

Спектрально-разрешенная диффузионная флуоресцентная томография биологических тканей

М.С.Клешнин, И.В.Турчин

*Разработан метод спектрально-разрешенной диффузионной флуоресцентной томографии (СДФТ) для восстановления пространственного распределения концентрации флуоресцирующих агентов в биологических тканях. Анализ спектра мощности регистрируемого излучения дает возможность более точно определить локализацию флуорофора при решении обратной томографической задачи, поскольку влияние дисперсии оптических параметров исследуемого объекта приводит к характерным изменениям формы спектра флуоресценции. Созданная нами СДФТ-установка содержит обций волоконно-оптический выход источников излучения и единственный волоконно-оптический вход приемника излучения, расположенные в конфигурации «на просвет», а также электромеханическую систему сканирования исследуемого объекта. Данная установка позволяет проводить исследования на лабораторных животных с опухолями, мечеными различными флуоресцирующими агентами (флуоресцентные белки, квантовые точки и др.). Полученные первые *in vivo* экспериментальные данные демонстрируют потенциальную возможность использования метода СДФТ для определения местоположения и границ опухоли в организме лабораторного животного.*

Ключевые слова: диффузионная флуоресцентная томография, флуоресцентные белки, дисперсия оптических параметров биотканей, восстановление пространственного распределения флуорофора.

1. Введение

Одним из перспективных направлений современной экспериментальной онкологии является разработка оптических методов неинвазивного наблюдения процессов роста, регрессии и метастазирования злокачественных опухолей под действием противоопухолевой терапии. Признание, которое в последнее время получили флуоресцентные методы визуализации внутренней структуры биологических тканей, обусловлено созданием мощных компактных источников лазерного излучения на различных длинах волн и высокочувствительных оптических детекторов, а также появлением новых ярких контрастирующих агентов, таких как флуоресцентные белки. Гены флуоресцентных белков могут быть трансфицированы в опухолевые клетки человека, которые затем прививаются экспериментальному животному. Способность к флуоресценции в трансфицированной клетке сохраняется на протяжении всего периода ее жизни, а также после клеточного деления, что открывает новые возможности в решении целого ряда задач: от исследования структурно-функциональных нарушений, лежащих в основе различных заболеваний, до разработки новых эффективных методов тестирования создаваемых лекарств.

К флуоресцентным методам визуализации внутренней структуры биологических тканей можно отнести метод поверхностного наблюдения, метод проекций и диффузионную флуоресцентную томографию (ДФТ). Метод

поверхностного наблюдения [1] позволяет оперативно (за 1–5 с) оценить поперечные размеры поверхностных опухолей при облучении исследуемого объекта широким гомогенизированным световым пучком. Точность такой оценки тем выше, чем ближе к поверхности находится опухоль, поскольку для глубоко расположенных опухолей изображение получается существенно размытым из-за сильного рассеяния света биологическими тканями. Метод проекций [2] дает возможность получать двумерное изображение исследуемого объекта (проекцию) для заданного взаимного расположения источников узконаправленного излучения и приемников, при этом регистрируется излучение, прошедшее сквозь объект. В отличие от метода поверхностного наблюдения, метод проекций характеризуется меньшей зависимостью разрешающей способности от глубины локализации опухоли, однако его реализация сложнее, а время исследования может составлять несколько минут. Метод ДФТ [3] позволяет получать трехмерные изображения флуоресцирующей опухоли, используя набор различных проекций исследуемого объекта. ДФТ дает наиболее точную информацию о размерах опухоли и ее расположении в организме лабораторного животного, однако восстановление пространственного распределения концентрации флуоресцирующих веществ в биологических тканях требует разработки алгоритма, учитывающего, исходя из конкретной исследовательской задачи, особенности исследуемого объекта, конструкцию и принцип работы экспериментальной установки, тип используемого флуорофора и т. д.

Восстановление внутренней структуры объекта проводится по данным, полученным в результате серии измерений при различных положениях источника излучения и приемника относительно объекта [4, 5]. Как пра-

М.С.Клешнин, И.В.Турчин. Институт прикладной физики РАН, Россия, 603950 Н.Новгород, ул. Ульянова, 46; e-mail: m_s_kleshnin@list.ru

вило, эти данные представляют собой интенсивности излучения, регистрируемого приемником в каждом из его положений. В оптическом диапазоне длин волн биологические ткани являются сильно рассеивающими [6], что приводит к значительному размытию пучка подсветки (в отличие от рентгеновской томографии, где траектории фотонов прямолинейны). Это обстоятельство существенно усложняет задачу восстановления пространственного распределения концентрации флуорофора, поэтому поиск и развитие различных способов получения дополнительной информации о местоположении флуоресцирующих областей является важной задачей. Известны импульсная [7, 8] (измеряется длительность и форма импульсов регистрируемого излучения) и модуляционная [9] (определяется фаза излучения, модулированного по интенсивности) модификации метода ДФТ, позволяющие получать дополнительную информацию. Однако для реализации временного подхода требуются сложные и дорогостоящие источники излучения и детекторы, такие как пикосекундные лазеры и высокоскоростные ССД-камеры. Информацию о глубине положения флуоресцирующих включений также можно получить из спектра регистрируемого сигнала (спектрально-разрешенная ДФТ (СДФТ)) [10].

Основными параметрами, описывающими распространение оптического излучения в биологических тканях, являются транспортный показатель рассеяния μ'_s и показатель поглощения μ_a . В отличие от транспортного показателя рассеяния, показатель поглощения имеет сильную дисперсию в диапазоне длин волн 500–700 нм, которая приводит к изменению формы спектра излучения, распространяющегося сквозь биоткань. Искажения формы спектра можно использовать для определения глубины положения флуоресцирующей области внутри исследуемого объекта (метод СДФТ).

Чем выше дисперсия и чем большее расстояние пройдет излучение в диспергирующей среде, тем ярче будут выражены спектральные искажения регистрируемого излучения и, следовательно, тем точнее можно восстановить пространственное распределение концентрации флуорофора. Однако для биологических тканей в области наиболее сильной дисперсии оптических параметров (500–600 нм) наблюдается также и сильное поглощение света, что существенно затрудняет детектирование излучения, проходящего сквозь биоткань. Поэтому при исследовании биообъектов толщиной 1–2 см (мелкие лабораторные животные) наиболее оптимальным спектральным диапазоном для применения СДФТ является область 600–700 нм, в которой наблюдается достаточно сильная дисперсия показателя поглощения, но ослабление света при прохождении через такую среду не слишком велико. Кроме того, сравнительно недавно были выделены красные флуоресцентные белки, флуоресцирующие с высокой яркостью в данном спектральном окне (рис.1) [11].

Впервые метод СДФТ был реализован для однородной сильно рассеивающей среды с заданными оптическими параметрами, содержащей флуоресцирующие включения [12]. Численное моделирование и экспериментальные измерения, проведенные для биологических фантомов, показали потенциальную возможность использования метода СДФТ для области сильной дисперсии оптических параметров, однако исследование биообъектов *in vivo* не проводилось.

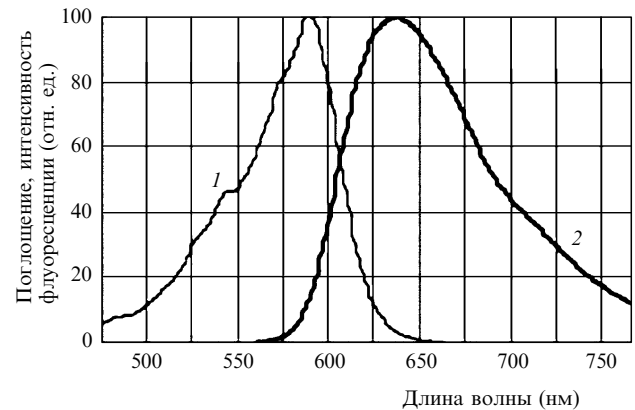


Рис.1. Нормированные спектры поглощения (1) и флуоресценции (2) белка TurboFP635.

Нами была разработана экспериментальная СДФТ-установка, предназначенная для исследования лабораторных животных с опухолями, мечеными флуоресцентными маркерами. Установка содержит общий волоконно-оптический выход источников излучения и единственный волоконно-оптический вход приемника излучения, расположенные в конфигурации «на просвет», а также электромеханическую систему сканирования исследуемого объекта. Источником зондирующего излучения служит лазер, возбуждающий флуоресцирующий агент. Спектр мощности излучения объекта регистрируется высокочувствительным охлаждаемым спектрометром. Для определения спектра поглощения биотканей объект сканируется источником белого света. С использованием данной СДФТ-установки были проведены первые *in vivo* эксперименты по локализации флуоресцирующей опухоли в организме лабораторного животного. Результаты проведенных исследований показали потенциальную возможность использования метода СДФТ, предлагаемого в данной работе, для определения местоположения и границ опухоли в организме лабораторного животного *in vivo*.

2. Модель распространения оптического излучения в биологических тканях

Для описания распространения оптического излучения в биологических объектах, геометрические размеры которых на несколько порядков превышают среднюю длину свободного пробега фотона, используется диффузионное приближение уравнения переноса излучения для однородной сильно рассеивающей среды. В данном приближении для спектральной интенсивности излучения, распространяющегося в среде от точечного источника, имеет вид [12, 13]

$$E(\mathbf{r}_0, \mathbf{r}, \lambda) = \frac{3P_0[\mu'_s(\lambda) + 0.55\mu_a(\lambda)]}{4\pi|\mathbf{r}_0 - \mathbf{r}|} \times \exp[-\{3\mu_a(\lambda)[\mu'_s(\lambda) + 0.55\mu_a(\lambda)]\}^{1/2}|\mathbf{r}_0 - \mathbf{r}|], \quad (1)$$

где P_0 — спектральная мощность источника излучения на входе в среду; \mathbf{r}_0 — радиус-вектор источника излучения; \mathbf{r} — радиус-вектор произвольной точки среды; λ — длина волны излучения. Тогда спектральная мощность флуоресценции, регистрируемой приемником, будет описываться выражением

$$P(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d, \lambda) = \int_V K(\mathbf{r}) F(\lambda) E(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}, \lambda_{\text{las}}) \frac{\gamma}{P_0} E(\mathbf{r}, \mathbf{r}_d, \lambda) d\mathbf{r}. \quad (2)$$

Здесь γ – коэффициент, учитывающий площадь приемника, а также квантовый выход и сечение поглощения флуорофора; \mathbf{r}_s – радиус-вектор источника излучения, возбуждающего флуорофор; \mathbf{r}_d – радиус-вектор приемника излучения; λ_{las} – длина волны излучения, возбуждающего флуорофор; $K(\mathbf{r})$ – пространственное распределение концентрации флуорофора; $F(\lambda)$ – нормированная спектральная интенсивность флуоресценции; V – объем исследуемого объекта. Из приведенных выражений видно, что, зная мощность излучения, регистрируемую приемником, можно численно решить интегральное уравнение (2) относительно неизвестного ядра. Неоднородность биологических тканей значительно затрудняет восстановление пространственного распределения концентрации флуорофора, однако в ряде случаев данную задачу можно упростить.

Рассмотрим случай, когда исследуемый объект имеет плоские и параллельные друг другу границы, а источник излучения и приемник находятся на одной оси (рис.2). При этом будем считать объект однородным в области чувствительности приемника. Тогда выражение (1) для спектральной интенсивности излучения будет иметь следующий вид:

$$E(x, y, z, \lambda)_{(x,y) \in \Omega} = \frac{3P_0[\mu'_s(\lambda) + 0.55\mu_a(\lambda)]}{4\pi z} \times \exp[-\{3\mu_a(\lambda)[\mu'_s(\lambda) + 0.55\mu_a(\lambda)]\}^{1/2} z], \quad (3)$$

где x, y, z – координаты точки среды в области чувствительности приемника; Ω – сечение области чувствительности приемника плоскостью, параллельной границам объекта.

При облучении исследуемого объекта, помимо полезной флуоресценции, может возбуждаться флуоресценция окружающих биологических тканей (в методах флуоресцентной визуализации биообъектов – автофлуоресценция), которая будет вносить дополнительные искажения в спектр мощности излучения, регистрируемого приемником. Таким образом, для выбранной модели с учетом автофлуоресценции спектральная мощность флуоресценции будет описываться выражением

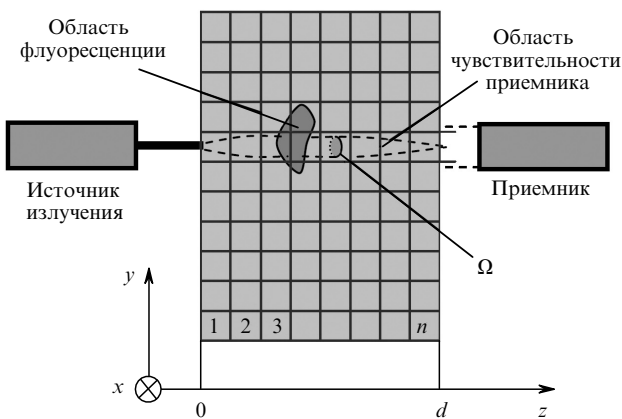


Рис.2. К описанию распространения оптического излучения в биологической ткани.

$$P(x, y, \lambda) = \int_0^d [K(x, y, z) F(\lambda) + N(x, y, z) A(\lambda)]$$

$$\times E(x, y, z, \lambda_{\text{las}}) \frac{\gamma}{P_0} E(x, y, d - z, \lambda) dz. \quad (4)$$

Здесь $N(x, y, z)$ – концентрация автофлуоресцирующих включений; $A(\lambda)$ – нормированная спектральная интенсивность автофлуоресценции; d – толщина объекта.

Следует отметить, что использование выбранной плоской модели позволяет также значительно упростить граничные условия для интегрального уравнения (4), которые получаются методом отражений виртуальных источников излучения [14].

3. Экспериментальная установка для СДФТ

Схема экспериментальной СДФТ-установки представлена на рис.3,а. Установка содержит источник лазерного излучения, источник белого света, приемник излучения и электромеханическую систему сканирования исследуемого объекта. Общий волоконно-оптический выход источников излучения и единственный волоконно-оптический вход приемника излучения расположены в конфигурации «на просвет». Излучение лазерного источника (SDL-593-200T, Shanghai Dream Lasers Technology Co., Ltd, Китай) через волоконно-оптический выход попадает на объект, вызывая флуоресценцию отдельных его областей, которые маркированы флуорофором. Флуоресценция собирается с помощью волоконно-оптического входа приемника излучения (спектрометр QE65000, Ocean Optics Inc., США). Электромеханическая система сканирования позволяет синхронно перемещать волоконно-оптический выход источников излучения и волоконно-оптический вход приемника излучения в плоскости объекта с произвольным шагом между соседними точками, в которых регистрируется флуоресценция. Для определения спектра поглощения биотканей исследуемый объект сканируется источником белого света (ксеноновая лампа PX-2, Ocean Optics Inc., США). При сканировании экспериментальное животное фиксируется между двумя стеклянными пластинами. Фиксирующая стойка располагается между источником и детектором.

Для получения дополнительной информации, позволяющей учитывать автофлуоресценцию биологических тканей, исследуемый объект сканируется в двух различных положениях (рис.3,б и в). Первое положение выбирается произвольным образом, а второе получается поворотом объекта вокруг вертикальной оси на 180° . При этом одно из этих положений будет отвечать случаю, когда флуоресцирующая область находится ближе к источнику излучения, а другое – к детектору.

С использованием разработанной СДФТ-установки были проведены первые *in vivo* эксперименты по локализации флуоресцирующей опухоли в организме лабораторного животного (мышь линии nude, рис.3,е). В качестве маркера использовался флуоресцентный белок TurboFP635 (рис.1) [15]. Результаты сканирования представляются в виде двумерного изображения для определенной длины волны, соответствующего главной проекции (источник и приемник расположены на одной оси исследуемого объекта (рис.3,г и д)). Для получения дополнительных проекций необходимо проводить синхронные сканирования объекта при различных смещениях источника от оси приемника.

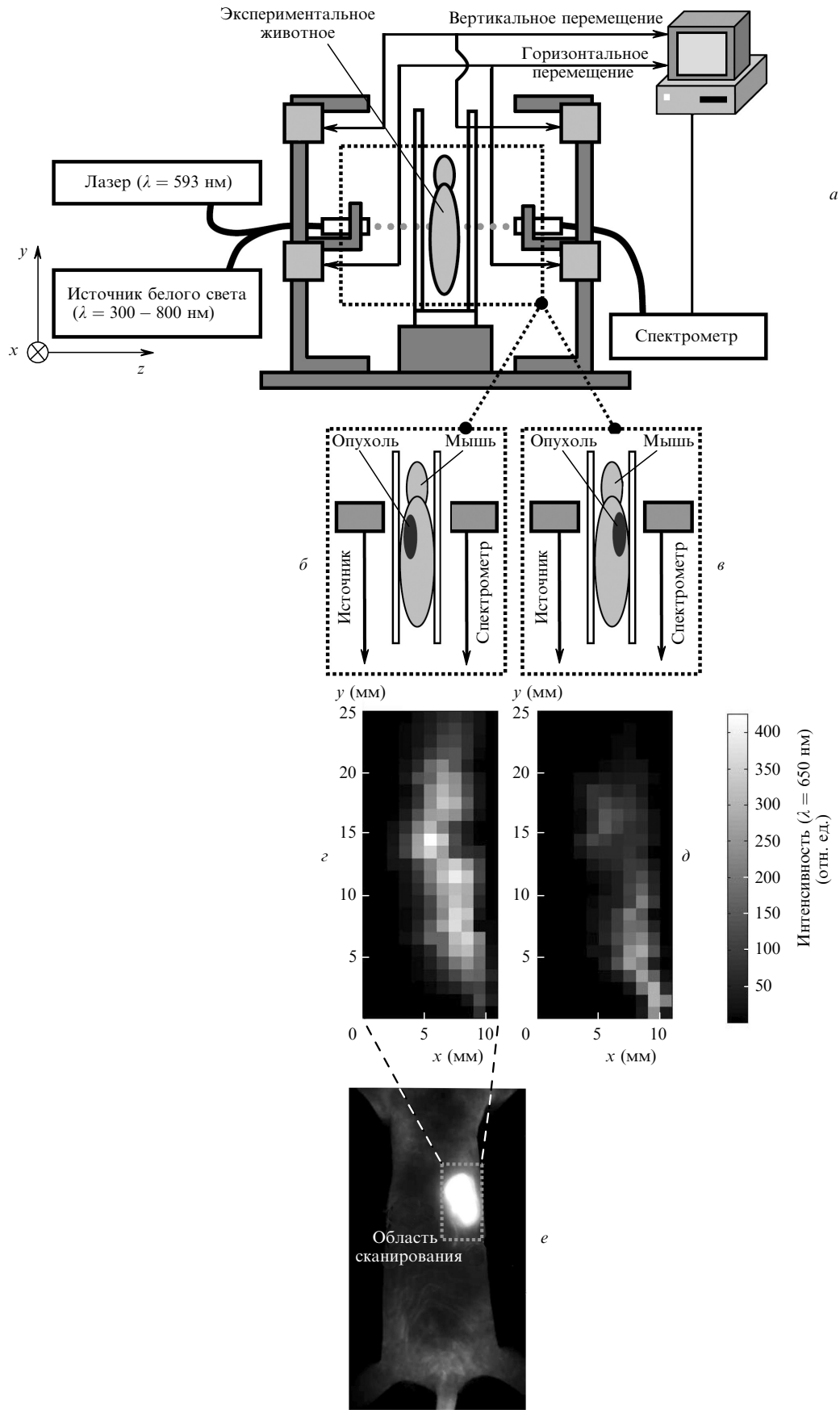


Рис.3. Схема экспериментальной установки (а), положение исследуемого объекта, когда опухоль находится ближе к источнику излучения (б) или к приемнику (в), спектральные интенсивности флуоресценции областей сканирования для выбранных положений опухоли соответственно (г, д), исследуемый объект и область сканирования (е).

4. Восстановление пространственного распределения флуорофора методом СДФТ

Для определения спектра поглощения в каждой точке сканирования исследуемого объекта воспользуемся выражением (3) для спектральной интенсивности излучения, представив его в следующем виде:

$$\frac{4\pi E(x, y, d, \lambda)_{(x,y) \in \Omega}}{3P(\lambda)} = \frac{\mu'_s(\lambda) + 0.55\mu_a(\lambda)}{d} \times \exp[-\{3\mu_a(\lambda)[\mu'_s(\lambda) + 0.55\mu_a(\lambda)]\}^{1/2}d], \quad (5)$$

где $P(\lambda)$ – спектральная мощность белого света на входе в объект. Для заданного значения λ , выражение (5) можно интерпретировать как алгебраическое уравнение с двумя неизвестными (μ'_s и μ_a), которое имеет бесконечный набор решений. Поскольку уравнение (5) должно быть справедливо для произвольной толщины исследуемого объекта, то для восстановления пространственного распределения концентрации флуорофора достаточно частного решения, полученного для заданной толщины объекта. Таким образом, зависимость транспортного показателя рассеяния от длины волны можно аппроксимировать аналитически, а спектр поглощения определить из выражения (5), используя экспериментальные данные (рис.4).

Для восстановления пространственного распределения концентрации флуорофора внутри исследуемого объекта методом СДФТ необходимо решить интегральное уравнение (4). С этой целью весь объем, занимаемый объектом, разбивается на элементарные ячейки (рис.2), что позволяет операцию интегрирования приближенно заменить суммированием. Если размер сечения области чувствительности Ω не превышает поперечных размеров элементарного объема, то интегральное уравнение (4) сведется к системе линейных уравнений:

$$P_{ij}^s(\lambda_m) = \sum_{k=1}^n f_{ij}(z_k, \lambda_m) \times [K(x_i, y_j, z_k)F(\lambda_m) + N(x_i, y_j, z_k)A(\lambda_m)],$$

$$P_{ij}^d(\lambda_m) = \sum_{k=1}^n f_{ij}(d - z_k, \lambda_m) \times$$

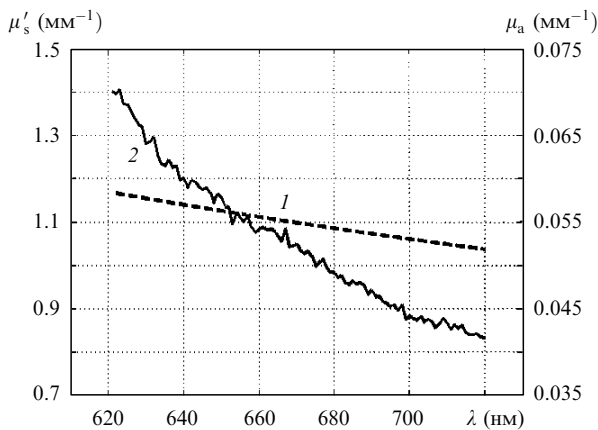


Рис.4. Аналитическая аппроксимация зависимости транспортного показателя рассеяния $\mu'_s(\lambda)$ [12] (1) и найденная зависимость показателя поглощения $\mu_a(\lambda)$ для одной из точек сканирования ($x = 6$ мм, $y = 16$ мм) (2).

$$\times [K(x_i, y_j, z_k)F(\lambda_m) + N(x_i, y_j, z_k)A(\lambda_m)],$$

$$z_k = \frac{2k-1}{2n}d, \quad m = 1, 2, 3, \dots, M, \quad (6)$$

где n – общее число элементарных объемов, на которые разбит объем исследуемого объекта; M – число различных регистрируемых длин волн; $P_{ij}^s(\lambda_m)$ и $P_{ij}^d(\lambda_m)$ – спектральные мощности излучения, регистрируемого приемником в точке сканирования (x_i, y_j) на длине волны λ_m , для двух положений объекта (опухоль расположена ближе к источнику излучения (рис.3,б) или к приемнику (рис.3,в)); $f_{ij}(z_k, \lambda_m)$ – элементы матрицы коэффициентов данной системы уравнений, определяемые соотношением

$$f_{ij}(z_k, \lambda_m) = \frac{\gamma}{P_0} E(x_i, y_j, z_k, \lambda_{\text{las}}) E(x_i, y_j, d - z_k, \lambda_m). \quad (7)$$

Полученные элементы матрицы коэффициентов определяют не только весовой вклад мощности излучения каждого элементарного объема исследуемого объекта в суммарный регистрируемый приемником сигнал, но и изменения формы спектра флуоресценции, обусловленные дисперсией показателя поглощения среды (рис.5). Именно спектральные искажения излучения флуорофора обуславливают невырожденность полученной системы линейных уравнений и возможность решения задачи томографии.

Система уравнений (6) является недоопределенной, поскольку априори неизвестны спектральные искажения, вносимые автофлуоресценцией биотканей. В общем случае не представляется возможным измерить спектр $A(\lambda)$, поэтому исходная система сводится к параметрической:

$$P_{ij}^s(\lambda_m) - G(\lambda_m)P_{ij}^d(\lambda_m) = \sum_{k=1}^n K(x_i, y_j, z_k)F(\lambda_m) \times [f_{ij}(z_k, \lambda_m) - G(\lambda_m)f_{ij}(d - z_k, \lambda_m)], \quad (8)$$

где

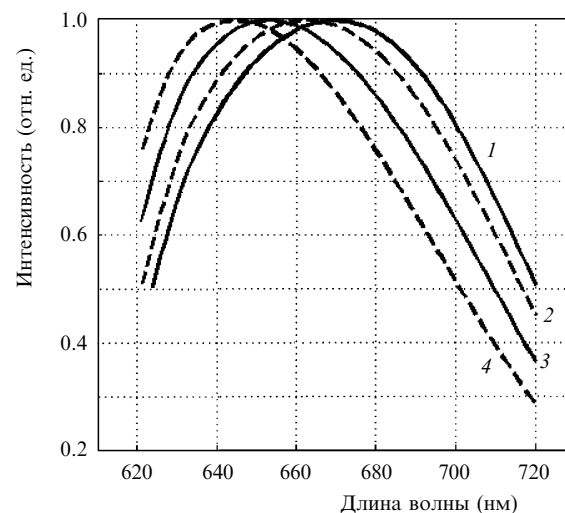


Рис.5. Нормированные спектры флуоресценции белка TurboFP635 из элементарного объема, находящегося на глубине $z = 0.5$ (1), 2.5 (2), 5.5 (3) и 8.5 мм (4) внутри исследуемого объекта, для заданной точки в области сканирования ($x = 6$ мм, $y = 16$ мм).

$$G(\lambda_m) = \frac{\sum_{k=1}^n f_{ij}(z_k, \lambda_m) N(x_i, y_j, z_k)}{\sum_{k=1}^n f_{ij}(d - z_k, \lambda_m) N(x_i, y_j, z_k)}$$

– параметр пространственного распределения автофлуоресцирующих включений внутри исследуемого объекта для λ_m .

Для системы линейных уравнений (8) существует набор решений, каждое из которых соответствует определенной функциональной зависимости $G(\lambda)$. Очевидно, что физически реализуемые решения отвечают условию неотрицательности концентраций флуорофора. Следует также учитывать, что число значений концентраций флуорофора, отличных от нуля, должно быть минимальным, поскольку флуорофор может находиться только в локализованной области (флуоресцентные белки присутствуют только в области опухоли), а остальной объем исследуемого объекта не излучает. Таким образом, из всей области значений $G(\lambda)$, соответствующих неотрицательным концентрациям флуорофора, решению поставленной задачи будет отвечать такая зависимость $G(\lambda)$,

для которой число ненулевых значений $K(x_i, y_j, z_k)$ минимально. С использованием метода восстановления пространственного распределения концентрации флуорофора, предложенного в данной работе, было найдено местоположение и границы флуоресцирующей опухоли в организме лабораторного животного.

На рис.6 представлено трехмерное изображение флуоресцирующей опухоли в виде виртуальных срезов на различных глубинах исследуемого объекта. Видно, что поперечные размеры флуоресцирующей области соответствуют размерам опухоли, изображение которой получено в отраженном свете, а сама опухоль сосредоточена на глубине от 1.5 до 4.5 мм при полной толщине объекта 12 мм. Эти результаты были верифицированы после извлечения опухоли (post mortem). Трехмерное изображение флуоресцирующей опухоли (11×25×12 мм с пространственным разрешением 1 мм) получено по искажениям спектра регистрируемой флуоресценции с использованием единственной проекции исследуемого объекта, что показывает потенциальную возможность применения предложенного алгоритма трехмерной реконструкции в СДФТ.

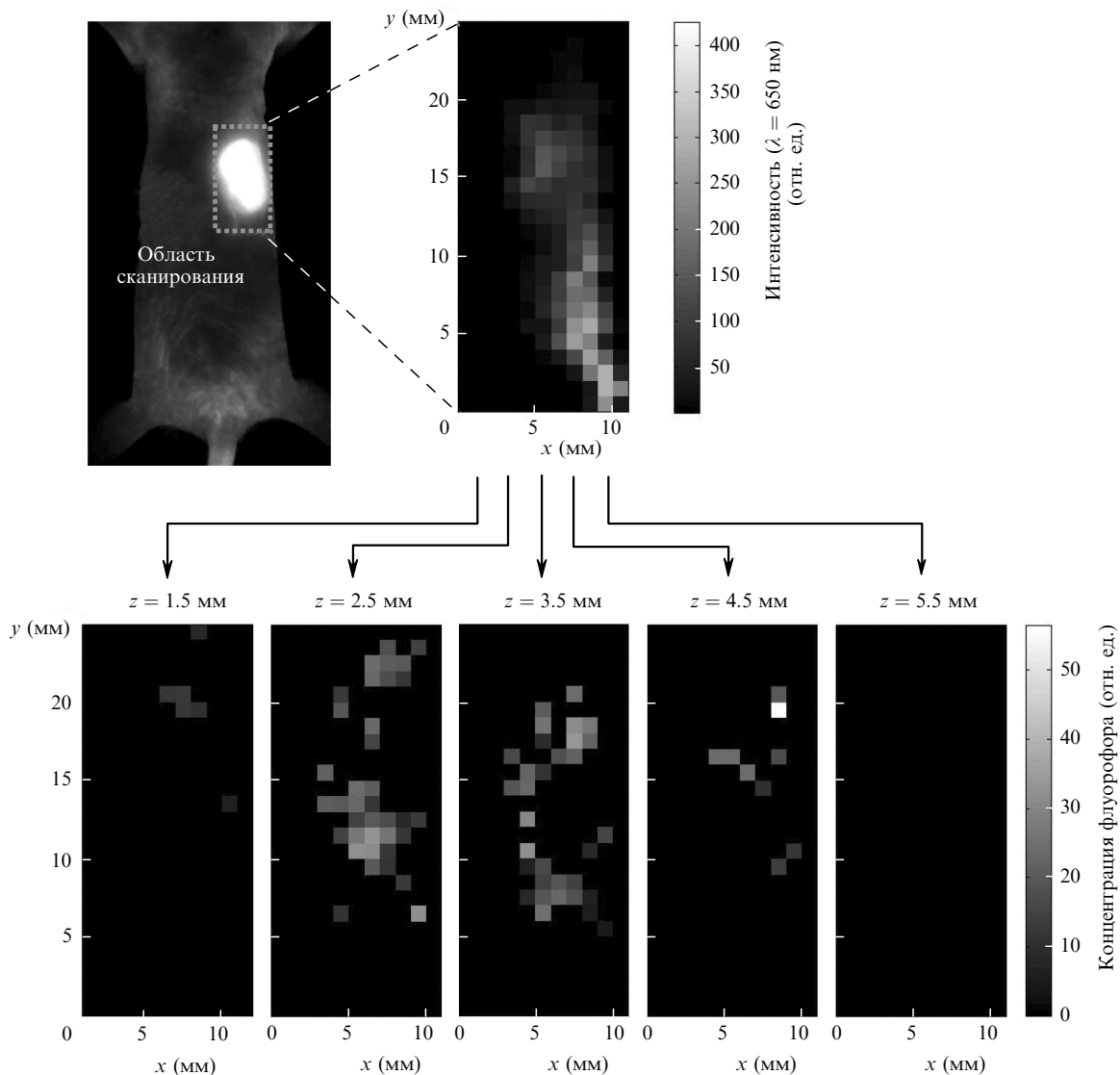


Рис.6. Восстановленное пространственное распределение концентрации флуорофора внутри исследуемого объекта (мышь линии nude с опухолью, модифицированной флуоресцентным белком TurboFP635).

5. Заключение

Использование информации о форме спектра регистрируемого излучения позволяет более точно определить локализацию флуорофора внутри исследуемого объекта при решении обратной задачи томографии, поскольку влияние дисперсии оптических свойств биоткани приводит к характерным изменениям формы спектра флуоресценции. При исследовании биообъектов толщиной 1–2 см оптимальным спектральным диапазоном для СДФТ является область 600–700 нм, в которой достаточно сильная дисперсия показателя поглощения сочетается с относительно невысоким интегральным ослаблением света. Предложенный в данной работе метод СДФТ основан на использовании дисперсии показателя поглощения биотканей.

Разработанная экспериментальная СДФТ-установка предназначена для исследования лабораторных животных с опухолями, меченными флуоресцентными маркерами. Благодаря использованию общего волоконно-оптического выхода источников излучения и единственного волоконно-оптического входа приемника излучения совместно с электромеханической системой сканирования данная установка имеет достаточно простую конструкцию и является относительно недорогой по сравнению с ее аналогами. С помощью этой установки были проведены первые *in vivo* эксперименты по локализации флуоресцирующей опухоли в организме лабораторного животного.

Предложенный нами алгоритм реконструкции позволяет получать трехмерное изображение флуоресцирующей опухоли по искажениям спектра регистрируемой флуоресценции с помощью единственной проекции исследуемого объекта. Полученные первые экспериментальные результаты демонстрируют потенциальную возможность применения метода СДФТ для определения местоположения и границ опухоли в организме лабораторного животного с учетом автофлуоресценции биотканей. Очевидно, что качество реконструкции может быть значительно улучшено при использовании в СДФТ нескольких проекций.

Следует отметить, что для описания распространения оптического излучения в биологических тканях в настоящей работе применяется широко распространенное диффузионное приближение уравнения переноса излучения

для однородной среды. Использование более корректных математических моделей позволит определять местоположение и границы флуоресцирующей области с большей точностью.

Авторы выражают благодарность С.М.Дееву (ИБХ РАН, Москва) и И.В.Балалаевой (ННГУ, Н.Новгород) за предоставленную возможность проведения экспериментов на лабораторных животных с опухолями, мечеными флуоресцентными белками, а также В.А.Каменскому (ИПФ РАН, Н.Новгород) за ценные советы и обсуждения при написании данной статьи.

Настоящая работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 07-02-01262 и 10-02-01109, программы Президиума РАН «Основы фундаментальных исследований нанотехнологий и наноматериалов», а также проекта Роснауки № 02.740.11.0086.

1. Hoffman R.M. *Lab. Anim.*, **31**, 34 (2002).
2. Ntziachristos V., Turner G., Dunham J., Windsor S., Soubret A., Ripoll J., Shih H.A. *J. Biomed. Opt.*, **10**, 064007 (2005).
3. Turchin I.V., Kamensky V.A., Plehanov V.I., Orlova A.G., Kleshnin M.S., Fiks I.I., Shirmanova M.V., Meerovich I.G., Arslanbaeva L.R., Jerdeva V.V., Savitsky A.P. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 041310 (2008).
4. Третьяков Е.В., Шувалов В.В., Шутов И.В. *Квантовая электроника*, **32**, 941 (2002)
5. Кравченко О.В., Любимов В.В., Калинин Н.А. *Квантовая электроника*, **36**, 1043 (2006).
6. *Оптическая биомедицинская диагностика*. Под ред. В.В.Тучина (М.: Физматлит, 2007).
7. Kumar A.T., Raymond S.B., Dunn A.K., Bacskai B.J., Boas D.A. *IEEE Trans. Med. Imaging*, **27**, 1152 (2008).
8. Коновалов А.Б., Власов В.В., Калинин А.Г., Кравченко О.В., Любимов В.В. *Квантовая электроника*, **36**, 1048 (2006).
9. Godavarty A., Eppstein M.J., Zhang Ch., Theru S., Thompson A.B., Gurfinkel M., Sevic-Muraca E.M. *Phys. Med. Biol.*, **48**, 1701 (2003).
10. Svensson J., Andersson-Engels S. *Opt. Express*, **13**, 4263 (2005).
11. Delioli N.C., Kasmieh R., Wurdinger T., Tannous B.A., Shah K., Ntziachristos V. *J. Biomed. Opt.*, **13**, 044008 (2008).
12. Axelsson J., Svensson J., Andersson-Engels S. *Opt. Express*, **15**, 13574 (2007).
13. Ripoll J., Yessayan D., Zacharakis G., Ntziachristos V. *J. Opt. Soc. Am.*, **22**, 546 (2005).
14. Contini D., Martelli F., Zaccanti G. *Appl. Opt.*, **36**, 4587 (1997).
15. Shcherbo D., Merzlyak E.M., Chepurnykh T.V., Fradkov A.F., Ermakova G.V., Solovieva E.A., Lukyanov K.A., Bogdanova E.A., Zaraisky A.G., Lukyanov S., Chudakov D.M. *Nat. Methods*, **4**, 741 (2007).