

Измерение с помощью ОКТ скорости диффузии воды и лекарственных препаратов в изолированной и целой роговице глаза

К.В.Ларин, М.Г.Гхосн

Рассмотрена пассивная диффузия лекарственных препаратов через эпителиальные поверхности глаза – наиболее распространенный метод лечения различных заболеваний. Проницаемость воды и лекарственных препаратов через роговицу глаза кролика была измерена в двух случаях: в отделенной от глаза (изолированной) роговице и в целой роговице глаза. Для оценки коэффициентов проницаемости воды и дексаметазона был использован метод оптической когерентной томографии (ОКТ). Поскольку многократное рассеяние фотонов вносит шум и искажения в ОКТ-сигнал, измерения проводились на глубине до 500 мкм, где, скорее всего, реализуется режим однократного рассеяния в роговице. Показано, что коэффициенты проницаемости в изолированной и целой роговице сильно отличаются друг от друга. Например, проницаемость ткани для воды в случае изолированной роговицы составляет $(7.09 \pm 0.12) \times 10^{-5}$ см/с, в случае целой роговицы – $(1.71 \pm 0.51) \times 10^{-5}$ см/с.

Ключевые слова: оптическая когерентная томография, диффузия, однократное и многократное рассеяние, роговая оболочка.

1. Введение

Известно, что глазные заболевания, такие как диабетическая ретинопатия и глаукома, являются основной причиной потери зрения [1–3]. Успешное лечение и профилактика этих заболеваний требуют длительного применения различных лекарственных препаратов. Эффективная доставка лекарств к тканям сетчатки глаза остается трудной (и потенциально опасной) процедурой из-за низкой проницаемости тканей глаза и естественного вымывания препаратов [4, 5].

В настоящее время пассивная диффузия лекарственных препаратов через роговицу и склеру является наиболее распространенным методом лечения различных заболеваний глаза [6]. Это обусловлено тем, что роговая оболочка проницаема для множества растворов с молекулами различных размеров. Однако применение этого метода затруднено низкой проходимостью лекарств через многослойную роговую оболочку, вымыванием лекарств глазными жидкостями и поглощением в конъюнктиве. Разработка новых методов, улучшающих доставку препаратов через роговицу и склеру с помощью гелей, мазей, полимерных и коллоидных систем, а также циклодекстринов, является основным направлением исследований, проводимых во многих лабораториях и научных центрах [7].

В последнее время для изучения диффузии лекарственных препаратов в эпителиальных тканях глаза было предложено несколько экспериментальных методов, таких как спектрофлуориметрия [8–12], флуоресцентная

микроскопия [13–15], микродиализис [16, 17], ядерный магнитный резонанс (ЯМР) [18, 19] и оптическая спектроскопия [20]. Результаты, полученные данными методами, заложили основу наших знаний о диффузии различных химических и биологических соединений в тканях глаза. Коэффициенты диффузии лекарственных препаратов с различной молекулярной массой в склере, роговой оболочке и других тканях глаза приведены в статье [21].

Подготовка биотканей к экспериментам, выполняемым различными методами, происходит по-разному. Например, при спектрофлуориметрии и микродиализисе участок исследуемой ткани глаза должен быть изолирован, тогда как при ЯМР этого не требуется. Поэтому измеренный коэффициент диффузии лекарственных препаратов в одной и той же ткани может быть различным в зависимости от экспериментальных условий [21]. Целью настоящей работы является измерение и сравнение скорости диффузии воды и лекарственных препаратов в изолированной и целой роговице глаза *in vitro* с помощью метода оптической когерентной томографии (ОКТ).

ОКТ – относительно новый неинвазивный метод построения двумерных изображений внутренней микроstructures как прозрачных, так и сильнорассеивающих объектов с пространственным разрешением до нескольких микрометров на глубине, достигающей нескольких миллиметров (в зависимости от типа рассеивающих объектов). Повышенный интерес к данному методу обусловлен возможностью получения неинвазивной информации о внутренней структуре биообъектов с высоким пространственным разрешением в режиме реального времени. Методы оптической низкокогерентной интерферометрии и рефлектометрии описаны в трудах Линника, Флоурней и Гилджена [22–24]. Первая двумерная томограмма глазных тканей была получена группой из Массачусетского технологического института под руководством Фуджимото в 1991 г. [25]. Подробное описание данного метода и его применений в биологии и медицине

K.V.Larin, M.G.Ghoshn. University of Houston, Biomedical Engineering, N207 Engineering Building 1, Houston, Texas 77204; e-mail: klarin@uh.edu

Поступила в редакцию 16 мая 2006 г., после доработки – 23 августа 2006 г.

можно найти, например, в [26–28]. Основной принцип ОКТ состоит в регистрации отраженного исследуемым объектом излучения в пределах длины когерентности лазерного источника. В наиболее распространенной конфигурации излучение от низкокогерентного лазерного источника поступает в двухплечевой интерферометр Майкельсона, после чего с помощью светоделительного элемента часть излучения интерферометра направляется на объект, а другая часть – на зеркало.

В интерферометре происходит сложение излучения от исследуемого объекта и опорного излучения, отраженного от зеркала в опорном плече. Сигнал интерференции имеет ненулевое значение только в том случае, если оптические пути в плечах интерферометра совпадают с точностью до длины когерентности зондирующего излучения. Поэтому сканирование в глубину объекта осуществляется путем изменения разности длин сигнального и опорного плеч (А-скан), а вдоль поверхности объекта – с помощью второго зеркала, помещенного в сигнальное плечо интерферометра. Таким образом могут быть получены двумерные и трехмерные изображения исследуемого объекта.

Недавно метод ОКТ был применен для измерения диффузии красителя в агаровом геле [29]. Изменения оптических свойств образца геля во время проникновения красителя были измерены с помощью двух низкокогерентных лазерных источников, объединенных в одну систему. Предложенный метод основан на дифференциальном определении различий в оптических свойствах геля для двух длин волн, одна из которых поглощается красителем, а другая – нет. Результаты, полученные в работе [29], показывают, что метод ОКТ может быть успешно применен для функционального описания распространения поглощающих препаратов в моделирующих ткань объектах. Однако метод ОКТ, основанный на измерении коэффициента поглощения, может быть недостаточно чувствительным для определения диффузионных свойств лекарственных препаратов, используемых при лечении глазных заболеваний. В связи с этим для определения диффузионных свойств препаратов недавно был предложен метод ОКТ, обладающий более высокой чувствительностью и основанный на измерении коэффициента рассеяния [30].

В настоящей работе мы исследовали проницаемость воды и дексаметазона (лекарственного препарата, используемого при воспалительных и аллергических заболеваниях глаза) *in vitro* с помощью ОКТ в двух случаях: в изолированной от глаза роговице и в целой роговице глаза.

Ранее мы показали, что распространение препаратов в объектах и биотканях изменяет показатель преломления среды и коэффициент рассеяния [31–35]. Данные изменения происходят вследствие нескольких биофизических процессов [31–33, 36–40], включая согласование показателей преломления рассеивающих центров и базового вещества в результате диффузии в ткань препаратов, изменение оптической однородности ткани за счет осмотического уплотнения рассеивающих центров (что ведет к возрастанию показателя преломления базового вещества, который становится сравнимым с показателем преломления коллагеновых волокон), изменение pH и реорганизацию коллагеновых волокон вследствие биохимического взаимодействия препаратов и биотканей. Например, в простейшей монодисперсной модели рас-

сеивающих диэлектрических шаров коэффициент рассеяния [41]

$$\mu_s = \frac{3.28\pi r^2 \rho_s}{1-g} \left(\frac{2\pi r}{\lambda}\right)^{0.37} \left(\frac{n_s}{n_m} - 1\right)^{2.09}, \quad (1)$$

где r – радиус шара; g – параметр анизотропии рассеяния; ρ_s – объемная плотность шара; λ – длина волны излучения; n_s и n_m – показатели преломления рассеивающих центров и базового вещества. Поэтому увеличение показателя преломления базового вещества n_m за счет диффузии препаратов до $n_m + \delta n_{ag}$ приводит к уменьшению коэффициента рассеяния (1).

Ослабление лазерного пучка в слабоссеивающей биоткани может быть оценено на основе закона Бугера–Бэра:

$$I(z) = (1-R)I_0 \exp(-\mu_s z), \quad (2)$$

где R – коэффициент френелевского отражения; I_0 – интенсивность падающего света. Поскольку ОКТ-сигнал представляет собой запись относительной интенсивности распределения лазерного излучения по глубине (в режиме однократного рассеяния), относительный наклон распределения ОКТ-сигнала по глубине (далее – наклон ОКТ-сигнала), построенного в логарифмической шкале (в условных единицах), пропорционален коэффициенту рассеяния биоткани:

$$\ln \left[\frac{I(z)}{(1-R)I_0} \right] = -\mu_s z. \quad (3)$$

В связи с этим изменения в коэффициенте рассеяния среды отражаются на изменении наклона ОКТ-сигналов, которые можно легко измерить [30–33, 35, 42] (рис.1). Следует отметить, что уравнения (1)–(4) и сигналы ОКТ, представленные на рис.1, относятся, строго говоря, к режиму однократного рассеяния фотонов. Многократное рассеяние фотонов вносит шум и искажения в ОКТ-сигналы, поэтому при построении в логарифмической шкале они будут отклоняться от линейного закона и их информативность может значительно уменьшиться. Подробные теоретические и экспериментальные исследования влияния одно- и многократного рассеяния на формирование ОКТ-сигналов описаны, например, в работах Шмитта, Меглинского и Кирилли-

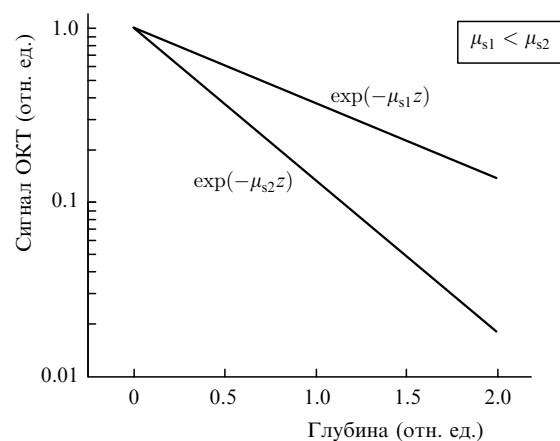


Рис.1. Пример теоретических ОКТ-сигналов, полученных при использовании двух монодисперсных рассеивающих сред с разными коэффициентами рассеяния.

на [43–47]. В настоящей работе обработка ОКТ-сигналов проводилась в роговице на глубине до 500 мкм, где, скорее всего, реализуется режим однократного рассеяния.

2. Экспериментальные методы

2.1. Экспериментальная установка

Экспериментальная установка для измерения проницаемости лекарственных препаратов в роговице глаза показана на рис.2 (корпорация Imalux, Кливленд). Низкокогерентный суперлюминесцентный диод (СЛД) с длиной волны 1310 ± 15 нм, выходной мощностью 375 мкВт и длиной когерентности 25 мкм использовался как оптический источник. Вследствие надежности и компактности, относительной дешевизны, а также высокой степени поперечной пространственной когерентности и большой спектральной яркости излучения СЛД наиболее подходит для подобных измерений. В предметное плечо интерферометра помещался миниатюрный эндоскопический зонд, который позволял осуществлять поверхностное сканирование исследуемых объектов вдоль одной оси (ось X). Сканирование в глубину исследуемых объектов (ось Z) осуществлялось с помощью пьезоэлектрической модуляции длины волокна (и, следовательно, оптического пути) в опорном плече интерферометра.

Характеристики используемой ОКТ-системы позволяли получать двумерные изображения (томограммы) исследуемых объектов размером 2.2×2.4 мм и 450×450 пикселей (рис.3,а). Характерное время получения одного изображения составляло ~ 3 с. Для подавления спеклшума томограммы усреднялись на длине ~ 1 мм вдоль оси X . Одномерные изображения (ОКТ-сигналы) показаны на рис.3,б. Относительный наклон ОКТ-сигнала вычислялся на глубине приблизительно 100–400 мкм от поверхности роговицы методом наименьших квадратов. Все размеры, приведенные в данной статье, были получены делением оптической длины, регистрируемой с помощью ОКТ, на показатель преломления биоткани (примерно 1.4 для роговой оболочки).

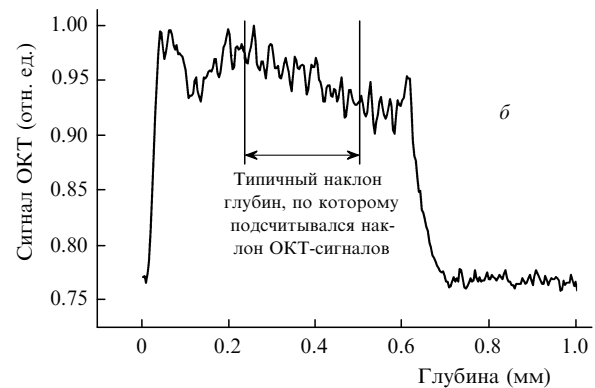
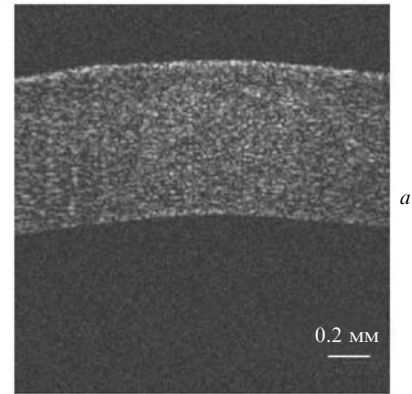


Рис.3. Типичная ОКТ-томограмма (а) и соответствующий одномерный сигнал ОКТ (б), полученные от роговицы глаза.

2.2. Биоткань и используемые препараты

В качестве биоткани в экспериментах использовались свежеизолированные глаза кролика, полученные от Vision Tech. Inc., Даллас; при транспортировке и хранении они находились в охлажденном физиологическом растворе (0.9% хлорида натрия). Эксперименты были проведены в течение первых трех дней после экзтаназии, что обеспечивало минимальные изменения в физиологическом состоянии тканей. За час до экспериментов глаза

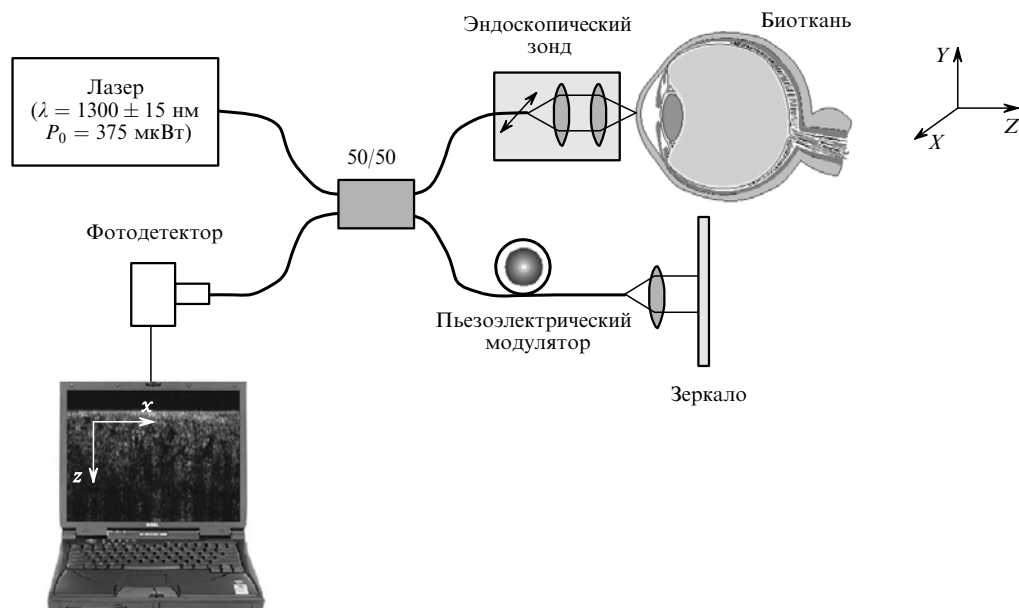


Рис.2. Схема экспериментальной ОКТ-установки.

были вынуты из охлаждающей среды и помещены в физиологический раствор комнатной температуры (22°C), которая в течение всех экспериментов поддерживалась постоянной. Длительность типичного эксперимента составляла 30–90 мин, ОКТ-томограммы записывались непрерывно в течение каждого эксперимента (каждые 3 с). Перед добавлением воды и лекарственных препаратов томограммы роговой оболочки записывались в течение 4–10 мин.

В данной работе мы изучали распространение чистой дистиллированной воды и дексаметазона в роговой оболочке глаза. Дексаметазон применяется в качестве противовоспалительного, противоаллергического и антиэкссудативного средства при лечении конъюнктивита, кератита, неврита зрительного нерва, и многих других заболеваний глаза. Концентрация дексаметазона составляла 0.2 % (в водном растворе 50 %-ного пропилен гликоля).

2.3. Экспериментальные условия

Диффузия воды и дексаметазона в роговой оболочке глаза была измерена при экспериментальных условиях двух типов – в изолированных тканях и в целом глазу (рис.4).

Для экспериментов с изолированными тканями образцы роговой оболочки (размером примерно 20×15 мм) были аккуратно вырезаны из глаз кролика. В течение всей процедуры извлечения глаза находились в физиологическом растворе комнатной температуры. Изолированные образцы роговой оболочки были помещены в особую кювету для ОКТ-экспериментов. Лазерный пучок направлялся перпендикулярно эпителиальной поверхности тканей. Во время экспериментов эндотелиальная сторона тканей с целью поддержания гидратации помещалась в физиологический раствор (рис.4,а). На эпителиальную поверхность тканей в зоне сканирования лазерным пучком через 4–10 мин после начала эксперимента добавлялось $\sim 1 \text{ мм}^3$ препарата. Образцы роговой оболочки вторично не использовались.

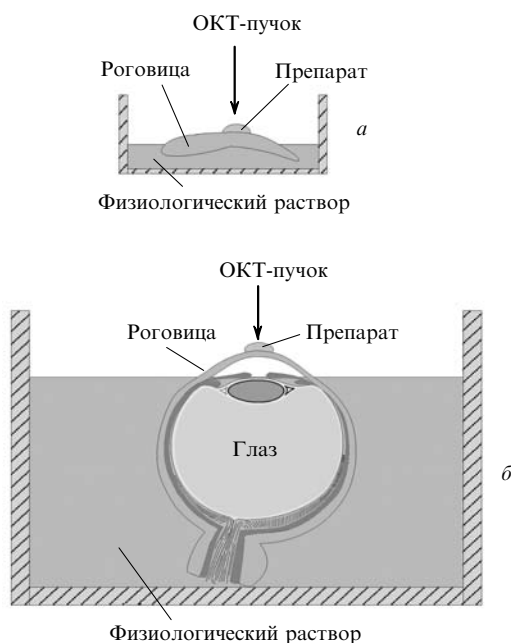


Рис.4. Схемы условий эксперимента при исследовании изолированной (а) и неизолированной (б) роговицы.

В экспериментах второго типа проницаемость препаратов изучалась в роговой оболочке, не отделенной от глазного яблока. Глаза кроликов помещались в специальную кювету, причем нижнее полушарие глазного яблока было погружено в физиологический раствор (рис. 4,б). Аналогично предыдущему случаю, после 4–10 мин от начала эксперимента капля препарата добавлялась на эпителиальную поверхность тканей в зоне сканирования лазерным пучком. Целые глаза кроликов использовались не более чем в двух экспериментах в течение трех дней (в промежутке между экспериментами глаза хранились в охлажденном физиологическом растворе).

2.4. Измерение проницаемости

Коэффициент проницаемости (в см/с) воды и дексаметазона в роговой оболочке глаза был вычислен с помощью следующего метода. Двумерные ОКТ-томограммы усреднялись по оси X в одномерную кривую (в логарифмическом масштабе) (см. рис.3). Наклон ОКТ-сигналов вычислялся в определенной области ткани методом наименьших квадратов. Протяженность выбранной области по глубине, а также её удаленность от поверхности ткани были определены из ОКТ-сигналов, для которых реализовывался режим однократного рассеяния. Так как распространение препарата в ткани выражается в изменении локального коэффициента рассеяния [31–33, 36], то время проницаемости препарата в выбранной области определялось по времени изменения наклона ОКТ-сигналов. Коэффициент проницаемости был вычислен делением протяженности исследуемой области на время, которое требуется препарату, чтобы продиффундировать через эту область.

3. Результаты

Типичные нормированные наклоны ОКТ-сигналов, полученные в экспериментах с диффузией воды в изолированной и целой роговице, представлены на рис.5,а и б соответственно. Наклоны ОКТ-сигналов рассчитывались на глубине примерно 100 мкм от эпителиальной поверхности тканей. Протяженность исследуемой области, в которой осуществлялся подсчет наклонов ОКТ-сигналов, составляла 314 мкм для изолированной роговицы и 280 мкм для целой роговицы. Распространение воды в роговой оболочке вызывало изменение локального коэффициента рассеяния, что сказывалось на изменении наклонов ОКТ-сигналов. Увеличение локальной концентрации воды приводило к уменьшению локального коэффициента рассеяния и, следовательно, к уменьшению наклона ОКТ-сигнала. Как видно из рис.5, капля воды, помещенная на изолированную роговицу, продиффундировала через нее приблизительно за 5 мин, а в случае эксперимента с целым глазом – примерно за 24 мин. Полученные коэффициенты проницаемости воды составили 9.5×10^{-5} см/с для изолированной и 1.86×10^{-5} см/с для неизолированной роговицы. После проникновения воды в ткань роговицы устанавливалось состояние приблизительного равновесия, которое наблюдалось до конца экспериментов.

На рис.6 представлены нормированные наклоны ОКТ-сигналов, измеренные в изолированной и целой роговице во время экспериментов с дексаметазоном. Наклоны ОКТ-сигналов измерялись на глубине ~ 60 мкм от эпителиальной поверхности тканей. Протяженность ис-

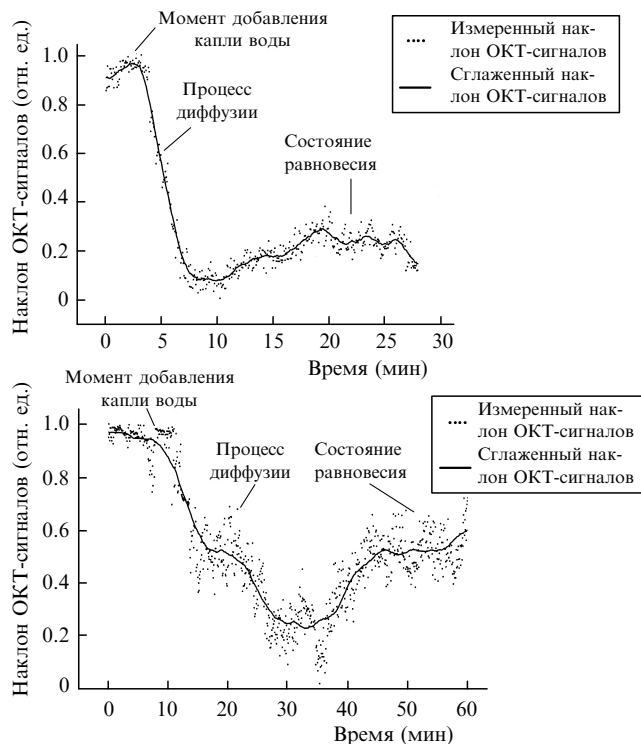


Рис.5. Типичные наклоны ОКТ-сигналов, полученные в экспериментах с диффузией воды в изолированной (а) и целой (б) роговице глаза.

следуемой области была равна 600 мкм для изолированной роговицы и 280 мкм для целой. Выбор протяженности исследуемой области определялся однородностью структуры ткани по глубине в месте измерений. Как и в случае воды, диффузия дексаметазона в роговой обо-

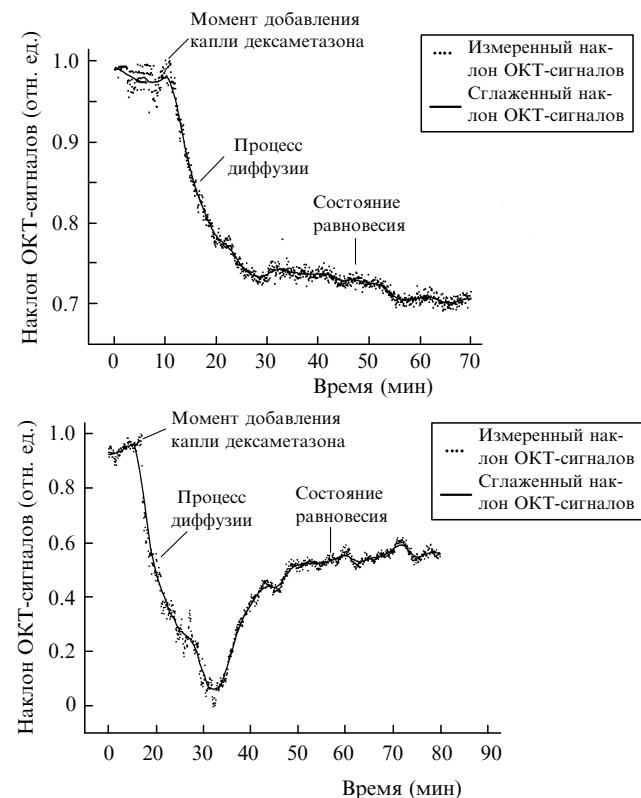


Рис.6. Типичные наклоны ОКТ-сигналов, полученные в экспериментах с диффузией дексаметазона в изолированной (а) и целой (б) роговице глаза.

лочке вызывала изменение локального коэффициента рассеяния, что отражалось в изменении наклонов ОКТ-сигналов. В случае изолированной роговицы капля дексаметазона, добавленная на десятой минуте эксперимента, продиффундировала через исследуемую область за 19 мин, что дало коэффициент проницаемости около 5.2×10^{-5} см/с. А в случае эксперимента с целой роговицей коэффициент проницаемости дексаметазона составил $\sim 2.95 \times 10^{-5}$ см/с.

4. Обсуждение результатов

Обработка ОКТ-сигналов, полученных от роговицы кролика, позволила рассчитать коэффициент проницаемости для воды и дексаметазона. В общей сложности в рамках данных исследований было проведено 22 эксперимента. Итоговые коэффициенты проницаемости для воды и дексаметазона даны в табл.1. Стандартные отклонения для каждого коэффициента проницаемости посчитаны из 3–9 независимых экспериментов с различными образцами. Как видно из таблицы, коэффициенты проницаемости для воды и дексаметазона, измеренные в целом глазу, существенно ниже, чем в изолированной роговице (например, для воды они составляют $(1.71 \pm 0.51) \times 10^{-5}$ см/с против $(7.09 \pm 0.12) \times 10^{-5}$ см/с). Так как эксперименты с целыми глазами ближе к естественным условиям, чем эксперименты с изолированными тканями, ожидается, что коэффициенты проницаемости, измеренные в глазу *in vivo*, будут коррелировать с данными, полученными для неизолированной роговицы.

Наклон ОКТ-сигналов, измеренных в роговице, практически не менялся до добавления препарата и после установления состояния равновесия. Как было показано выше, диффузия препаратов в биологических объектах вызывает уменьшение коэффициента рассеяния и, соответственно, наклона ОКТ-сигналов. Интересно отметить, что за уменьшением наклона ОКТ-сигналов следует увеличение наклона, которое наблюдалось практически во всех экспериментах. Данное поведение наклона ОКТ-сигналов может быть объяснено процессом дегидратации тканей, а, как уже отмечалось ранее, коэффициент рассеяния роговицы зависит от степени ее гидратации [39, 40, 48, 49]. Увеличение концентрации воды в роговице глаза приводит к набуханию ткани и изменению ее оптической однородности, что, в свою очередь, вызывает уменьшение локального коэффициента рассеяния и, следовательно, наклона ОКТ-сигнала. Поскольку во время проведения экспериментов эпителиальная сторона роговицы была всегда в контакте с воздухом, то испарение с поверхности ткани вызывало ее дегидратацию и соответственное увеличение коэффициента рассеяния и наклона ОКТ-сигналов до тех пор, пока не ус-

Табл.1. Коэффициенты проницаемости воды и дексаметазона в роговице глаза кролика, полученные при различных условиях приготовления образца (n – число проведенных независимых экспериментов).

Исследуемая жидкость	Коэффициент проницаемости (см/с)	
	Изолированная роговица	Неизолированная роговица
Вода	$(7.09 \pm 0.12) \times 10^{-5}$ ($n = 9$)	$(1.71 \pm 0.51) \times 10^{-5}$ ($n = 6$)
Дексаметазон	$6.22 \pm 0.12) \times 10^{-5}$ ($n = 3$)	$(3.12 \pm 0.15) \times 10^{-5}$ ($n = 4$)

танавливался баланс между дегидратацией через эпителий роговицы и гидратацией через ее эндотелий.

В данной работе коэффициенты проницаемости измерялись при комнатной температуре. Широко известно, что коэффициент диффузии растет с увеличением температуры образца. Температурная зависимость коэффициента диффузии в жидкости может быть представлена как [50]

$$D(T_2) = D(T_1) \frac{T_2 \eta(T_1)}{T_1 \eta(T_2)}, \quad (4)$$

где $D(T)$ – коэффициент диффузии при температуре T и $\eta(T)$ – вязкость жидкости. Поэтому ожидается, что полученные при комнатной температуре коэффициенты проницаемости будут выше при нормальной температуре тела.

В проведенных экспериментах наклоны ОКТ-сигналов измерялись в реальном времени. Следовательно, метод ОКТ может успешно применяться для мониторинга диффузии препаратов в ткани в реальном времени.

5. Заключение

С помощью разработанного метода проведена оценка и дан сравнительный анализ коэффициентов проницаемости воды и дексаметазона в слабодиссецирующей роговице кроликов в зависимости от экспериментальных условий подготовки и содержания биоткани. Однако при мониторинге диффузии препаратов в сильнодиссецирующих тканях (таких как склера и кожа) нужно учитывать роль многократного рассеяния в рассматриваемых сигналах.

Наши исследования показали, что: 1) диффузия препаратов в роговице вызывает уменьшение наклона ОКТ-сигнала; 2) за уменьшением наклона ОКТ-сигналов следует увеличение наклона вследствие дегидратации ткани; 3) коэффициенты проницаемости воды и дексаметазона, измеренные в изолированной роговой оболочке, сильно отличаются от коэффициентов проницаемости, измеренных в целом глазу. Результаты проведенных исследований указывают на то, что условия подготовки биоткани для экспериментального изучения процессов диффузии, а также физические и физиологические условия, при которых биоткань содержится во время экспериментов, могут оказать сильное влияние на полученные результаты и, как следствие, привести к неправильной или очень приблизительной оценке коэффициентов проницаемости различных препаратов в биотканях.

1. Quigley H.A. *Brit. J. Ophthalmol.*, **80**, 389 (1996).
2. Sanchez-Thorin J.C. *Intern. Ophthalmol. Clinics*, **38**, 11 (1998).
3. Starr C.E., Guyer D.R., Yannuzzi L.A. *Postgraduate Medicine*, **103**, 153 (1998).
4. Geroski D.H., Edelhauser H.F. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **41**, 961 (2000).
5. Lang J.C. *Adv. Drug Delivery Rev.*, **16**, 39 (1995).
6. Zhang W.S., Prausnitz M.R., Edwards A. *J. Controlled Release*, **99**, 241 (2004).
7. Le Boulvais C., Acar L., Zia H., Sado P.A., Needham T., Leverge R. *Progress in Retinal Eye Res.*, **17**, 33 (1998).
8. Kim J.-W., Lindsey J.D., Wang N., Weinreb R.N. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **42**, 1514 (2001).
9. Aihara M., Lindsey J.D., Weinreb R.N. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **42**, 2554 (2001).
10. Okabe K., Kimura H., Okabe J., Kato A., Shimizu H., Ueda T.,

- Shimada S., Ogura Y. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **46**, 703 (2005).
11. Ambati J., Canakis C.S., Miller J.W., Gragoudas E.S., Edwards A., Weissgold D.J., Kim I., Delori F.C., Adamis A.P. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **41**, 1181 (2000).
12. Gilbert J.A., Simpson A.E., Rudnick D.E., Geroski D.H., Aaberg T.M., Edelhauser H.F. *J. Controlled Release*, **89**, 409 (2003).
13. Kim T.W., Lindsey J.D., Aihara M., Anthony T.L., Weinreb R.N. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **43**, 1809 (2002).
14. Lindsey J.D., Weinreb R.N. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **43**, 2201 (2002).
15. Ambati J., Gragoudas E.S., Miller J.W., You T.T., Miyamoto K., Delori F.C., Adamis A. P. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **41**, 1186 (2000).
16. Mitra A.K., Macha S. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **42**, S174 (2001).
17. Macha S., Mitra A.K. *Experimental Eye Res.*, **72**, 289 (2001).
18. Kim H., Lizak M.J., Tansey G., Csaky K.G., Robinson M.R., Yuan P., Wang N.S., Lutz R.J. *Ann. Biomed. Eng.*, **33** 150 (2005).
19. Li S.K., Jeong E.-K., Hastings M.S. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **45**, 1224 (2004).
20. Башкатов А.Н., Генина Э.А., Синичкин Ю.П., Кочубей В.И., Лагодина Н.А., Тучин В.В. *Биофизика*, **49**, 309 (2003).
21. Prausnitz M.R., Noonan J.S. *J. Pharmaceut. Sci.*, **87**, 1479 (1998).
22. Линник В.П. *Труды АН СССР*, **1**, 208 (1933).
23. Flourney P.A. *Appl. Opt.*, **11**, 1907 (1972).
24. Gilgen H.H., Novak R.P., Salathe R.P., Hodel W., Beaud P. *J. Lightwave Technol.*, **7**, 1225 (1989).
25. Huang D., Swanson E.A., Lin C.P., Schuman J.S., Stinson W.G., Chang W., Hee M.R., Flotte T., Gregory K., Puliafito C.A., Fujimoto J.G. *Science*, **254**, 1178 (1991).
26. Tomlins P.H., Wang R.K. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **38**, 2519 (2005).
27. Podoleanu A.G. *British J. Radiol.*, **78**, 976 (2005).
28. Boppart S.A. *Minerva Biotechnol.*, **16**, 211 (2004).
29. Storen T., Royset A., Svaasand L.O., Lindmo T.J. *Biomed. Opt.*, **11**, 14017 (2006).
30. Ghosn M., Tuchin V.V., Larin K.V. *Opt. Lett.*, **31**, 2314 (2006).
31. Esenaliev R.O., Larin K.V., Larina I.V., Motamedi M. *Opt. Lett.*, **26**, 992 (2001).
32. Larin K.V., Eledrisi M.S., Motamedi M., Esenaliev R.O. *Diabetes Care*, **25**, 2263 (2002).
33. Larin K.V., Motamedi M., Ashitkov T.V., Esenaliev R.O. *Phys. Medicine Biol.*, **48**, 1371 (2003).
34. Larin K.V., Akkin T., Esenaliev R.O., Motamedi M., Milner T.E. *Appl. Opt.*, **43**, 3408 (2004).
35. Kholodnykh A.I., Petrova I.Y., Larin K.V., Motamedi M., Esenaliev R.O. *Appl. Opt.*, **42**, 3027 (2003).
36. Tuchin V.V., Maksimova I.L., Zimnyakov D.A., Kon I.L., Mavlyutov A.H., Mishin A.A. *J. Biomed. Opt.*, **2**, 401 (1997).
37. Yeh A.T., Hirshburg J. *J. Biomed. Opt.*, **11**, 14003 (2006).
38. Vargas G., Chan K.F., Thomsen S.L., Welch A.J. *Lasers Surgery Medicine*, **29**, 213 (2001).
39. Tuchin V.V. *Optical Clearing of Tissues Blood* (Bellingham: SPIE Press, 2005, Vol. PM 154).
40. Tuchin V.V. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **38**, 2497 (2005).
41. Graaff R., Aarnoudse J.G., Zijp J.R., Sloot P.M.A., Demul F.F.M., Greve J., Koelink M.H. *Appl. Opt.*, **31**, 1370 (1992).
42. Manapuram R.K., Ghosn M., Larin K.V. *Asian J. Phys.*, **15**, 15 (2006).
43. Gangnus S.V., Matcher S.J., Meglinski I.V. *Laser Phys.*, **14**, 886 (2004).
44. Schmitt J. M. *IEEE J. Selec. Top. Quantum Electron.*, **5**, 1205 (1999).
45. Schmitt J. M., Xiang S.H. *Opt. Lett.*, **23**, 1060 (1998).
46. Кириллин М.Ю., Меглинский И.В., Приезжев А.В. *Квантовая электроника*, **36**, 247 (2006).
47. Кириллин М.Ю., Приезжев А.В., Хафт Ю., Мюллера П. *Квантовая электроника*, **36**, 174 (2006).
48. Tuchin V.V., Maksimova I.L., Zimnyakov D.A., Kon I.L., Mavlyutov A.H., Mishin A.A. *J. Biomed. Opt.*, **2**, 401 (1997).
49. Tuchin V.V. *Tissue Optics: Light Scattering Methods Instruments for Medical Diagnosis* (Bellingham, WA: SPIE 2000).
50. Григорьев И.С., Мейлихов Е.З. *Физические величины* (М.: Энергоатомиздат, 1991).