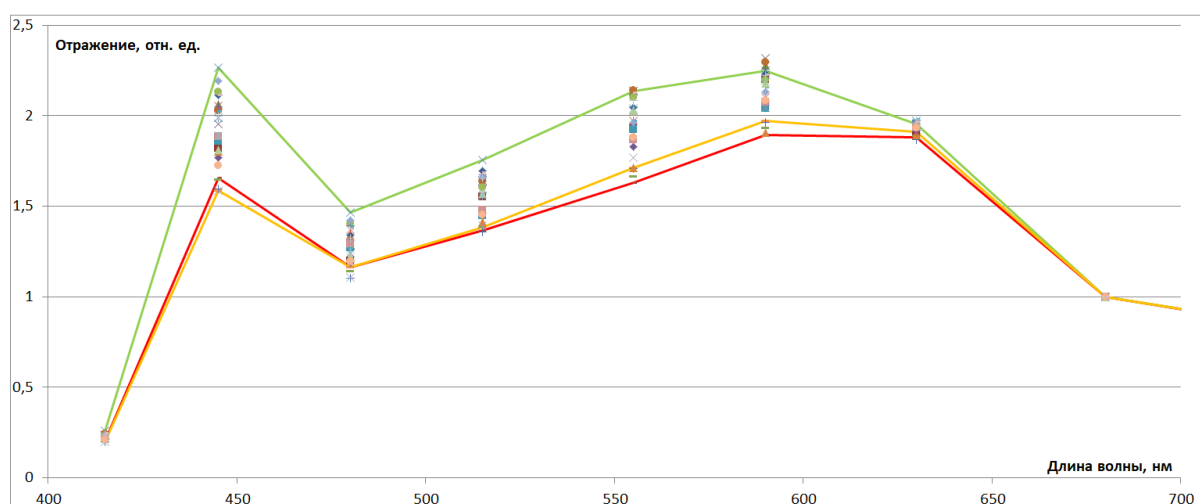


Рис. 17. Спектры отражения кожи 13 клиентов фитнес- центра «Скульптор» в Черноголовке, М.О. Красная и желтая линии соединяют точки

самых загорелых, на глаз, клиентов. Точки- нормированные по сигналу на 680 нм коэффициент отражения (относительные единицы).

Сейчас – зима, и встретить загорелого человека практически невозможно. Но мы нашли выход – мы посетили фитнес- центр «Скульптор» в Черноголовке, где среди услуг есть и солярий. Но, к сожалению, среди посетителей (а мы зафиксировали спектры отражения кожи у 13 посетителей) все имели кожу тип-2, так что построить математическую модель для определения типа кожи по прибору не удалось. Но мы видим что прибор у людей с темной (на вид) типом кожи показывает меньшие (абсолютно и относительно) значения отражения, чем у людей со светлой (на глаз, опять же) кожей. Но мы надеемся, что в ближайшее время мы проведем измерения у людей с типом 1 и типом 4-5, а если повезет – то и 6, так что мы сможем построить математическую модель для определения типа кожи (а тем самым и содержания меланина).

Если есть реперные точки по типам кожи, то мы сможем определять тип кожи интерполяцией по данным для разных длин волн. Сейчас полных данных нет, но мы можем оценить разброс по разным длинам волн. Это не доказывает абсолютную пригодность метода, но если мы не получим просто шум – это будет сильным аргументом за методику. Положим, что самая темная и самая светлая кожи людей из нашей выборки соответствуют типам 1,5 и 2,5 (с некоторой точностью примерно так и есть), тогда для каждого человека мы можем определить тип кожи в 7 точках, и если эти данные будут совпадать – то это сильный аргумент в пользу валидности метода. Мы посчитали тип для всех данных по всем длинам волн (кроме реперной 680 нм, само собой) и посчитали среднеквадратичное отклонение – у нас получилось от 0,05 до 0,31 (для относительного – от 2% до 18%) – что, с учетом очень небольшого диапазона изменения типа кожи и простотой конструкции, можно считать удовлетворительным. Пример для нескольких посетителей фитнес- центра показан на рис. 18.

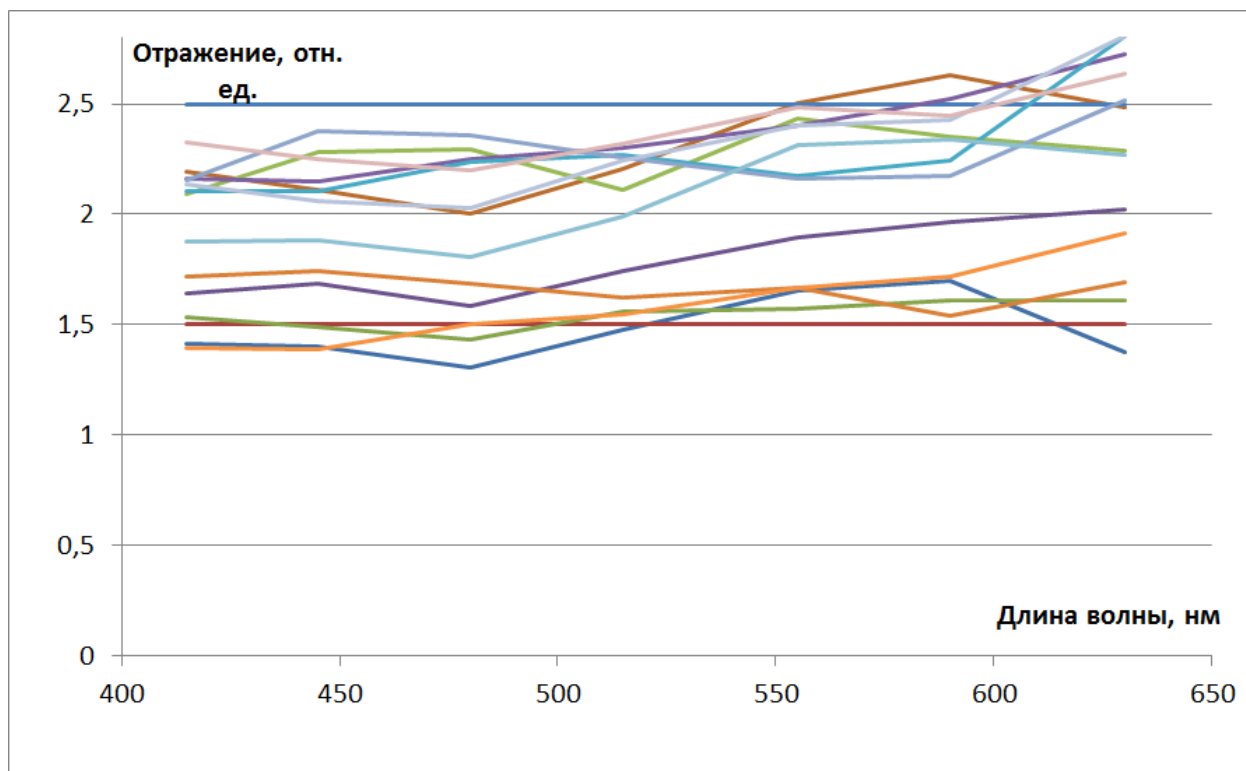


Рис. 18. Значения вычисляемого типа кожи для разных длин волн, сплошные горизонтальные линии- референсные для типа 1,5 и 2,5 по Фитцпатрику.

Определение типа кожи по Фитцпатрику с помощью прибора

Нам неизвестно точный вид зависимости отражения от содержания меланина, особенно в нашем случае с разными углами падения излучения, но мы можем вычислять с помощью интерполяции в построенной по точкам кусочно – линейной модели, когда значение функции определяется линейной интерполяцией в конечном числе диапазонов с известными значениями на краях. Так что наш выбор сенсора с 9 полосами измерения будет полезен- мы будем определять значение в каждой полосе (кроме реперной), а затем сможем сравнить эти значения и по среднеквадратичному отклонению оценить верность интерпретации. Так что если у нас будет получаться большое относительное

отклонение, то предложенная нами методика может быть признана сомнительной. Впрочем, забегая вперед- при корректном определении среднеквадратичное отклонение – порядка 10%, что в наших условиях может быть признано удовлетворительным.

По результатам наших измерений посетителей фитнес - центра мы, полагая что крайние случаи соответствуют типам 1.5 и 2.5, получили массивы значений по линиям спектра, и определяем обобщенный тип кожи по Фитцпатрику (пока только в одном линейном интервале, другие интервалы (для кожи от 1 и выше 2) мы добавим по мере получения данных):

$$T_{F\lambda}=1.5+ D*(R_{1.5}-R)/(R_{1.5}- R_{2.5}) ;$$

где $T_{F\lambda}$ –обобщенный тип кожи по Фитцпатрику, D – диапазон типов кожи в нашем исследовании ($2,5-1,5=1$), R – сигнал отражения, $R_{1.5}$ –сигнал отражения кожи самого «бледного» нашего подопытного, $R_{2.5}$ - сигнал отражения самого «загорелого» нашего подопытного, все эти параметры, конечно, разные для разных полос спектра. Проводим такие вычисления для всех полос спектра. При этом мы еще вычисляем среднее значение (его выводим на экран дисплея) и относительное среднеквадратичное отклонение. Кстати мы при одном определении увидели, что среднеквадратичное отклонение слишком велико – оказалось, что прибор попал на сильно выступающую вену, и таким образом показания исказились. Так что по показанию отклонения можно судить о корректности проведенного измерения.

Впрочем, задача определения типа кожи- не основная, основная задача, которую может решить вопрос- оперативное наблюдение, в том числе и в реальном времени, за уровнем меламина и в случае с биоинженерной татуировкой – следить за ходом лечения, и, таким образом, за успешностью или неуспешностью конкретного лечения конкретного пациента.

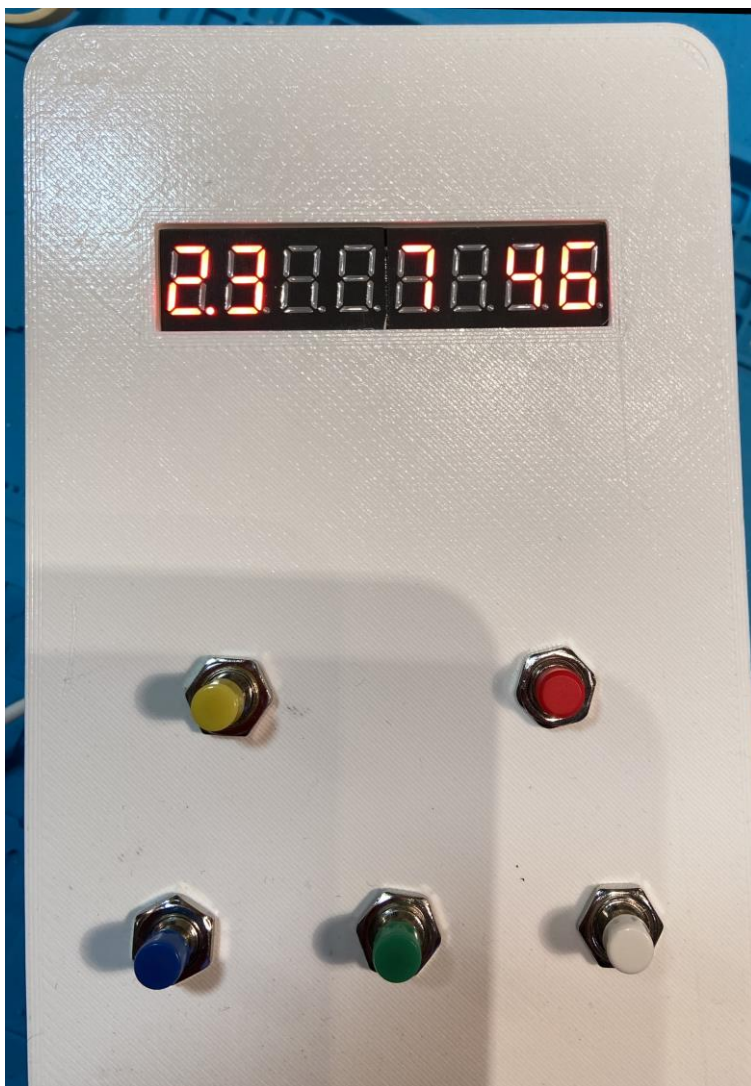


Рис. 19. Показания прибора- тип кожи по Фитцпатрику, среднеквадратичное отклонение, нормированное на среднее, в процентах, и номер записи в EEPROM.

Результаты и выводы

1. Показано, что определение спектра отражения и других оптических свойств кожи и слизистых может быть использовано для диагностики в медицине
2. На основе анализа имеющихся недорогих методов измерения коэффициента отражения выбраны комплектующие и принцип работы
3. Сконструирована схема измерения, проведены испытания на макете

4. Написана программа обработки данных, позволяющая вычислять условную концентрацию меланина по коэффициентам отражения и примерную точность определения. Полученная повторяемость (а в задаче нужна именно повторяемость) лучше 3%.
5. Прибор протестирован, отлажен и полностью работоспособен в виде макета с питанием от Power Bank и с выдачей данных по USB.
6. Прибор собран в корпусе в виде готовой конструкции.
7. Мы провели измерения прибором на себе и своих семьях, а также в фитнес- центре, где даже зимой можно встретить загорелого человека. Предварительные данные свидетельствуют что прибор дает показания, монотонно зависящие от загорелости «на глаз», и данные на разных длинах волн коррелируют.
8. Написана программа, вычисляющая тип кожи по данным, а также среднее по разным полосам спектра значение и среднеквадратичное отклонение, с выводом на светодиодный экран прибора.

Планы развития проекта.

Провести тестирование на людях с I, III и другими типами кожи.

Использованная литература

1. **R. Lozano et al.** A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 2012 г., Т. 380, стр. 2095 - 2128.
2. **J. Liao, A. Schneider, N. S. Datta, L. K. McCauley.** Extracellular calcium as a candidate mediator of prostate cancer skeletal metastasis. *Cancer Res*. 2006 г., Т. 66, стр. 9065–9073.
3. **Aizhan Tastanova, Marc Folcher, Marius Müller, Gieri Camenisch, Aaron Ponti, Thomas Horn, Aizhan Tastanova, Marc Folcher, Marius Müller, Gieri Camenisch, Aaron Ponti, Thomas Horn, Maria S. Tikhomirova, Martin Fussenegger.** Synthetic biology-based cellular biomedical tattoo for detection of hypercalcemia associated with cancer. *Science Translational Medicine*. 2018 г., Т. 10.
4. **Swathi Rao , Reena John , Ajeetkumar Patil , Unnikrishnan V. K. , Sajan D. George ,.** Optical Biopsy and Optical Pathology: Affordable Health. *J of Biomedical photonics*, 6 2020 г., Т. 6, 2, стр. 020309-1.
5. **C. Qin et All.** Tyrosinase as a multifunctional reporter gene for photoacoustic/MRI/PET triple modality molecular imaging. *Sci. Rep*. 2013 г., Т. 3, стр. 1490.
6. **George Zonios et all.** Melanin absorption spectroscopy: new method for noninvasive skin investigation and melanoma detection. *Journal of Biomedical Optics*. 2008 г., Т. 131, стр. 14017.
7. **George Zonios, Julie Bykowsky, Nikiforos Kollias.** Scin Melanin, Hemoglobin and Light Scattering Properties ca be Quantitaiively Assessed In Vivo Diffuse Reflrntace Sprctroscopy. *The Journal of investigative dermatology*. 2001 г., Т. 117, 6, стр. 1452.
8. **Pathak, M. A.; Jimbow, K.; Szabo, G.; Fitzpatrick, T. B.** *Photochemical and photobiological reviews*. New York : Plenum Press,

1976.

9. AS7341 – 11-Channel Spectral Color Sensor. [В Интернете]
<https://ams.com/as7341>.

10. ARDUINO NANO. [В Интернете]
<https://store.arduino.cc/usa/arduino-nano>.

11. BH1750FVI-TR, Датчик освещения. [В Интернете]
<https://www.chipdip.ru/product/bh1750fvi-tr>.

12. Ultimaker Cura. [В Интернете]
<https://ultimaker.com/software/ultimaker-cura>.

13. Payen, M.R. Pinsky D. Functional Hemodynamic Monitoring. *Critical Care*. 2005 г., Т. 566.

14. Хеннеси А.А.М, Джапп А.Д. . *Хеннеси А.А.М, Джапп А.Д. Анализ газов артериальной крови понятным языком / Пер. с англ. под ред. В.Л. Кассиля. Москва : Практическая медицина, 2010.*

15. BRATCHENKO IVAN A.1, KHRISTOFOROVA YULIA A.1, BRATCHENKO LYUDMILA A.1, MORYATOV ALEXANDER A.2, KOZLOV SERGEY V.2, BORISOVA EKATERINA G.3, ZAKHAROV VALERY P.1. OPTICAL BIOPSY OF AMELANOTIC MELANOMA WITH RAMAN AND AUTOFLUORESCENCE SPECTRA STIMULATED BY 785 NM LASER EXCITATION. *JOURNAL OF BIOMEDICAL PHOTONICS & ENGINEERING*. 2021 г., Т. 7, 2, стр. 20308.

16. *Proc. SPIE 11363, Tissue Optics and Photonics*. Valery P. Zakharov, Lyudmila A. Bratchenko, Yulia A. Khristoforova, Oleg O. Myakinin, Dmitry N. Artemyev, Alexander A. Moryatov, Sergey V. Kozlov, Ekaterina G. Borisova, Tsanislava I. Genova, Petranka P. Troyanova, Ivan A. Bratchenko. 2020. Multiparametric spectral

diagnosis of skin cancer. 1136310.

Приложения.

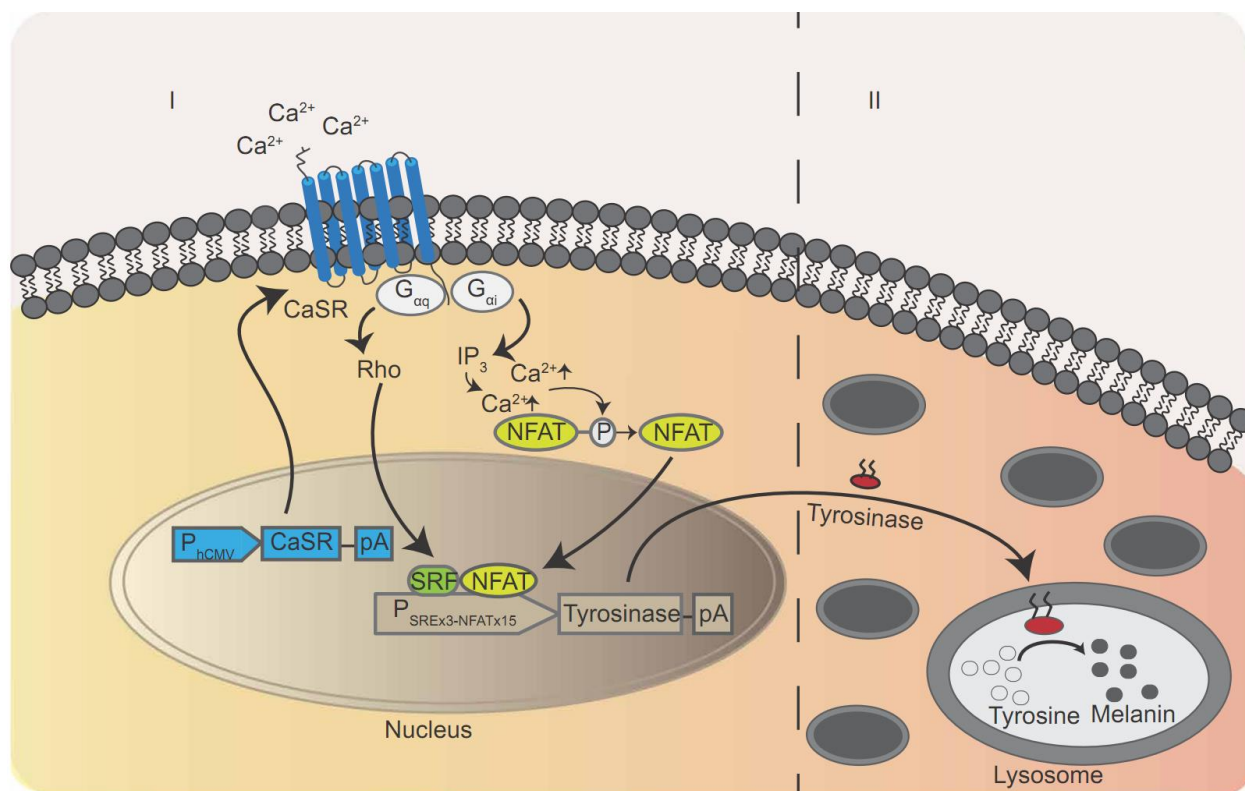


Рис. П1. Биоинженерная клетка для диагностики повышенного содержания ионов кальция в крови. Детали в оригинальной работе (3).